

2 4 1 . 0

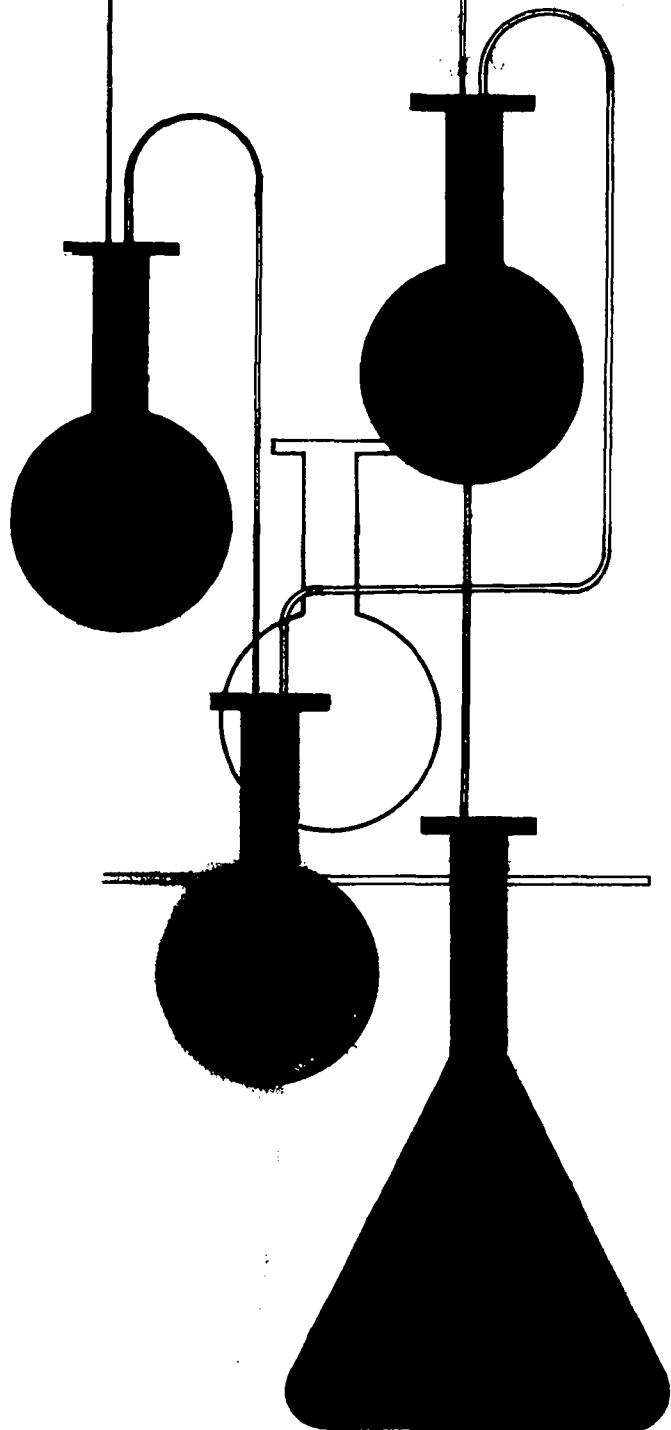
7 8 P R

Publicación Científica No. 369

PROCEDIMIENTOS SIMPLIFICADOS

PARA EL EXAMEN DE AGUAS

MANUAL DE LABORATORIO



ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD
Oficina Sanitaria Panamericana. Oficina Regional de la
ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

1978

2410-78PR-

Diseño de la portada: Tomado de la primera edición en español (1966) publicada por el Centro Regional de Ayuda Técnica, Agencia para el Desarrollo Internacional (EUA).

9607
spanish

241.0
78PR

LIBRARY
National Reference Center
for Environmental Health
Statistics

PROCEDIMIENTOS SIMPLIFICADOS PARA EL EXAMEN DE AGUAS

MANUAL DE LABORATORIO
DE LA
AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, INC.

Segunda edición en español



Publicación Científica No. 369

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD
Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la
ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD
525 Twenty-third Street, N.W.
Washington, D.C. 20037, E.U.A.

1978

Edición original en inglés:
Simplified Procedures for Water Examination—
Laboratory Manual, Publicación AWWA No. M12

© Copyright (Revised edition), 1975
(First edition, 1964)
American Water Works Association, Inc.
6666 W. Quincy Avenue
Denver, Colorado, E. U. A.

En esta publicación se reproducen partes de la edición original en español (1966), preparada y publicada por el Centro Regional de Ayuda Técnica, Agencia para el Desarrollo Internacional (AID), Secretaría de Estado de los Estados Unidos de América. Esta edición en español se publica con la autorización de la AWWA y del Centro.

PREFACIO

Este manual revisado llena la necesidad de un volumen adecuado a las capacidades de pequeños laboratorios y plantas de tratamiento que trabajan en el campo, para quienes los *Métodos Estándar* son muy complejos, presentando los métodos de control de plantas que pueden ser usados para comprobar las variaciones diarias de la calidad del agua y ajustar las dosis químicas del tratamiento.

Este manual no pretende sustituir a los *Métodos Estándar*. Su propósito es auxiliar al principiante, permitiéndole experimentar con métodos simples, de modo que adquiera habilidad en el laboratorio, lo que posiblemente le permita emplear, con posterioridad, los procedimientos más complejos descritos en los *Métodos Estándar*. Por lo tanto, se debe considerar a este manual como una introducción a los *Métodos Estándar*.

El manual es una presentación sencilla de los métodos comunes, que utilizan aparatos poco costosos y fácilmente disponibles y que dependen de técnicas simples, fáciles de seguir. Los métodos que aquí se describen son adecuados para muchas aguas potables. Sin embargo, la propia simplicidad de estos métodos limita su uso a aguas de alta calidad, de composición relativamente constante y conocida. En cada método se ha otorgado una destacada importancia a la sección titulada "Advertencia", en la cual se trata de definir los límites de su aplicación.

Muchos departamentos estatales de salud realizan periódicamente análisis bacteriológicos y químicos de las aguas potables dentro de la zona de su jurisdicción. Se recomienda al operador que obtenga una copia de esos resultados y que también procure asesorarse, para saber si los métodos que aquí se describen son adecuados para su situación particular. Con algunos abastecimientos de agua, solo se pueden obtener resultados adecuados utili-

zando los procedimientos más complicados que aparecen en la última edición de los *Métodos Estándar*.

Este manual ha sido revisado por R. Freeman (Escuela Técnica de Agua y Aguas Servidas) y por Michael Taras (Fundación de Investigación de la AWWA) a fin de reflejar los métodos más recientes para una exacta determinación del contenido de cloro en el agua. Se han cambiado también detalles en las secciones de determinación de alcalinidad, aluminio, calcio y oxígeno disuelto. Asimismo se han eliminado los errores de la edición original.

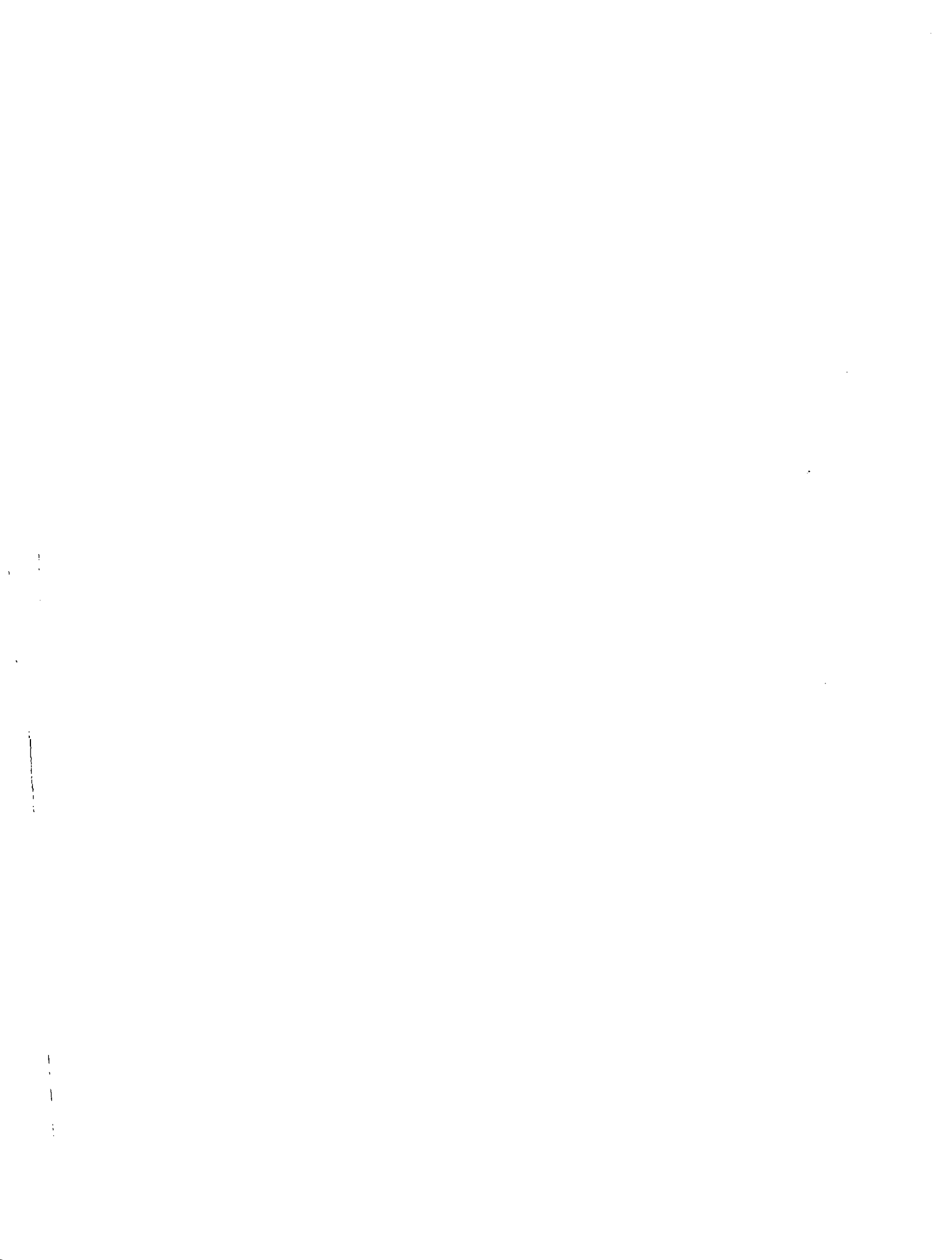
Reconocimiento

Se reconoce, con gratitud, al personal del Centro de Ingeniería Sanitaria Robert A. Taft, Cincinnati, Ohio, por sus destacadas contribuciones a la preparación de este manual. En particular, al Dr. Herbert W. Jackson quien, con la ayuda de Michael E. Bender y de otros colegas, preparó la sección sobre exámenes biológicos; a Harold L. Jeter, quien, ayudado por especialistas del Centro, preparó la sección sobre el examen bacteriológico. Se agradece también a la American Microscopical Society, su autorización para reproducir algunas de las ilustraciones en la sección de exámenes biológicos.

Personal de la Comisión 8940 P, 1964

M. J. Taras, Presidente

B. I. Corson	F. J. Maier	K. E. Shull
N. M. de Jarnette	D. H. Matheson	H. J. Webb
J. F. Erdei	J. E. O'Brien	D. B. Williams
H. P. Kramer		



CONTENIDO

	<i>Página</i>
Prefacio	iii
Introducción General	1

I. EXAMENES QUIMICOS

Alcalinidad	13
Aluminio	15
Nitrógeno Amoniacal	16
Calcio	19
Prueba de estabilidad al carbonato de calcio	21
Bióxido de Carbono Libre	22
Cloruro	24
Cloro (Residual)—General	26
Cloro (Residual) A—Método Titulométrico	26
Cloro (Residual) B—Método Colorimétrico	28
Cloro (Residual) C—Métodos de Campo usando Comparadores Comerciales	30
Cloro (Residual) D—Método de Ortotolidina	31
Cloro (Residual) E—Método de Campo usando Tubos Nessler	33
Cloro, demanda de	34
Apéndice—Estimación de la concentración de la solución para la Dosificación de Cloro	35
Bióxido de Cloro—General	36
Bióxido de Cloro A—Método por titulación	37
Bióxido de Cloro B—Método Colorimétrico	38
Color	39
Cobre	40
Fluoruro	42
Dureza	44
Hierro	46
Pruebas de potabilización	48
Manganeso	55
Oxígeno Disuelto	57
Valor del pH	59
Fosfato	61
Residuo Filtrable	64
Sílice	65
Sabor y Olor	67
Temperatura	68
Turbiedad	70

II. EXAMENES BACTERIOLOGICOS

	<i>Página</i>
Introducción	74
A. Método del Filtro de Membrana	75
B. Método de Fermentación en Tubos Múltiples	82

III. EXAMENES BIOLÓGICOS

Introducción	96
A. Aparatos y reactivos	97
B. Recolección de muestras	101
C. Examen de muestras	103
D. Identificación del plancton	105
E. Procedimientos de enumeración	108
F. Significación y aplicación de los resultados	110
Indice	113

ANEXO

Suplemento al manual de laboratorio: <i>Procedimientos simplificados para el examen de aguas</i>	115
--	-----

Introducción General

Antes de verificar cualquier examen de aguas, es muy recomendable cierta guía en análisis cuantitativo. Se recomienda particularmente al principiante que consulte a un profesor competente y que concurra, cuando menos a uno y, de preferencia, a varios cursos breves de los que ofrecen periódicamente los departamentos estatales de salubridad. La instrucción escolar, las demostraciones y el trabajo supervisado en el laboratorio proporcionan un complemento valioso a las lecturas y prácticas aisladas.

El laboratorio de una planta potabilizadora es un lugar para desarrollar trabajos de precisión y, por lo tanto, se debe conservar en una forma limpia y ordenada. Como un primer paso en este sentido, a cada pieza determinada de equipo se le debe asignar un lugar o espacio particular en el laboratorio. Los gabinetes, gavetas y estantes de laboratorio no se deben usar como lugares generales de almacenamiento para herramientas, piezas de repuesto o partes diversas de equipo; tampoco se debe usar al laboratorio como cocina o comedor. Las figuras 1 y 2 ilustran algunos de los aparatos y equipos que, por lo general, se encuentran en un laboratorio común. (En las secciones correspondientes del manual se ilustran los equipos necesarios para exámenes bacteriológicos y de plancton.)

Todos los reactivos químicos se deben conservar en recipientes apropiados, con etiquetas claramente legibles. El equipo y los reactivos se deben proteger del polvo, de la humedad y de vapores dañinos. Cuando se tienen que practicar comparaciones de color, se debe contar con una iluminación adecuada. Se deben proporcionar abundantes medios para la limpieza, lavado y secado, lo mismo que para lubricación y labores generales. Debe prestarse particular atención en lo que concierne a la balanza analítica, la cristalería volumétrica, el agua destilada, las soluciones valoradas, el equipo colorimétrico, los registros y las muestras.

1. EQUIPO PARA PESAR

Se tienen en uso común dos tipos de balanzas. La balanza "granataria" pesa cargas hasta de 1 kilogramo (abreviado "kg"), con una exactitud de 0.1 gramo (abreviado "g"), y es adecuada para muchas pruebas de rutina.

La balanza analítica ordinaria pesa sustancias hasta de 200 g, con una exactitud de 0.0001 g (0.1 miligramo, abreviado "mg"). Estas balanzas son esenciales para la preparación de soluciones valoradas. La balanza analítica es un instrumento delicado y se la debe tratar con consideración. Si dispone de un manual de instrucciones, se deben seguir cuidadosamente sus indicaciones, para lograr determinaciones correctas de peso y para aprovechar, en forma óptima, la sensibilidad de la balanza de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Cuando la balanza no se utiliza, tanto los brazos como los platillos deben retirarse de los soportes de cuchillas por medio de una perilla dispuesta para el propósito y se debe cerrar la puerta de la caja de la balanza. Esta puerta también se debe cerrar cuando se está realizando la pesada final por medio del "caballete"; de otro modo, las corrientes de aire pueden originar el desplazamiento de la aguja o fiel indicador. La balanza se debe ajustar regularmente a cero por medio de los tornillos dispuestos para ello. Para colocar las pesas en los platillos de la balanza, deben usarse unas pinzas pequeñas, con puntas de marfil; las pesas deben agregarse una por una, comenzando por la más pesada y continuando, en orden descendente, a la pesa siguiente más ligera. Cuando se agregan pesas de 1 g, o más, es recomendable que los brazos se levanten de sus soportes de cuchillas. Las pesas se deben regresar siempre a sus respectivos lugares en el marco de pesas. Es una buena práctica de conservación limpiar los platillos de la balanza y el piso de la base de la caja con una brocha de pelo de camello antes y después de usar la balanza.

Para pesar muchos de los reactivos químicos en estado sólido, necesarios para la preparación de soluciones valoradas, es recomendable emplear un par de vidrios de reloj contrapesados. Estos vidrios de reloj evitan que los reactivos corrosivos ataquen a los platillos metálicos de la balanza. En la práctica, se coloca un vidrio de reloj en cada uno de los platillos de la balanza, ajustando el mecanismo de pesar exactamente a cero. A continuación, por medio de las pinzas con puntas de marfil, se colocan las pesas analíticas necesarias, del marco de pesas al vidrio de reloj de la derecha de la balanza; a continuación se agrega, con una espátula, la cantidad necesaria de sustancia al vidrio de reloj de la izquierda, hasta que ambos platillos queden en equilibrio exacto.

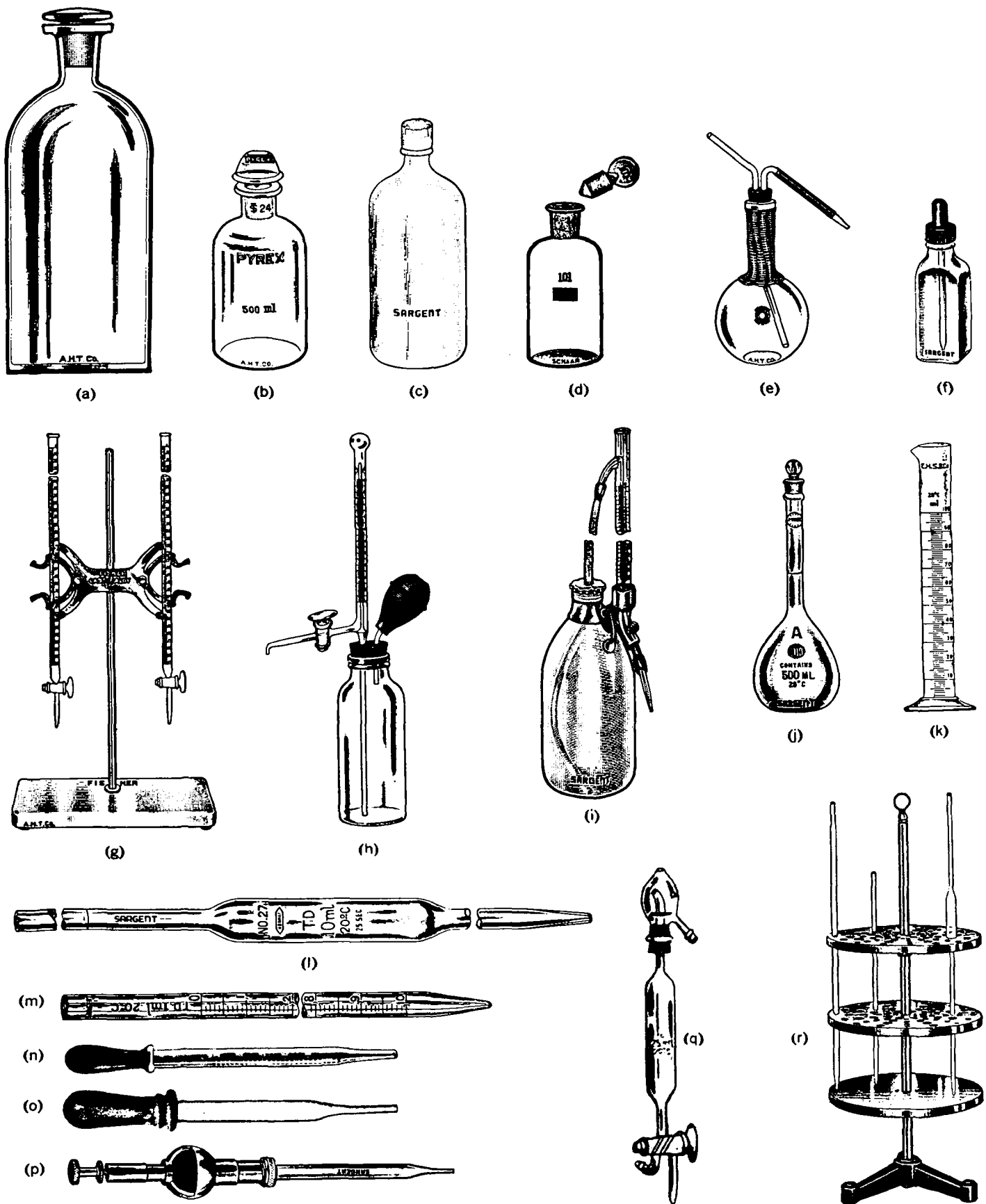


FIG. 1. CRISTALERIA DE LABORATORIO (véase pág. 3)

2. CRISTALERIA

Generalmente, la cristalería de laboratorio debe ser del tipo refractario, o resistente al calor, denominado "pyrex" (que se vende bajo las marcas comerciales "Pyrex" y "Kimax"; cualquiera de ellas puede usarse cuando se especifica cristal pyrex en este manual).

Los frascos, vasos y agitadores, fabricados de plástico de polietileno, son adecuados para varias operaciones de laboratorio. Sin embargo, el material de polietileno es inútil en presencia del calor o de sustancias fuertemente oxidantes, por lo que nunca se debe usar para tales aplicaciones dañinas a este material.

Matraces aforados. Los matraces aforados son frascos en forma de pera, con cuellos esbeltos y angostos. Su capacidad varía de 25 a 2,000 mililitros (abreviado "ml") y el nivel al cual se alcanza su capacidad se indica por un anillo grabado alrededor del cuello.

Un líquido contenido en un tubo vertical de cristal muestra una curvatura en su superficie expuesta; la superficie curvada del líquido se conoce con el nombre de *menisco*. Un matraz aforado lleno se debe observar al nivel de la visual, para que las secciones frontal y trasera del anillo queden en una línea recta y para que el fondo del nivel del agua (el menisco) quede tocando esta línea. Cuando se utilice cristalería volumétrica, como

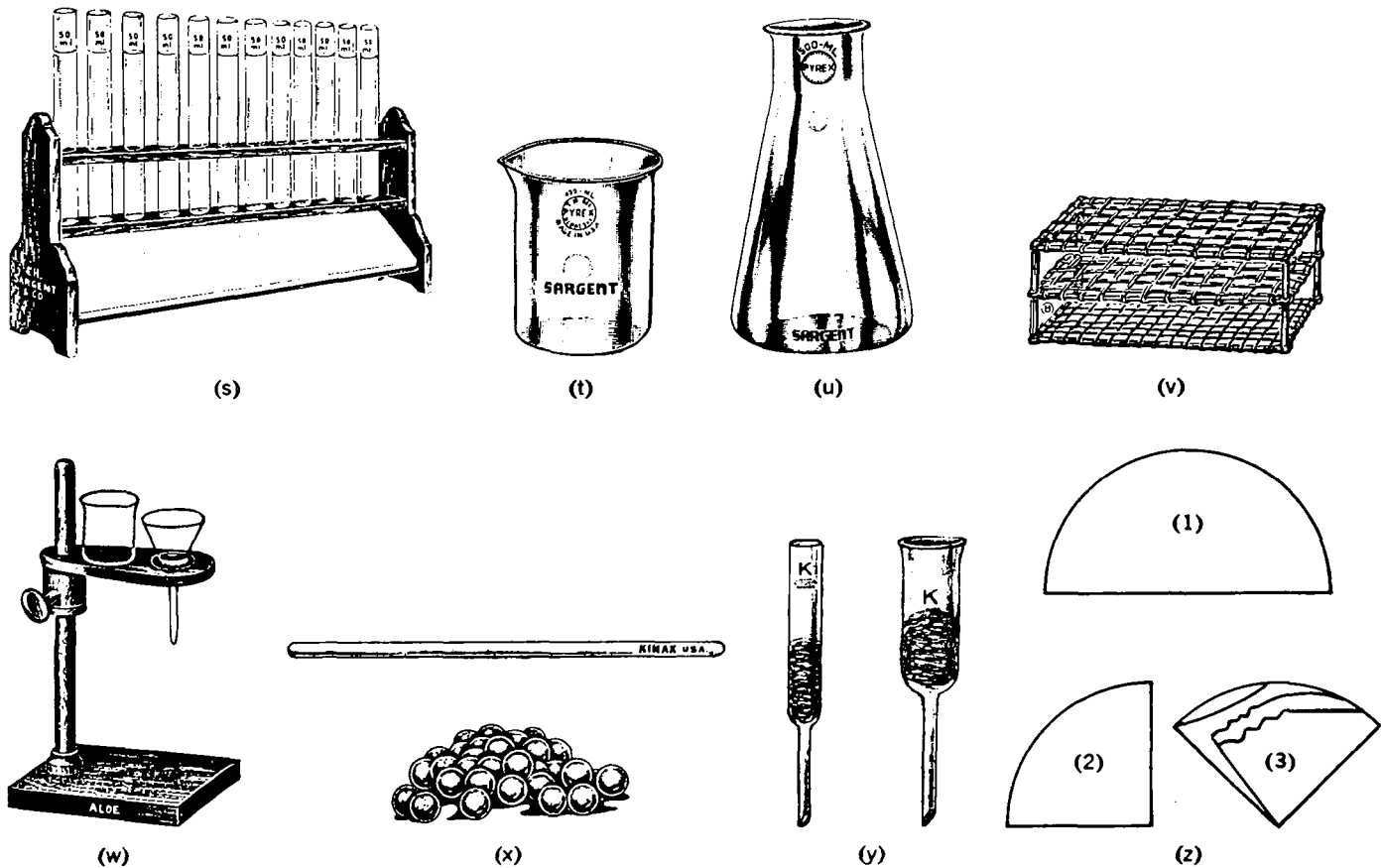
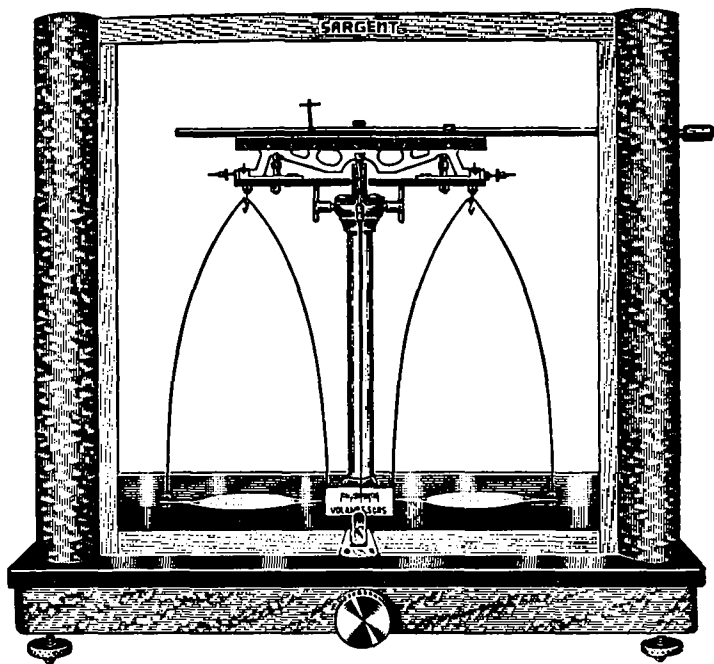


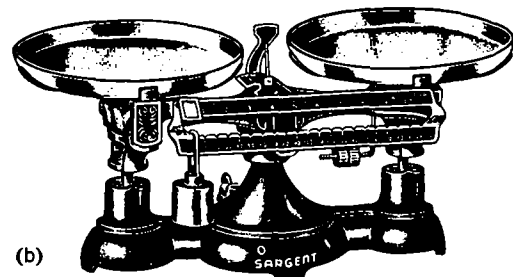
FIG. 1. CRISTALERIA DE LABORATORIO

Clave: (a) frasco para muestra de agua; (b) frasco de cristal para laboratorio; (c) frasco de plástico para laboratorio; (d) frasco de tapón de cristal, para la DBO; (e) piceta; (f) frasco gotero con pipeta en el tapón; (g) buretas y soporte; (h) bureta automática; (i) bureta automática con frasco de polietileno; (j) matraz aforado; (k) probeta graduada; (l) pipeta volumétrica; (m) pipeta graduada o de Mohr; (n) pipeta-gotero graduada; (o) pipeta-gotero medicinal; (p) pipeta de seguridad; (q) pipeta automática; (r) soporte para pipetas; (s) tubos de Nessler, forma

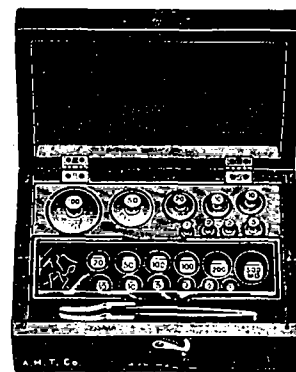
alta, y gradilla; (t) vaso de precipitados; (u) matraz Erlenmeyer de boca ancha; (v) gradilla para tubos de ensaye; (w) embudo para filtración y soporte; (x) agitador de varilla de vidrio y perlas de vidrio; (y) tubos de filtración, con tapones de lana de vidrio; (z) papel filtro: (1) doblado en semicírculo; (2) doblado de nuevo en un cuarto de círculo; (3) doblez cuádruple, con una esquina desgarrada para mejorar el contacto con el cristal, cuando se inserta, con firmeza, en un embudo de filtración.



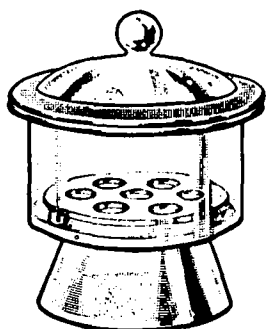
(a)



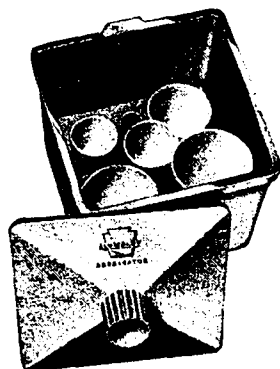
(b)



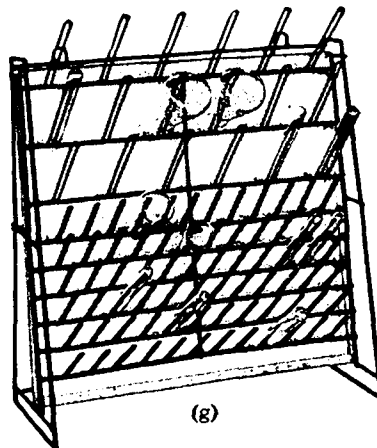
(c)



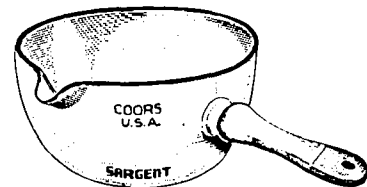
(d)



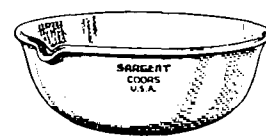
(e)



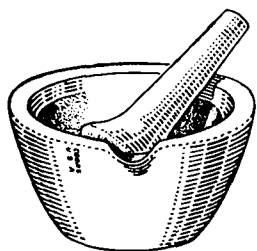
(g)



(h)



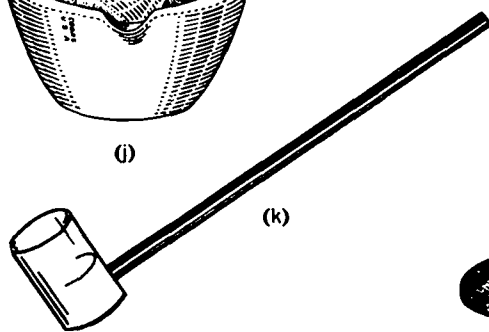
(i)



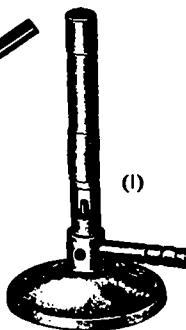
(j)



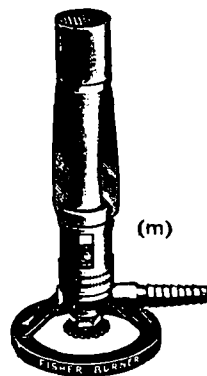
(f)



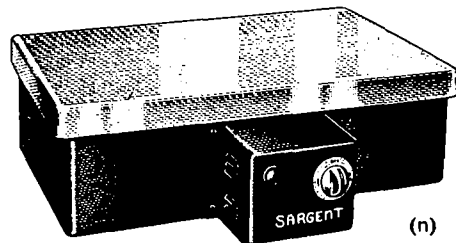
(k)



(l)



(m)



(n)

FIG. 2A. OTROS APARATOS DE LABORATORIO

matraces, probetas graduadas, buretas y pipetas, las lecturas siempre se deben hacer en la parte inferior de la curva (el menisco), como se ilustra en la figura 3.

Los matraces aforados se usan para la preparación y dilución de soluciones valoradas. Por ejemplo, un ácido 0.02N (véase sec. 5) se puede preparar midiendo con una pipeta volumétrica (véase más adelante) 50 ml de una solución madre de ácido 0.1N, vertiéndolas en un matraz aforado de 250 ml. Después de llenar hasta el aforo con agua destilada, su contenido se mezcla íntegramente, invirtiendo el matraz por 15 veces, o más. Como el matraz se ha proyectado para propósitos de medición, su contenido se debe cambiar, de inmediato, a un frasco limpio de almacenamiento.

Probetas graduadas. El caballo de batalla del laboratorio es la probeta graduada. Se dispone de ellas en capacidades hasta de varios litros, con graduaciones marcadas en mililitros, excepto para el tamaño de 10 ml, que se subdivide en fracciones de mililitros, y los tamaños mayores de 250 ml, que se graban a intervalos de 5 ó 10 ml.

Muchas clases de cristalería volumétrica presentan las marcas "T.C.", para indicar que "pueden contener" ("to contain", en idioma inglés) un volumen líquido determinado. Otras clases de cristalería se encuentra marcada "T.D.", para indicar "entregar" ("to deliver" en idioma inglés) dicho volumen. Cierta porción de agua se adhiere siempre a la superficie interior de un matraz o de una probeta, dando por resultado una diferencia entre la cantidad que se vierte en una probeta seca y la que se vierte posteriormente. El analista se debe precaver del uso de cristalería volumétrica sucia, como pipetas, buretas, probetas y matraces volumétricos, para que tenga la seguridad de que entregan los volúmenes correctos.

Buretas. Una bureta es un tubo de cristal graduado en una parte de su longitud. Las capacidades más usuales son 10, 25 y 50 ml. Las graduaciones en décimos de mililitro permiten que se puedan estimar fracciones de décimos. La bureta se fija a un soporte, por medio de unas pinzas, y se llena por arriba; por lo general, a través de un embudo. El exceso de solución, arriba de la línea cero, se drena por medio del grifo, antes de iniciar la titulación. Siempre se lee dos veces una bureta y la diferencia entre las lecturas representa el volumen entregado del reactivo de titulación. Deben tomarse precauciones con

respecto a las burbujas de aire, debidas a la incapacidad de la solución tituladora para mojar el cristal, de modo uniforme, en toda su longitud. Se debe evitar el uso de grifos que no sean herméticos, pues permiten que se pierda lentamente el reactivo mientras no se usa la bureta. Para que el grifo de una bureta pueda funcionar satisfactoriamente, necesita una lubricación frecuente. Para lograr los mejores resultados, se debe aplicar una película delgada de lubricante, como vaselina, sobre la superficie interior previamente secada del grifo. El lubricante debe usarse con discreción ya que un exceso en el grifo puede obturar la punta de la bureta y contribuir, al mismo tiempo, a la formación de burbujas de aire en la misma punta.

Aunque las buretas se han diseñado específicamente para entregar soluciones tituladoras, las personas que experimenten dificultades en el control de las pipetas pueden recurrir a la bureta como un sustituto conveniente, para poder medir volúmenes exactos de las soluciones patrones que se necesitan en operaciones colorimétricas.

Se han introducido mejoras en la bureta clásica, con el propósito de acelerar las titulaciones. Se han diseñado unidades de cero automático, que se montan directamente sobre un frasco de almacenamiento, con un dispositivo para pasar rápidamente la solución del frasco a la bureta. Este tipo de sistema de bureta se encuentra disponible en varias diferentes formas. Uno de los diseños más simples es el que emplea un frasco compresible de polietileno, que a la vez sirve de recipiente y de bomba de presión.

Pipetas. Se tienen dos clases de pipetas en uso general. Aquella con una sola marca de aforo cerca de su extremo superior, que se denomina *pipeta volumétrica*. Aquella con un vástago graduado, que se conoce como *pipeta de medición* o de Mohr, que mide cualquier volumen dentro de la capacidad de diseño de la pipeta.

Un extremo de la pipeta se encuentra ahusado; el otro extremo, o boca, se encuentra pulido a fuego, para que se pueda tapar fácilmente con el dedo. El extremo puntiagudo de la pipeta se inserta en el frasco, se succiona el líquido hasta que pase del aforo superior y la abertura superior se tapa, rápida y herméticamente, con el dedo índice. La punta de la pipeta se enjuaga con una tela limpia. A continuación, se levanta el dedo apenas lo suficiente para que el líquido descienda gradualmente hasta quedar exactamente en el aforo cero. Se detiene de nuevo el escurrimiento, volviendo a aplicar la presión íntegra del dedo, después de lo cual se permite que el líquido medido escurra libremente en el recipiente de reacción, para lo cual se retira el dedo de la abertura superior. No se debe soplar la última gota que queda en la pipeta.

Cuando se succiona líquido en una pipeta, siempre debe mantenerse sumergida la punta mientras se aplica la succión. Debe evitarse una succión vigorosa durante la operación de llenado porque se pueden formar burbujas que se eleven a la superficie, tomando algún tiempo para destruirse, lo cual dificulta la lectura exacta.

←

Clave: (a) balanza analítica; (b) balanza granataria, de platillos; (c) marco de pesas y pinzas; (d) desecador de cristal; (e) desecador de aluminio; (f) vidrios de reloj tarados, para platillos de balanza; (g) escurridor para cristalería; (h) cacerola de porcelana; (i) cápsula de evaporación; (j) mortero y mano o pistilo; (k) cucharilla de medición; (l) mechero Bunsen, de gas; (m) mechero Fisher, de gas, para alta temperatura; (n) plancha caliente, eléctrica.

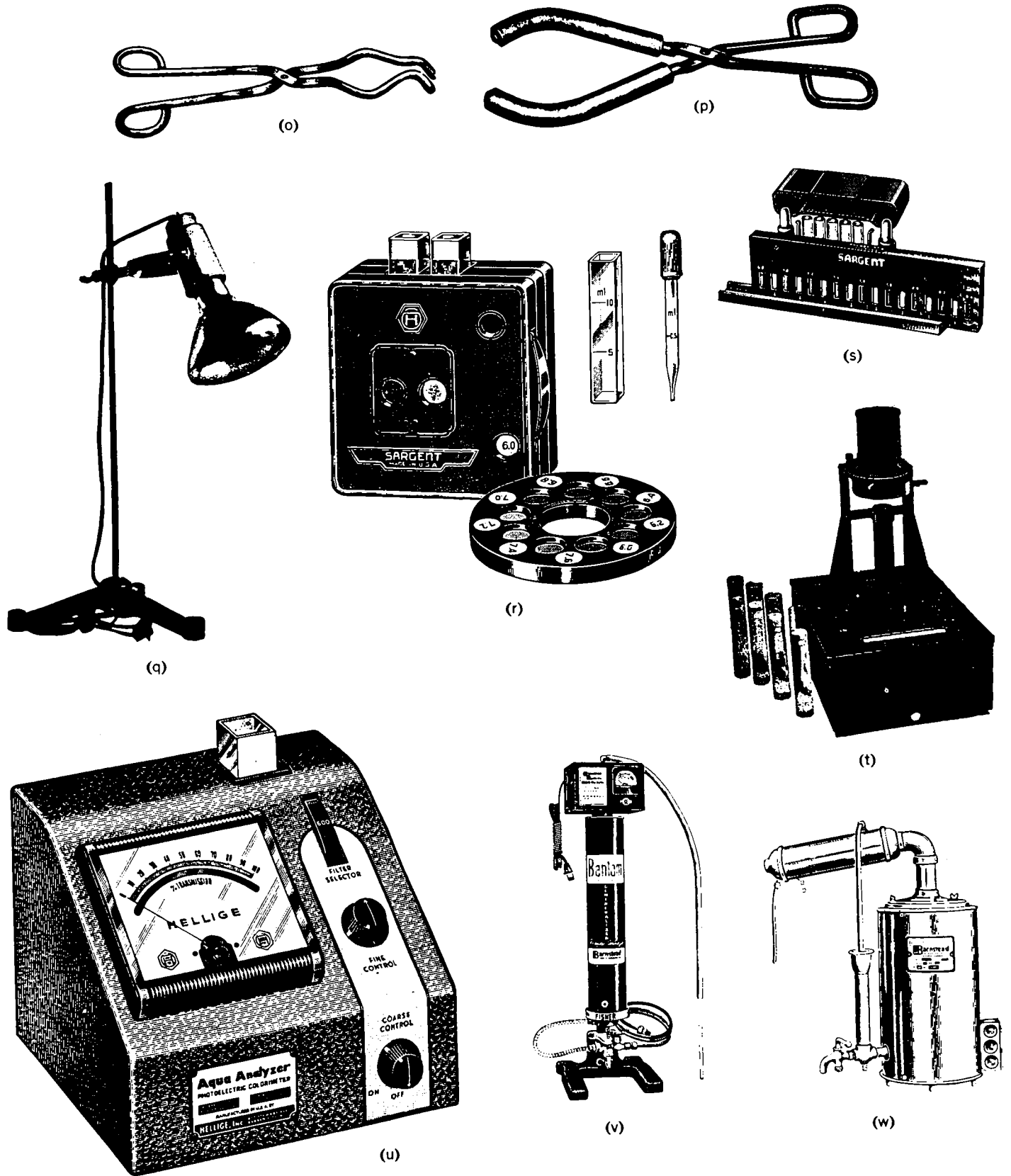


FIG. 2B. OTROS APARATOS DE LABORATORIO

Nunca se debe aplicar la succión con la boca para pipetear soluciones que desprendan vapores dañinos o que contengan tóxicos. Para tales situaciones, se debe disponer de una pipeta de seguridad, equipada con un bulbo de hule y una válvula de retención. Son convenientes los goteros medicinales cuando se trata de medir pequeños volúmenes, desde unas cuantas gotas hasta 1 ml.

Para trabajos exactos, las muestras se deben medir con pipetas volumétricas. Cuando se desea rapidez, sacrificando algo de precisión, se obtienen resultados aceptables con la medición cuidadosa de volúmenes de muestras en probetas graduadas de 100 a 50 ml. Sin embargo, para menos de 50 ml, conviene utilizar pipetas volumétricas para determinar los volúmenes de las muestras, debido a que los errores de medición pueden alterar el resultado final en grado significativo.

Cuidado de la cristalería. El gabinete de limpieza debe contener un abastecimiento adecuado de jabón, detergente, cepillos, escobellones y esponjas. Muchos ensayos de aguas se han echado a perder por un lavado deficiente. Tanto la cristalería de medición como la de mezcla deben estar limpias. Todas las pipetas y buretas se deben enjuagar inmediatamente después de su uso; primero con agua corriente y después con agua destilada antes de que el aire transforme las sustancias disueltas en secas, sobre el cristal. Cerca de todos los sumideros del laboratorio se debe encontrar un marco con clavijas (escurridero), para montar sobre ellas y boca abajo los matraces y frascos y, de preferencia, con una dotación de pinzas para fijar las pipetas. En esta forma, la cristalería se escurre inmediatamente después del lavado. Nunca deben usarse toallas y telas sucias para secar el interior de vasos, matraces o frascos.

Para los casos de limpieza difícil, es recomendable que se utilice un buen detergente doméstico. La cristalería cubierta de polvo, o que ha contenido sustancias pegajosas o adhesivas, tales como mieles o lodos de aguas negras, se debe restregar por completo con dicho detergente.

Otra mezcla para limpieza (mezcla crómica), que tiene gran aplicación en el laboratorio, se prepara vertiendo 40 a 50 g de bicromato de potasio en un frasco con tapón de cristal o de caucho, y vertiendo después 1 litro de ácido sulfúrico concentrado. No deben usarse frascos de plástico, ni taponos de corcho o de plástico porque los ataca el ácido crómico de la mezcla limpiadora. La absorción de la humedad propia de la cristalería húmeda

o del aire hace que se disuelvan los cristales de bicromato de potasio, con una pérdida consiguiente en su poder limpiador. Se pueden agregar, de tiempo en tiempo, cristales de bicromato de potasio con el objeto de renovar el poder limpiador. La mezcla crómica se debe desechar cuando adquiera un color verde.

La mezcla crómica debe manejarse con extrema precaución, limitando su uso a los problemas más difíciles de limpieza. La mezcla es tan activa que rápidamente ataca los tejidos humanos, lo mismo que las prendas de vestir de algodón, lana y la mayoría de las fibras sintéticas.

Cuando sea necesario, se deben tener a mano líquidos limpiadores especiales, como alcohol, tetracloruro de carbono y ácido muriático o clorhídrico (que es especialmente efectivo para eliminar los depósitos o incrustaciones de hierro y de carbonatos).

Desecadores. Un desecador es un recipiente de cristal grueso, con una tapa removible y un falso fondo situado sobre la base verdadera. El espacio que queda abajo del falso fondo se llena con un agente desecador, con el propósito de mantener seco al aire dentro del recipiente, mientras se enfrían a la temperatura ambiente las cápsulas, vidrios de reloj, etc., que se encuentran calientes. Para las demandas de la mayor parte de las plantas de agua, basta un desecador de unos 30 cm de diámetro.

3. ACCESORIOS DIVERSOS PARA LABORATORIO

Se debe disponer de soportes apropiados para montar diversos aparatos, como buretas y embudos. Estos soportes se deben encontrar dotados de pinzas, que permitan un ajuste variable de la altura.

Se necesitan espátulas de acero inoxidable y de plástico para el traspaso y manejo de sustancias y reactivos químicos sólidos.

Las tareas ordinarias de calentamiento se realizan con mecheros Bunsen o Fisher. Muchos laboratorios confían más en las planchas eléctricas calientes. Estas planchas eliminan el soporte de anillo, necesario con un mechero de gas. En general, el calor producido por el gas se puede regular de baja a alta temperatura, mientras que los tipos económicos de las unidades eléctricas de calentamiento son incapaces de tales ajustes.

Las pinzas son implementos útiles para el manejo de envases calientes como vasos de precipitado, matraces Erlenmeyer y crisoles. También es necesaria una piceta para el lavado de los vasos de precipitados o de los matraces Erlenmeyer en los análisis cuantitativos.

Los lápices grasos para laboratorio son útiles para identificar temporalmente los frascos de muestras, lo mismo que la cristalería en la que se verifiquen pruebas subsecuentes.

←

Clave: (o) pinzas para crisol; (p) pinzas para vasos de precipitados; (q) lámpara infrarroja, para desecación; (r) comparador colorimétrico del tipo de disco; (t) fotómetro Lumetrón, para tubos de Nessler; (u) fotómetro Hellige; (v) desmineralizador; (w) alambique para la destilación de agua.

4. AGUA DESTILADA

Se necesita agua destilada para la preparación de las soluciones que se indican en este manual. Un agua destilada aceptable se debe encontrar exenta de bióxido de carbono, amoníaco, cloro residual y cloruros. La ebullición del agua destilada, durante 15 minutos, expulsa al bióxido de carbono y al cloro residual, aunque tiene poco efecto sobre el amoníaco y los cloruros. Se obtiene una calidad satisfactoria de agua destilada empleando un alambique eficiente o usando un permutador iónico de lecho mixto (también denominado *desionizador*). Sin embargo, en algunos casos, para lograr una agua destilada aceptable, el agua destilada ordinaria se debe hacer pasar a través de un lecho de resina Amberlite MB-3 (un producto de Rohm & Haas Co., Philadelphia, Pa., E. U. de A.), de resina Bio-Rad AG501-X8(D) (un producto de Bio-Rad Laboratories, Richmond, Calif., E. U. de A.) o de lechos mixtos de resinas similares de intercambio iónico.

5. SOLUCIONES NORMALES Y VALORADAS

La palabra "normal" (abreviada "N"), a continuación del nombre de un reactivo y de un número, indica su concentración. La palabra "valorada" (estándar) también se usa en este aspecto, aunque la palabra significa simplemente que se conoce exactamente la concentración, mientras que la palabra "normal" indica cuál es la concentración. La concentración de una solución valorada se refiere, a veces, a su normalidad. Así, la normalidad del ácido valorado para la determinación de la alcalinidad del agua es 0.02. Esto se puede escribir 0.02N, N/50 ó

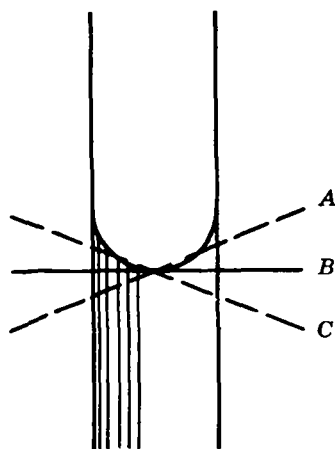


FIG.3. LECTURA DEL MENISCO

La lectura correcta es aquella que sigue la línea B

1/50N, pues todas estas expresiones tienen el mismo significado. El aspecto importante por recordar en relación a las soluciones normales, es que por ejemplo, 100 ml de una solución de hidróxido de sodio 0.02N tienen que neutralizar exactamente a 100 ml de una solución de ácido sulfúrico 0.02N. Por otro lado, una solución de ácido sulfúrico 0.1N tiene una concentración diferente y mayor del ácido.

La disponibilidad usual, en el mercado, de reactivos químicos de alta pureza, permite la preparación de soluciones de titulación, suficientemente útiles, por la mera disolución del peso especificado del reactivo en el volumen adecuado de agua destilada. La titulación de cada solución se encuentra descrita en la última edición de los *Métodos Estándar* (consúltese la sec. 11, más adelante), por si alguna persona dispone de tiempo y de inclinación para preparar sus propios reactivos. Sin embargo, muchas de las soluciones valoradas se pueden adquirir de empresas especializadas de confianza, por lo que se recomienda su uso para aquellas personas que carecen de confianza en su comprensión o habilidad para la preparación de las soluciones que se discuten.

Todos los frascos que contienen soluciones valoradas se deben rotular anotando el nombre de la solución, su concentración, su fecha de preparación y, en algunos casos, las determinaciones a las que se dedican las soluciones.

Todos los reactivos químicos que se usen para la preparación de soluciones deben ser de la mejor calidad disponible. Los reactivos marcados "grado ACS", "grado de patrón primario" o "grado de reactivo analítico", lo mismo que las anilinas o colorantes certificados por la Biological Stain Commission (de E. U. de A.), conducen a los mejores resultados, por lo que se recomienda su empleo. En los métodos que se presentan a continuación, algunas veces se aplican dos nombres al mismo reactivo (tales como fosfato monobásico de potasio y fosfato diácido de potasio). Estas denominaciones se refie-

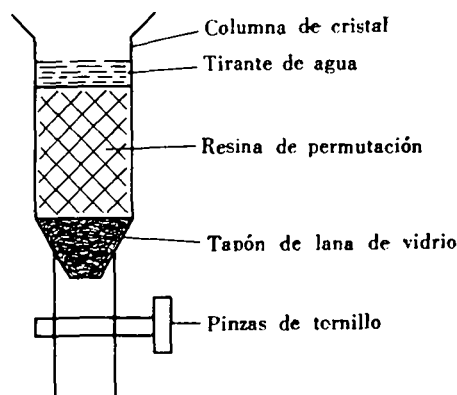


FIG. 4 COLUMNA DE PERMUTACION IONICA

ren a la misma sustancia, cuya fórmula química sigue a la referencia. Se debe confrontar esta fórmula con la que ostente el recipiente para tener la seguridad de que se emplea la sustancia o reactivo químico correcto.

Peligro: Todos los reactivos químicos descritos en este libro deberán ser manejados con cuidado en su forma original así como después de su dilución, para evitar lesiones. Es innecesario decir que se requieren cuidados extremos en el manejo de sustancias químicas marcadas como veneno, peligro, cuidado o inflamable. Para medir y transferir soluciones químicas que pueden producir lesiones por inhalación, absorción o contacto a través de la boca, pulmones y piel, son recomendadas las pipetas automáticas, de seguridad y propipetas.

6. DETERMINACIONES COLORIMETRICAS

Comparaciones de color. Para un cierto número de determinaciones, incluidas en este manual, se especifica el uso de tubos de Nessler para verificar las comparaciones de colores. Para lograr mejores resultados, la muestra se debe colocar en un tubo idéntico a los que contienen los patrones de color. Se debe igualar el juego completo de tubos, es decir, deben ser del mismo tamaño y tener la misma longitud de trayectoria de luz en la observación visual. La comparación del color se realiza mirando directamente hacia abajo por el interior de los tubos, que descansan sobre una superficie blanca, con lo que se permite que la luz se refleje hacia arriba a través de las columnas de líquido. Se dispone de juegos de tubos de Nessler en las formas alta o baja. Por lo general, es preferible la forma alta.

Si se conservan los patrones de color por un tiempo prolongado, como los patrones permanentes de cromatobicromato para el cloro residual, el tubo de Nessler debe cubrirse con una película de plástico transparente, sujeta por una liga de hule. Esta disposición permite que se observen los colores a través de la película de plástico.

En muchos casos, los colores de la muestra se desarrollan directamente en los tubos de Nessler, en los cuales se realizan las comparaciones finales. Después de la adición de los reactivos, se debe mezclar completamente el contenido de los tubos de Nessler. Se pueden cerrar los tubos con tapones de caucho, limpios y enjuagados, invirtiéndolos de cuatro a seis veces, para su mezcla adecuada. Otra forma de mezcla es por medio de un émbolo, fabricado de una varilla de vidrio, cuyo extremo se aplasta al fuego.

Comparadores y juegos de ensayo. Como en el caso de las soluciones valoradas, se pueden adquirir, de empresas especializadas de confianza, patrones permanentes para color, para turbiedad y para muchas sustancias químicas. Los juegos de ensayo de comparadores colorimétricos se presentan en dos formas generales: el tipo

de disco, que contiene un círculo con pequeños cristales coloridos, y el tipo de regla o escala deslizante, que presenta los patrones líquidos en ampolletas de cristal.

El comparador de disco consiste de una caja de plástico, con un ocular en el frente y un cristal esmerilado en la parte trasera. Atrás del ocular se dispone el lugar para fijar el disco giratorio de color. Entre el disco y el cristal esmerilado se encuentra un compartimiento, dividido en dos celdas, para acomodar la muestra de agua sin tratar y la muestra tratada con el reactivo. La muestra sin tratar se sitúa en el mismo lado y en línea con los colores permanentes del disco giratorio. La otra parte del compartimiento se reserva para la muestra en la que se ha desarrollado el color por medios químicos. La concentración se estima visualmente, observando a través del ocular y pareando el color desarrollado con los colores permanentes del disco. El disco de color se puede desmontar fácilmente del estuche, para sustituirse con un disco para otra determinación. En esta forma, un juego de comparadores puede servir para determinaciones diferentes.

Es recomendable comprobar de inmediato la confianza que merecen los estuches y después en forma periódica. Las soluciones patrones que se describen en este manual resultan adecuadas para comprobar la calibración de los patrones permanentes.

Como muchos de estos juegos se han fabricado para usarlos con los propios reactivos del fabricante, según se necesite deben adquirirse mayores cantidades de tales reactivos. Si se obtienen resultados extraños o dudosos se deben recomprobar a la mayor brevedad los reactivos recién adquiridos. El analista debe mantenerse alerta de cualquier deterioro de los reactivos adquiridos, después de un reposo prolongado. Si los reactivos no conducen a resultados razonables con las soluciones valoradas, se recomienda la inmediata sustitución de los reactivos adquiridos.

Cuando una prueba se realiza raras veces, es recomendable adquirir las soluciones y reactivos en pequeñas cantidades, anotando, además, la fecha de entrega de los reactivos, para que cualquier resultado dudoso se pueda atribuir, con seguridad, al envejecimiento o añejamiento del reactivo. Por lo general, los reactivos estables se adquieren en forma de solución, mientras que los reactivos inestables se expenden en forma de píldoras o en forma pulverizada, que puede dosificarse con una cucharilla de medición. Las píldoras o el polvo se pueden agregar en forma seca, o bien, disolverlos en un volumen definido de agua para preparar suficiente solución para una prueba.

Los juegos de ensayo proporcionan resultados rápidos, consistentes y bastante aceptables, en manos de individuos con un mínimo de adiestramiento. Siendo fácilmente portátiles, son útiles para comprobar las operaciones en el campo.

Muchos de los juegos de ensayo se basan en una ver-

sión simplificada de una prueba de los *Métodos Estándar*. Los reactivos se reciben listos para usarse y, por lo general, llevan un número de clave o una marca comercial. Tanto el número como la marca ayudan para ordenar nuevas adquisiciones. Entre las ventajas de los juegos de ensayo se tienen: no hay necesidad de preparar las soluciones; no es necesario preparar los patrones en cada ocasión; finalmente, se cuenta con un aparato montado y diseñado específicamente para la determinación. Por otra parte se tiene la desventaja de que la exactitud de las pruebas realizadas con los juegos muy rara vez iguala a la que se obtiene en un buen laboratorio. Con respecto a la precisión (la capacidad para reproducir el mismo resultado una y otra vez), los juegos se pueden aproximar a los resultados obtenidos en el laboratorio. Los juegos de ensayo sólo deben usarse en los estudios exploratorios de aguas crudas o tratadas, después de haber comprobado que los resultados en esas aguas particulares igualan o se aproximan mucho a los valores que se obtienen por métodos estándar reconocidos y aceptados.

Los juegos de ensayo y las soluciones de reactivos pueden adquirirse para las siguientes determinaciones: aluminio, nitrógeno amoniacal, cloro residual, bióxido de cloro, cobre, fluoruro, hierro, manganeso, valor del pH, fosfato y polifosfato, sílice, turbiedad, alcalinidad, calcio, prueba de estabilidad al carbonato de calcio (disponible bajo el nombre de indicador Enslow de estabilidad), bióxido de carbono, cloruro, dureza y oxígeno disuelto. Las últimas siete determinaciones son realmente titulaciones y no estimaciones colorimétricas.

Fotómetros. Estos instrumentos, que economizan tiempo, funcionan con la estimación fotoeléctrica del valor del color. Los fotómetros más simples vienen equipados con filtros de color y con gráficas de calibración, para un cierto número de determinaciones. Antes de iniciar una determinación, se tiene que colocar, en sus respectivos sitios el filtro del color correcto y la gráfica de calibración. Después del tratamiento con los reactivos que se suministran, la muestra colorida se sitúa en el paso de un haz de luz eléctrica y la concentración se lee directamente por la indicación de la aguja en la gráfica de calibración. Con estos fotómetros deben observarse las mismas precauciones que con los juegos de comparación. Se deben usar los reactivos del fabricante y el analista debe estar en guardia contra los reactivos de calidad dudosa. También se puede seguir el mismo sistema de comprobación.

Para muchas de las determinaciones colorimétricas de este manual, también es satisfactorio un fotómetro que pueda trabajar con tubos de Nessler de forma baja. Se desarrollan los colores en la forma que se indica en el manual y el tubo de Nessler se sitúa en un soporte, con el propósito de medir la absorción de la luz producida por la combinación del color del filtro y de la muestra colorida. Antes de verificar un ensayo de aguas, debe prepararse una curva de calibración, partiendo de una

serie de soluciones valoradas. A continuación, las muestras tratadas se miden en la misma forma y la lectura se refiere a la curva de calibración, para determinar la concentración. El uso de este instrumento requiere cierto conocimiento de los métodos fotométricos y, por lo tanto, conduce a los mejores resultados en manos de un analista debidamente preparado.

Se encuentran en el mercado otros tipos de juegos de comparación y de instrumentos fotométricos y espectrofotométricos. La mención o descripción de todos los modelos disponibles se encuentra fuera del propósito de este manual, en el que tampoco se pueden hacer recomendaciones relativas a lo adecuado de tal equipo para un laboratorio en particular.

7. DISPONIBILIDAD DE SUMINISTROS DE LABORATORIO

En Estados Unidos de América, Canadá y otros lugares se encuentran dispersas muchas empresas de reputación, especializadas en suministros de laboratorio. Los nombres y direcciones de algunas de esas empresas se encuentran enumeradas en la Sección de Guía de Compradores de la Edición de Referencia (editada bienalmente en otoño) del *Journal American Water Works Association*. Las páginas de anunciantes en cada ejemplar del *Journal AWWA* también constituyen fuentes adecuadas para información al respecto. Muchas de las grandes empresas publican catálogos que ilustran los aparatos en disponibilidad. En los departamentos estatales de salubridad, los principiantes pueden encontrar gran ayuda para que les recomienden las empresas especializadas más cercanas, que puedan satisfacer estas necesidades.

Cuando en este manual se menciona un producto de un fabricante específico, se debe comprender que se puede sustituir por un equivalente, siempre que el usuario se cerciore que el sustituto resulta igualmente adecuado, para el propósito descrito en el manual.

8. REGISTROS

Todos los datos importantes deben registrarse en una libreta empastada, de cualquier formato. Es posible, así, localizar los ensayos anteriores y se tienen disponibles, en cualquier tiempo, los resultados de laboratorio, para comprobaciones o para comparar las condiciones del agua. Consultando estos registros, es posible, a menudo, ahorrar tiempo en análisis rutinarios. Todos los datos que se usen con frecuencia, tales como las proporciones de las soluciones valoradas, factores de conversión y datos similares se pueden tener, con un índice conveniente, en las páginas finales de la libreta en uso. Muchas plantas de agua han diseñado formas de registro, para sus

propios archivos, que se ajustan a las necesidades individuales de la planta. Se cuenta, así, con los datos de laboratorio y con otros informes vitales, relacionados con la operación de la planta. Tales libretas de registros se pueden disponer para que abarquen un periodo adecuado de tiempo, ya sea, semanario, mensual o anual, con previsiones para un archivo permanente de los registros anteriores. Los departamentos estatales de salubridad requieren por lo general, que se les presenten informes periódicos en formas o esqueletos diseñadas para este propósito. Cada planta de agua debe coordinar sus actividades al respecto con el departamento de salubridad y es una buena práctica que las copias de los informes que se rindan formen parte de los registros de la planta. La mejor protección posible para un operador, en aquellos casos en que se impute al abastecimiento de agua la propagación de enfermedades, corrosión u otros sucesos poco afortunados, está formada por una serie de registros completos y exactos de sus actividades.

9. MUESTREO

A no ser que la muestra en ensayo sea representativa del agua en estudio, cualquier prueba de laboratorio carece de valor. La prisa o el descuido en preparar y obtener una muestra puede desvirtuar completamente la exactitud de las determinaciones que se realicen en el laboratorio. Rara vez resulta suficiente confiar en una muestra simple o instantánea. Es necesario, con frecuencia, emplear una muestra compuesta, preparada con un cierto número de muestras individuales. Se debe obrar con el mejor criterio en la selección de un método de muestreo y tal selección depende, primordialmente de las instalaciones disponibles en el laboratorio. Unos cuantos de los factores que deben tomarse en consideración para la toma de muestras son:

- a) El carácter de los exámenes de laboratorio que se tienen que verificar.
- b) El uso o aplicación que se haga de los resultados de las pruebas o análisis.
- c) La naturaleza del agua muestreada y la variación de sus características durante el periodo de muestreo.
- d) La variación de gasto hidráulico durante el periodo de muestreo.

Para los exámenes ordinarios de aguas, químicos o físicos, la muestra debe recolectarse en un frasco limpio de cristal, con tapón de cristal, o en un frasco de plástico. El volumen de la muestra depende de las pruebas que se deban verificar.

Como las aguas de pozos son de composición bastante constante, rara vez son necesarias las muestras compuestas. Sin embargo, el pozo se debe bombear por un tiempo suficiente para que la muestra que se tome sea representativa del agua profunda que alimenta al pozo.

Las aguas de lagunas, lagos y embalses se encuentran,

con frecuencia, expuestas a condiciones variables, resultantes de causas naturales, como los cambios estacionales, las lluvias, los vientos y las corrientes internas. Por lo general, las variaciones no son tan rápidas ni tan amplias como las que se observan en las aguas corrientes. En general, una sola muestra puede ser representativa pero, si existen condiciones cambiantes, se deben tomar varias muestras en lugares diferentes. Estas se pueden combinar en una sola muestra compuesta, si así se desea. Se debe tomar en cuenta que los lagos pueden estar estratificados y que la composición del agua puede variar con la profundidad.

Gran parte de los muestreos se realizan en la misma planta potabilizadora. Este es el punto lógico para el muestreo, en particular si el agua cruda se tiene que tratar y almacenar para su distribución. Las estaciones y la frecuencia del muestreo dependen del tipo de la planta y del tratamiento que se aplica. Por ejemplo, si el agua cruda proviene de pozo se puede necesitar un solo muestreo diario, mientras que un abastecimiento que se bombea de una corriente puede exigir muestreos horarios. También deben verificarse muestreos, a intervalos apropiados, en aquellos puntos en los que es necesario determinar las demandas de reactivos para el tratamiento, lo mismo que en aquellos lugares en los que puede juzgarse la efectividad del tratamiento. Muchos laboratorios, en especial aquellos de servicios públicos que sirven a grandes poblaciones, tienen instalaciones permanentes para realizar muestreos constantes en todas las etapas del proceso.

Una práctica, de aplicación creciente, es la recolección de muestras de los sistemas de distribución, tanto para exámenes bacteriológicos como químicos. Para la recolección de muestras bacteriológicas deben seleccionarse zonas exteriormente limpias y en condiciones sanitarias. Si es posible, deben evitarse los lavaderos públicos como estaciones de muestreo para propósitos bacteriológicos. Sea que la muestra se destine para exámenes bacteriológicos o químicos, debe ejercerse particular cuidado para asegurarse que es representativa del caudal de distribución y que se excluyen del frasco a las sustancias extrañas. El mejor procedimiento es restregar y limpiar las partes exteriores del grifo y, a continuación, dejar correr el agua libremente hasta que su temperatura llegue a ser constante e igual a la que se sabe existe en los acueductos de distribución de una zona geográfica particular. Solamente entonces se puede proceder a la recolección de la muestra. Deben adjuntarse a la muestra los datos siguientes: localización de la estación o sitio, fecha y hora de recolección, temperatura del agua, nombre del muestreador y todos aquellos otros informes que puedan ser útiles para explicar resultados extraños.

10. FACTORES DE CONVERSION

En el laboratorio, los reactivos se pesan en gramos y

miligramos y los líquidos se miden en litros y mililitros. Por esta razón, los informes normales se anotan en miligramos por litro (abreviado "mg/l"). Como 1 litro de agua pesa, por lo general, muy cerca de 1,000,000 mg, 1 mg de la sustancia en 1 litro representa 1 parte por millón (abreviado "ppm"). Por simplicidad, la unidad "ppm" se usa con frecuencia en las operaciones de las plantas. Ha de quedar entendido que, en los análisis de aguas, ppm significa siempre ppm *en peso* y nunca en volumen. En esta forma, 1 ppm es igual a 1 mg de material por 1,000,000 mg de agua, o 1 kg de material por 1,000,000 kg de agua, etc. pero nunca 1 litro de material por 1,000,000 litros de agua. Análogamente, 10 ppm de dureza, como carbonato de calcio, significan 10 mg de carbonato de calcio por 1,000,000 mg de agua o 10 kg de carbonato de calcio por 1,000,000 kg de agua.

En ocasiones, es necesario convertir miligramos por litro a granos por galón o a libras por 1,000 galones. El cuadro 1 presenta un grupo de factores de conversión, que resulta útil para este propósito.

11. OTRAS PUBLICACIONES

Existe un buen número de excelentes publicaciones

sobre las prácticas de laboratorio de las plantas de agua, siendo conveniente que, en la biblioteca del laboratorio, se cuente con tantas de ellas como sea posible. Tres que debieran estar en cada librero son:

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater [*Métodos Estándar para el Examen de Aguas y Aguas de Desecho*], (preparados conjuntamente por la American Public Health Association, la American Water Works Association y la Water Pollution Control Federation). Los *Métodos Estándar* describen todos los procedimientos aceptados para los análisis de aguas y de desechos acarreados por el agua.

Safety Practice for Water Utilities [*Prácticas de Seguridad en Servicios Públicos de Aguas*]. Este manual, publicado por la AWWA, describe los medios adecuados para el manejo de materiales y para evitar lesiones en el laboratorio y en las demás partes de un servicio.

Water Quality and Treatment [*Calidad y Tratamiento del Agua*]. Publicado también por la AWWA, este amplio volumen constituye una ayuda en la comprensión de las relaciones entre los resultados de laboratorio con la operación de la planta y con la calidad del agua.

CUADRO 1

FACTORES DE CONVERSION

	Equivalencias				
	ppm o mg/l	gr/galón US	lb/1,000 gals. US	gr/galón Imp.	lb/1,000 gal. Imp.
1 parte por millón	1	0.0583	0.00834	0.0700	0.100
1 grano por galón US	17.1	1	0.143	1.20	0.172
1 lb* por 1,000 gal. US	120	7	1	8.41	1.20
1 grano por galón Imp.	14.3	0.833	0.119	1	0.143
1 lb por 1,000 gal. Imp.	99.8	5.83	0.833	7	1

*1 Kg = 2.2 lbs.

I. EXAMENES QUIMICOS

Alcalinidad

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Muchos de los reactivos que se usan en el tratamiento de las aguas pueden producir un cambio en su alcalinidad, pero los cambios más pronunciados son los que se originan por los coagulantes y por los reactivos de ablandamiento, cal (viva o hidratada) y cenizas de soda (carbonato de sodio). Esta prueba de alcalinidad tiene el propósito de proporcionar resultados que se apliquen para el cálculo de las dosis de reactivos que se demandan en los procesos de coagulación y de ablandamiento. También debe determinarse la alcalinidad total en el curso de la prueba de estabilidad al carbonato de calcio (véase p. 25) y en la estimación de la dureza de carbonatos (véase p. 97).

2. ADVERTENCIA

Este método es adecuado para la titulación de aguas que contengan alcalinidad de hidróxidos, carbonatos o bicarbonatos. El agua debe encontrarse exenta de color o turbiedad, que puedan enmascarar o afectar la respuesta del indicador. El contenido de cloro residual del agua no debe exceder de 1.8 mg/l. Cuando el agua no llega a satisfacer cualquiera de estas condiciones, se debe seguir lo indicado en la última edición de los *Métodos Estándar*.

3. APARATOS

- 3.1. Una bureta de 25 ml con soporte.
- 3.2. Una probeta graduada de 100 ml o pipetas volumétricas apropiadas, para la medición de la muestra.
- 3.3. Dos, o más, matraces de 250 ml o cacerolas de porcelana.
- 3.4. Dos, o más, agitadores.
- 3.5. Tres pipetas-goteros o goteros medicinales de 0.5 a 1 ml de capacidad, para adicionar las soluciones de tiosulfato de sodio, de indicador de fenoltaleína y de indicador de anaranjado de metilo.

4. REACTIVOS

4.1. Solución de tiosulfato de sodio, 0.1N (no es necesaria si el agua no contiene cloro residual). Se pesan 2.5 g de tiosulfato de sodio, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, y se disuelven en 100 ml de agua destilada.

4.2. Solución indicadora de fenoltaleína. Se pesan 0.5 g de la sal disódica de fenoltaleína, pulverizada y se disuelven en 100 ml de agua destilada.

4.3. Solución indicadora de anaranjado de metilo. Se pesan 0.05 g del indicador pulverizado de anaranjado de metilo y se disuelven en 100 ml de agua destilada. La anilina puede exigir algo de tiempo y de agitación para disolverse a la temperatura ambiente.

4.4. Titulador de ácido sulfúrico, 0.0200 N, H_2SO_4 . Esta solución requiere cierta habilidad para su preparación, titulación y ajuste al valor exacto 0.0200 N (consultese la última edición de los *Métodos Estándar*). La solución 0.0200 N se puede adquirir de almacenes de confianza.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Se llena la bureta con la solución tituladora de ácido sulfúrico. Se registra el nivel del líquido en la bureta, leyéndolo en el fondo del menisco. Se debe cuidar que no existan fugas en el grifo, lo que daría por resultado la pérdida de la solución tituladora.

5.2. Se mide un volumen adecuado de muestra, para los ámbitos de alcalinidad que se indican:

Volumen de muestra, ml	Ámbito de alcalinidad, mg/l como CaCO_3
100	0—250
50	251—500
25	501—1,000

Ejemplo: Si la alcalinidad cae dentro del ámbito de 0 a 250 mg/l, como CaCO_3 (carbonato de calcio), se toma una muestra de 100 ml.

Se vierten dos volúmenes iguales de la muestra en dos matraces de 250 ml (o cacerolas de porcelana), uno de los cuales se usa como testigo para la comparación del color.

5.3. Si es necesario, se elimina el cloro residual por la adición de 1 gota (0.05 ml) de solución de tiosulfato de sodio a cada matraz (o cacerola) y se mezcla.

5.4. Se agregan 2 gotas de la solución indicadora de fenolftaleína a un matraz (o cacerola) y se mezcla. Si la muestra cambia al rosa, se tienen presentes carbonatos o hidróxidos; se procede según el Paso 5.5. Si la muestra se mantiene incolora, el agua contiene bicarbonatos o es ácida; se omiten los Pasos 5.5 al 5.7 y se continúa con el Paso 5.8.

5.5. Si la muestra cambia al rosa, se agrega gradualmente la solución tituladora de ácido sulfúrico de la bureta, agitando constantemente el matraz (o el contenido de la cacerola), hasta el momento justo en que desaparezca el color rosa. Se usa el matraz sin indicador de fenolftaleína como un testigo de comparación de color.

5.6. Se lee de nuevo el nivel de la bureta en el fondo del menisco, y se calcula el volumen de ácido consumido, por substracción de la primera lectura con la última.

5.7. Se calcula la alcalinidad a la fenolftaleína, en términos de mg/l, como carbonato de calcio, multiplicando el resultado encontrado en el paso 5.6 por el factor correspondiente como sigue:

Volumen de muestra, ml	Multiplíquense los ml de H_2SO_4 , por
100	10
50	20
25	40

5.8. Se agregan 2 gotas (0.1 ml) de la solución indicadora de anaranjado de metilo a ambos matraces (o cacerolas) que contienen la muestra.

5.9. Se titula de nuevo con pequeños volúmenes de ácido sulfúrico, hasta que el color amarillo apenas comience a cambiar al anaranjado. Se compara continuamente contra un fondo blanco, el color de la muestra con aquel del testigo. En el vire se debe observar una pequeña diferencia entre el color del testigo de comparación, que siempre se conserva amarillo, y el de la muestra titulada, que vira gradualmente a un anaranjado muy débil. El cambio de color tiene lugar con la adición de 2 a 4 gotas del ácido sulfúrico. Si se tiene dificultad en reconocer el cambio de color, cuando se agrega 1 gota cada vez, cerca del cambio de color, se agregan 2 gotas del ácido en cada ocasión.

Con esto se intensifica el cambio de color, no siendo de significación la pequeña pérdida en exactitud.

5.10. Se lee de nuevo la bureta y se calcula el volumen total de ácido que se usó tanto en la titulación con la fenolftaleína (si se lleva al cabo el paso 5.5) como en la titulación con el anaranjado de metilo (paso 5.9). Se multiplica este total por el factor apropiado que se indica en el paso 5.7. El resultado es la alcalinidad total (que también se denomina alcalinidad al anaranjado de metilo), en términos de mg/l, como carbonato de calcio.

6. APLICACIONES PRACTICAS DE LAS TITULACIONES DE ALCALINIDAD

6.1. La alcalinidad a la fenolftaleína (que se abrevia "F") y la alcalinidad total (que se abrevia "T") se pueden usar para calcular los hidróxidos, carbonatos y bicarbonatos en términos de carbonato de calcio. La titulación al anaranjado de metilo (T) cuantifica toda la alcalinidad debida a bicarbonatos, carbonatos e hidróxidos. Por otra parte, la titulación a la fenolftaleína (F) cuantifica todos los hidróxidos y exactamente la mitad de los carbonatos, pero no cuantifica nada de los bicarbonatos. Por lo tanto:

a) Se tienen presentes bicarbonatos cuando la alcalinidad a la fenolftaleína es menor que la mitad de la alcalinidad total.

b) Se encuentran presentes los carbonatos cuando la alcalinidad a la fenolftaleína no es de cero, pero es menor que la alcalinidad total.

c) Existen hidróxidos cuando la alcalinidad a la fenolftaleína es mayor de la mitad de la alcalinidad total.

El cuadro 2 muestra cómo calcular los diversos tipos de alcalinidad. Los cálculos están basados en las siguientes suposiciones:

- En la muestra puede existir alcalinidad por carbonatos y bicarbonatos.

- Puede presentarse bióxido de carbono cuando hay ausencia de alcalinidad a la fenolftaleína. Recíprocamente, la existencia de alcalinidad a la fenolftaleína significa ausencia de bióxido de carbono en el agua. Un pH de 8.3 representa el límite de la alcalinidad carbonatada. Ya que los minerales ácidos no son constituyentes del agua, su presencia indica polución.

El cuadro 2 indica la forma de cálculo para los diversos tipos de alcalinidad.

6.2. La Alcalinidad de hidróxidos o cáustica, en una agua en proceso de ablandamiento, indica la presencia de exceso de cal que se puede encontrar dentro del ámbito de 10 a 50 mg/l. Esta alcalinidad se puede reducir a un nivel adecuado por carbonatación.

6.3. Se agregan cenizas de soda (carbonato de sodio) en algunas aguas blandas, con el fin de proporcionar suficiente alcalinidad de carbonato para mejorar la coagulación con alumbre. Las titulaciones para determinar la alcalinidad, proporcionan un medio para el control adecuado de la desulfuración de la ceniza de soda.

CUADRO 2

CALCULO DE LA ALCALINIDAD A PARTIR DE LOS RESULTADOS DE LA TITULACION*

Alcalinidad, mg/l como CaCO₃

Resultados de la titulación	Hidróxidos	Carbonatos	Bicarbonatos
F = 0	0	0	T
F menor de 1/2 T	0	2F	T - 2F
F = 1/2 T	0	2F	0
F mayor de 1/2 T	2F - T	2T - 2F	0
F = T	T	0	0

*F = Alcalinidad a la fenolftaleína (mg/l); T = Alcalinidad total (mg/l).

Aluminio

1. PROPOSITO DEL ENSAYO

Este método de control es diseñado para plantas de tratamiento en las que se utilizan sales de aluminio como coagulante.

2. CUIDADOS

Este método es adecuado únicamente en ausencia de fluoruro y metafosfatos. El agua deberá estar libre de color y turbiedad. Deberá ser consultada la última edición de los "Métodos Normalizados para Análisis de Agua" para los procedimientos de remoción de cualquiera de las sustancias interferentes.

3. APARATOS

3.1. Siete o más tubos Nessler con marca a los 50 ml, de forma larga y el respectivo soporte.

3.2. Una bureta de 25 ó 30 ml o pipetas apropiadas para medición de las soluciones de aluminio.

*Toda la cristalería del 3.1 al 3.5 deberá ser enjuagada primeramente con una solución caliente 1 a 1 de ácido clorhídrico y agua destilada. Preparar la solución 1 a 1 de ácido clorhídrico mezclando iguales volúmenes de ácido concentrado con agua destilada.

3.3. Pipetas volumétricas de 5 y 10 ml.

3.4. Pipetas de medición de 1, 2 y 10 ml.

3.5. Siete o más frascos Erlenmeyer de 250 ml.

3.6. Un cilindro graduado de 25 ml.

3.7. Una pipeta de agua destilada para el enjuague de frascos.

4. REACTIVOS

4.1. Solución patrón de aluminio.

a) En una balanza analítica pesar 4.3965 g de reactivo de sulfato de potasio de aluminio $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$.

b) Transferir cuidadosamente la sustancia química a un vaso y disolverla en 300 ml de agua destilada.

c) Transferir la solución del vaso a un frasco volumétrico de 1 l, enjuagar el vaso por tres veces con 50 ml de agua destilada y enrasar a un litro. Agitar bien la solución.

4.2. Solución estándar de aluminio.

Usando una pipeta volumétrica de 10 ml, transferir 10 ml de la solución original de aluminio a un frasco volumétrico de 1 l, diluirla con agua destilada hasta la marca y agitar. Esta solución deberá prepararse cada día.

4.3. Solución amortiguadora.

a) Pesar 136 g de acetato de sodio, $CH_3COONa \cdot 3H_2O$.

b) Transferir cuidadosamente el reactivo pesado a un vaso de 400 ml y disolverlo con aproximadamente 200 ml de agua destilada.

c) Agregar luego 40 ml de solución 1N de ácido acético (preparada mezclando 2.4 ml de ácido acético glacial con 38 ml de agua destilada) al vaso.

d) Transferir cuidadosamente la solución a un frasco volumétrico de 1 l, enjuagando el vaso con tres porciones de 50 ml de agua destilada. Diluirla posteriormente hasta la marca de 1 l con agua destilada y mezclarla lentamente.

4.4. Solución concentrada de indicador: úsese cualquiera de los siguientes productos disponibles:

a) Solochrome cyanine R-200* o eriochrome cyanine.† Disolver 100 mg de colorante en agua destilada y diluirlo hasta 100 ml en un frasco volumétrico. Esta solución deberá tener un pH alrededor de 2.9.

b) Eriochrome cyanine R.‡ Disolver 300 mg de colorante en alrededor 50 ml de agua destilada. Ajustar el valor del pH que será alrededor de 9, hasta 2.9 con 1 + 1 ácido acético (se requieren aproximadamente de 3 ml). Diluir con agua destilada hasta 100 ml.

c) Eriochrome cyanine R.§ Disolver 150 de colorante en 50 ml de agua destilada. Ajustar el valor del pH, el cual deberá ser cerca a 9, hasta un valor cercano a 2.9, con 1 + 1 ácido acético (se requieren aproximadamente de 2 ml). Diluir con agua destilada hasta 100 ml.

Las soluciones preparadas según la descripción hecha arriba tienen excelente estabilidad y se pueden conservar por un año o más.

4.5. Solución diluida del indicador. Usando una pipeta volumétrica, diluir 10 ml de cualquier de las soluciones concentradas con agua destilada hasta tener 100 ml. Estas soluciones son estables por seis meses o más.

4.6. Soluciones de ácido ascórbico. Disolver 100 mg de ácido ascórbico en agua destilada y llevarlo a 100 ml en un frasco volumétrico. Preparar esta solución cada día.

4.7. Acido sulfúrico 0.02N.

*Nombre en inglés del producto en venta por Arnold Hoffman and Co., Providence, R.I.

†Nombre en inglés del producto en venta por K & K Labs, Plainview, N.Y.

‡Nombre en inglés del producto en venta por Pfaltz and Bauer Inc., Flushing, N.Y.

§Nombre en inglés del producto en venta por Hartmen-Leddon Co., Philadelphia, Pa.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparar las siguientes soluciones diluidas de aluminio tomando alícuotas conocidas de la solución concentrada de aluminio (4.2.) en frascos Erlenmeyer de 250 ml.

Soluciones normales de aluminio ml	Aluminio mg/l
0	0
0.5	0.5
1.0	0.10
1.5	0.15
2.0	0.20
2.5	0.25
3.0	0.30

5.2. Agregar 25 ml de agua destilada a cada frasco usando un cilindro graduado.

5.3. Colocar 25 ml de muestra en otro frasco Erlenmeyer de 250 ml (si la concentración de aluminio es mayor que 0.30 mg/l, tomar una muestra más pequeña y diluirla a 25 ml con agua destilada).

5.4. Agregar 1 ml de ácido sulfúrico, 0.02N a cada frasco. Al frasco que contiene la muestra adicional, añadirle suficiente ácido sulfúrico 0.02N para neutralizar la alcalinidad de la muestra (si es necesario, determinar esta cantidad realizando ensayos de alcalinidad en 25 ml de la muestra original).

5.5. Agregar 1 ml de ácido ascórbico a la muestra y patrón y mezclarlos bien.

5.6. Añadir a cada frasco 10 ml de solución amortiguadora y mezclarla bien.

5.7. Usando una pipeta volumétrica agregar 5 ml de la solución diluida de indicador y mezclarla.

5.8. Inmediatamente vertir la solución en los tubos Nessler. Usar varias veces pequeñas cantidades de agua destilada para enjuagar cada frasco y añadir el producto de los enjuagues a los tubos Nessler. Añadir agua destilada hasta un volumen de 50 ml y mezclar.

5.9. Mantener en reposo de 5 a 15 minutos y entonces comparar el color de la muestra con los colores de las muestras de patrones y determinar, por el color, la cantidad de aluminio presente en la muestra.

Nitrógeno Amoniacal

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Las huellas de amoníaco se presentan, ya sea en forma natural en las aguas de muchos abastecimientos, o bien, se pueden agregar artificialmente, junto con el

cloro, para formar un residual combinado de cloro. El amoníaco es importante en aguas superficiales porque un aumento súbito puede ser el indicio de acceso de aguas negras o desechos industriales. El aumento en el contenido de amoníaco se relaciona con el aumento correspon-

diente en la demanda de cloro del agua cuando se utiliza el proceso de cloración a residual libre disponible. Los ríos que reciben aguas negras sin tratar, parcialmente tratadas y aun las denominadas completamente tratadas, pueden acusar un gran incremento en el nitrógeno amoniacal cuando la corriente queda completamente, o casi completamente, cubierta por hielo, lo que da por resultado una demanda cuantitativamente mayor de cloro. Este método es adecuado para la estimación de concentraciones de nitrógeno amoniacal en el ámbito de 0.1 a 1.2 mg/l.

2. ADVERTENCIA

Los resultados obtenidos con este método son aproximados. Se puede mejorar su exactitud por el ajuste del color de los patrones permanentes para que correspondan exactamente, con un juego de patrones preparados con cloruro de amonio.

La muestra se debe encontrar clara e incolora después de la coagulación con sulfato de cinc e hidróxido de sodio (paso 5.2). La adición del reactivo de Nessler no debe producir tonos descoloridos de amarillo o verde, ni tampoco turbiedad. La aparición de estas condiciones se traduce generalmente en la existencia de polución. La última edición de los *Métodos Estándar* debe servir como libro de consulta sobre los pasos que se deben tomar para corregir las decoloraciones y la turbiedad, así como para mejorar la exactitud de la determinación.

No son satisfactorios algunos reactivos de Nessler disponibles comercialmente, en particular para la determinación de pequeñas cantidades de amoníaco, que son comunes en aguas de calidad potable de muchas fuentes. Para esta determinación, sólo se puede recomendar la preparación que se describe en la sec. 4.6.

3. APARATOS

3.1. Tubos de Nessler, de 50 ml pareados, forma alta, con gradilla.

3.2. Una bureta de 25 ó 50 ml, o pipetas apropiadas para la medición de las soluciones de cloroplatinato de potasio y de cloruro cobaltoso.

3.3. Tapones limpios de caucho (tamaño núm. 2), para los tubos de Nessler.

3.4. Pipetas graduadas para la adición de las soluciones de sulfato de cinc y de hidróxido de sodio.

3.5. Una pipeta-gotero para dosificar la solución de sal de la Rochela.

3.6. Una pipeta de 1 ml automática o de seguridad para dosificar el reactivo de Nessler.

3.7. Una probeta graduada de 100 ml para la medición de la muestra.

3.8. Pipetas volumétricas apropiadas para la medición de los filtrados de la muestra.

3.9. Un embudo de filtración.

3.10. Papel filtro suave y de textura muy porosa. Son satisfactorias las calidades Whatman núm. 41, o Schleicher & Schull núm. 589.

4. REACTIVOS

4.1. Agua destilada desionizada. Como muchas aguas destiladas contienen algo de nitrógeno amoniacal, para mejores resultados se pasa agua destilada ordinaria al través de un lecho de "Amberlite MB-3" (un producto de Rohm & Haas Co., Philadelphia, Pa. E. U. de A.) o de "Bio-Rad AG501-X8(D)" (un producto de Bio-Rad Laboratorios, Richmond, Calif., E. U. de A.) (Véase figura 4 para la construcción de la columna necesaria). Utilícese esta agua para la preparación de todos los reactivos, con excepción de las soluciones de la sec. 4.2, para los que son satisfactorias las aguas destiladas ordinarias.

4.2. Soluciones para patrones permanentes de color:

a) Solución de cloroplatinato de potasio:

1) Se pesan 2.0 g de cloroplatinato de potasio (K_2PtCl_6). Se transfieren a un vaso de precipitados de un litro y se disuelven en 400 ml de agua destilada.

2) Se agregan 100 ml de ácido clorhídrico concentrado y se mezclan perfectamente.

3) Se vierte la solución a un matraz aforado de un litro, enjuáguese el vaso con tres porciones de 100 ml de agua destilada. Se diluye hasta el aforo de un litro con agua destilada. Se tapa y se mezcla perfectamente.

b) Solución de cloruro cobaltoso:

1) Se pesan 12.0 g de cloruro cobaltoso ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$). Se transfieren a un vaso de precipitados de 600 ml y se disuelve en 200 ml de agua destilada.

2) Se agregan 100 ml de ácido clorhídrico concentrado y se mezcla perfectamente.

3) Se pasa la solución a un matraz aforado de un litro; enjuáguese el vaso con tres porciones de 100 ml de agua destilada. Se diluye hasta el aforo de un litro con agua destilada. Se tapa y se mezcla perfectamente.

4.3. Solución de sulfato de cinc. Se pesan 100 g de sulfato de cinc ($ZnSO_4$). Se disuelven en 96 ml de agua destilada desionizada (4.1).

4.4. Solución de hidróxido de sodio. Se pesan 250 g de hidróxido de sodio (NaOH) en lentejas. Se disuelven en 97 ml de agua destilada desionizada.

4.5. Solución de sal de la Rochela:

a) Se miden 100 ml de agua destilada en un vaso de precipitados de 250 ml. Se marca una línea al nivel de agua de 100 ml sobre el vaso.

b) Se pesan 50 g de tartrato doble de sodio y potasio ($KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$). Se disuelve el reactivo en los 100 ml de agua destilada contenidos en el vaso de precipitados de 250 ml.

c) Se eliminan las impurezas amoniacales de la sal de la Rochela, por la ebullición del agua hasta que el nivel del líquido alcance el aforo de 100 ml marcado sobre el vaso de 250 ml. Se enfría la solución a la temperatura ambiente y se transfiere a un frasco.

4.6. Reactivo de Nessler:

a) Se pesan, separadamente, 100 g de yoduro mercurico (HgI_2) y 70 g de yoduro de potasio (KI). Se pasan los reactivos pesados a un vaso de precipitados de 400 ml y se disuelven en 100 ml de agua destilada desionizada.

b) Se pesan 160 g de hidróxido de sodio (NaOH) en lentejas. Se pasan a un vaso de precipitados de un litro y se disuelven en 500 ml de agua destilada desionizada.

c) Mientras se agita con una mano, se agrega lentamente la Solución (a) en la Solución (b).

d) Se vierte la Solución (c) a un matraz aforado de un litro, o a una probeta graduada de la misma capacidad y se diluye hasta el aforo con agua destilada desionizada. Se mezcla perfectamente. Se conserva en frascos refractarios tapados herméticamente.

Este tóxico se maneja con precaución y se debe evitar que tenga contacto con la boca. La solución se dosifica con una pipeta automática o de seguridad.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de los patrones de color:

a) Se prepara la siguiente serie de patrones de color, midiendo los volúmenes indicados de la solución de cloroplatinato de potasio y de cloruro cobaltoso en tubos separados de Nessler de 50 ml:

Solución de cloroplatinato de potasio, ml	Solución de cloruro cobaltoso, ml	Nitrógeno amoniacal equivalente mg
1.2	0	0
2.8	0	0.002
4.7	0.1	0.004
5.9	0.2	0.007
7.7	0.5	0.010
9.9	1.1	0.014
11.4	1.7	0.017
12.7	2.2	0.020
15.0	3.3	0.025
17.3	4.5	0.030
19.0	5.7	0.035
19.7	7.1	0.040
19.9	8.7	0.045
20.0	10.4	0.050
20.0	15.0	0.060

Se selecciona y se prepara cualquier número menor de patrones de esta serie, si la variación del nitrógeno amoniacal cae dentro de un ámbito más reducido.

b) Se agrega agua destilada a cada tubo, para completar el volumen al aforo de 50 ml; se mezclan.

c) Los patrones se protegen cubriéndolos con tapones limpios de caucho, si se tienen que usar por un período de varios meses.

5.2. Coagulación y filtración de la muestra:

a) Con una probeta graduada, se miden 100 ml de la muestra en un vaso de precipitados de 250 ml.

b) Con una pipeta graduada se agrega 1 ml de la solución de sulfato de cinc. Se mezcla perfectamente.

c) Con una pipeta graduada, se agregan 0.5 ml de la solución de hidróxido de sodio. Se mezcla perfectamente.

d) Se permite que los flóculos blancos resultantes se sedimenten por 5 minutos.

e) Se prepara un filtro con un papel de filtración rápida.

f) Se vierte un volumen estimado de 25 ml del líquido claro al través del filtro. Se recibe el líquido filtrado en un vaso de precipitados y se desecha.

g) Se pasa el líquido claro sobrante a través del mismo filtro, pero se recibe y se conserva, en un tubo de Nessler de 50 ml, o en un vaso de precipitados limpio de 100 ml.

5.3. Desarrollo del color en la muestra:

a) Se mide el volumen adecuado del líquido filtrado, de acuerdo con la variación de nitrógeno amoniacal que se indica:

Volumen de muestra, ml	Ámbito de nitrógeno amoniacal, mg/l
50	0.1—1.0
25	1.1—2.0
10	2.1—5.0

Se vierte el líquido filtrado en un tubo de Nessler de 50 ml. Si es necesario, se diluye hasta el aforo de 50 ml con agua destilada desionizada.

b) Con una pipeta-gotero se agregan 2 gotas de solución de sal de la Rochela. Se tapa el tubo de Nessler con un tapón de caucho y se mezcla el contenido, invirtiendo el tubo de cuatro a seis veces.

c) Con una pipeta automática o de seguridad se agrega 1 ml del reactivo de Nessler.

d) Se vuelve a cubrir el tubo con el tapón de caucho y se mezcla el contenido, invirtiendo el tubo seis veces.

e) Se permite que el color amarillo o café se desarrolle por 10 minutos.

f) Se compara la muestra con los patrones permanentes y se estima, por el color, la cantidad de nitrógeno amoniacal, en mg. que contiene la muestra.

g) Se calcula el nitrógeno amoniacal, en términos de mg/l, multiplicando el resultado observado en el paso (f) por el factor correspondiente:

Volumen de la muestra, ml	Se multiplican los mg de nitrógeno amoniacal por
50	20
25	40
10	100

Calcio

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

El calcio y el magnesio son los principales componentes de la dureza de las aguas. En la forma de cal viva, o de hidróxido de calcio, el calcio se puede usar para ablandar una agua, o para dominar la corrosión, por medio del ajuste del valor del pH.

Este método se ha formulado para la determinación rutinaria del calcio en el agua potable de los abastecimientos.*

2. ADVERTENCIA

El agua se debe encontrar exenta de color o de turbiedad que puedan enmascarar o afectar la respuesta del indicador.

Por fortuna, las sustancias que causan errores en esta titulación raras veces se encuentran presentes en las aguas potables de los abastecimientos. Si se encuentran presentes en cantidades suficientes, los elementos bario, estroncio, cobre, aluminio, plomo, estaño, cinc, manganeso y hierro se pueden afectar los resultados. Se debe consultar la última edición de los *Métodos Estándar* para conocer las concentraciones de aquellas sustancias que se pueden tolerar en una muestra.

En exceso de 300 mg/l, como carbonato de calcio (CaCO_3), la alcalinidad puede producir, con algunas aguas duras, cierta vaguedad en el cambio de color.

La titulación se debe verificar en una muestra que se encuentre a la temperatura ambiente y se debe termi-

nar dentro de los 5 minutos siguientes a su iniciación, para evitar las dificultades provenientes de la precipitación de carbonato de calcio.

La mezcla indicadora sólida se encuentra expuesta a degradación y se debe conservar en un frasco cerrado herméticamente.

3. APARATOS

3.1. Bureta de 25 ml, con soporte.

3.2. Una probeta graduada de 50 ml, o pipetas apropiadas para la medición de la muestra.

3.3. Dos, o más, cacerolas de porcelana, de 250 ml.

3.4. Dos, o más, agitadores.

3.5. Una pipeta volumétrica de 1 ml, para dosificar la solución de hidróxido de sodio.

3.6. Una cucharilla de medición, de 0.2-0.3 ml de capacidad, para dosificar la mezcla seca del indicador.

4. REACTIVOS

Se pueden adquirir comercialmente, en casas de reputación, las siguientes soluciones preparadas y mezclas sólidas:

4.1. Solución de hidróxido de sodio, 1N. Se pesan 4 g de NaOH. Se disuelven en 100 ml de agua destilada.

Se debe tener cuidado de no succionar esta solución hasta la boca, porque ataca a las mucosas interiores de la misma.

4.2. Mezcla sólida indicadora. Tanto la mezcla de murexida como de Calcon, son satisfactorias. El murexida se ha usado por mayor tiempo, pero muchos analistas consideran que son más fáciles de observar, durante la titulación, los cambios de color del Calcon. El murexida cambia del rojo a través de varios tonos de púrpura, hasta un púrpura orquídea; el Calcon cambia del rojo, a través del púrpura, hasta un azul definido, sin tintes rojizos. Cualquiera de ellos se prepara como sigue:

a) Se pesan separadamente 100 g de cloruro de sodio (NaCl) ; y bien sea 0.2 g. de murexida (también de-

*Se han expedido, a favor de G. Schwarzenbach, dos patentes de los E. U. de A. (Núm. 2,583,890 y 2,583,891), que amparan sus descubrimientos relacionados con la titulación y métodos complexométricos para la determinación cuantitativa de la dureza de las aguas. Nada de lo que se indica en este manual se puede considerar que concede cualquier derecho, implícito o en otra forma, para la manufactura, venta o uso, en conexión con cualquier método, aparato o producto que se ampara por la patente, ni constituye para nadie una seguridad contra la responsabilidad resultante de la violación de la patente.

nominado purpurato de amonio), o 0.2 g de Calcon (llamado también *Eriocromo Azul-Negro R*).

b) Se vierten el cloruro de sodio y el indicador en un mortero y se trituran juntos con el pistilo hasta que la anilina roja se distribuye uniformemente en toda la sal blanca. Se conserva en frascos cerrados herméticamente.

4.3 Solución valorada de EDTA. Se prepara como se indica para Dureza, sec. 4.4.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Se llena la bureta con la solución valorada de EDTA. Se registra el nivel del líquido en la bureta, leyendo en el fondo del menisco. Se debe cuidar que no existan fugas en el grifo, lo que daría por resultado la pérdida de la solución tituladora.

5.2 Se miden los volúmenes adecuados de muestra, para el ámbito indicado de calcio:

Volumen de muestra, ml	Contenido de calcio, mg/l como CaCO ₃
50	0- 200
25	201- 400
10	401-1,000

Si sólo se necesita una muestra de 25 ml, se agregan 25 ml de agua destilada para completar un volumen de 50 ml; con un volumen de muestra de 10 ml, se agregan 40 ml de agua destilada. La cantidad adicional de agua destilada se mide en una probeta graduada. Se vierte la muestra (y el agua destilada adicional, si es necesaria) en una cacerola de porcelana. (Si se usa el indicador de murexida se continúa con el paso 5.3; si se usa el indicador de Calcon se continúa con el paso 5.4).

5.3. Si se usa el indicador de murexida, se procede en la forma siguiente:

a) Se prepara un testigo de comparación de color, vertiendo 50 ml de agua destilada (medida con una probeta graduada) en una cacerola similar, de porcelana.

b) Con una pipeta de Mohr se agregan 2 ml de la solución de hidróxido de sodio, tanto al testigo de comparación de color como a la muestra; se mezcla. El pH resultante de 12-13 precipita el magnesio en forma de hidróxido, eliminando así su interferencia).

c) Con una cucharilla de medición se agrega una medida (0.2 g) de la mezcla indicadora sólida, tanto al testigo de comparación de color como a la muestra; se mezclan hasta disolver el indicador.

d) Al testigo de comparación de color se agregan, con todo cuidado, 1 ó 2 gotas de la solución EDTA. Se agita el agua destilada, que contiene el hidróxido de so-

dio y la mezcla indicadora de murexida, hasta que el color rojo vire a un color púrpura orquídea firme. Se registra el nuevo nivel de la bureta, leyendo en el fondo del menisco.

e) Si la muestra cambia al color rojo, se agrega gradualmente la solución de EDTA de la bureta, con agitación constante. Se continúa la adición de EDTA hasta que el color cambie a un débil color púrpura. En este punto se detiene la adición de EDTA por 10 segundos, aunque se continúa con la agitación. Se reanuda la adición del EDTA, gota a gota, hasta que el débil color púrpura cambie al mismo color púrpura orquídea intenso que ostenta el testigo de comparación de color. Como antes, se agita el contenido de la cacerola de porcelana durante esta nueva adición. El cambio de color del púrpura débil al púrpura orquídea se presenta, por lo general, agregadas unas 6 gotas.

f) Se registra el nuevo nivel de la bureta, leyendo en el fondo del menisco.

g) Se calcula el volumen bruto de la solución de EDTA consumida, deduciendo la lectura del paso 5.3 (d) de la última lectura del paso 5.3 (f).

h) Se calcula la corrección por el testigo, deduciendo la lectura de la bureta en el paso 5.1 de la lectura de la bureta en el paso 5.3(d)

i) Se calcula el volumen neto de solución EDTA consumida por la muestra, deduciendo el resultado del paso 5.3(h) del resultado obtenido en el paso 5.3(g). (Se continúa con el paso 5.5).

5.4. Si se usa el indicador Calcon, se procede como sigue:

a) Con una pipeta volumétrica se agregan a la muestra 2 ml de la solución de hidróxido de sodio.

b) Con una cucharilla de medición se agrega 1 medida (0.2 g) de la mezcla sólida indicadora; se agita hasta disolverla.

c) Si la muestra cambia al rojo, se agrega con la bureta la solución de EDTA, gota a gota, con agitación constante, hasta que el color pase a través del púrpura hasta un azul definido, en el cambio final.

d) Se registra el nuevo nivel de la bureta, leyendo el fondo del menisco. Se deduce la lectura inicial de la bureta (paso 5.1).

5.5. Se calcula el calcio, en términos de mg/l como CaCO₃, multiplicando los resultados encontrados en los pasos 5.3(i) o 5.4(d) por el factor correspondiente como sigue:

Volumen de muestra, ml	Se multiplica el consumo, en ml, de la solución de EDTA por
50	20
25	40
10	100

5.6. Si se tiene dificultad en apreciar el cambio de color cuando se agrega una gota de la solución tituladora, se agregan dos gotas de la misma, cerca del cambio final. Con

esto se intensifica el cambio de color, no siendo de significación la ligera pérdida en precisión. Una buena iluminación ayuda a la percepción de los cambios de color.

Prueba de estabilidad al carbonato de calcio

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Esta prueba tiene dos aplicaciones generales. Es muy valiosa en la comprobación de la estabilidad de una agua ablandada por el procedimiento de cal soda. También determina la alcalinidad total necesaria para el agua, con el propósito de prevenir la corrosión, mediante la deposición de un revestimiento protector de carbonato de calcio en las tuberías.

2. ADVERTENCIA

La muestra se debe recolectar evitando, hasta donde sea posible, la aeración y las salpicaduras, para que no haya pérdida del bióxido de carbono disuelto. Por la misma razón, el frasco debe taparse en tal forma que se impida que las burbujas de aire queden aprisionadas cerca del tapón.

3. APARATOS

- 3.1. Un frasco para DBO, con tapón de cristal, de 300 ml de capacidad.
- 3.2. Una pipeta de 100 ml.
- 3.3. Un embudo de filtración.
- 3.4. Papel filtro. Es satisfactorio el Whatman N° 50.
- 3.5. Aparatos para la determinación de la alcalinidad total (véase Alcalinidad, sec. 3).

4. REACTIVOS

- 4.1. Carbonato de calcio (CaCO_3), polvo precipitado, calidad analítico.
- 4.2. Los reactivos para la determinación de la alcalinidad total, (véase Alcalinidad, sec. 4).

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. Se determina la alcalinidad total de la muestra de agua, como se describe en Alcalinidad, sec. 5.
- 5.2. Se toma otra muestra llenando, sin salpicaduras ni agitación un frasco de 300 ml para DBO, con tapón de cristal, (véase Bióxido de Carbono, sec. 5).

5.3. Se agrega al frasco, aproximadamente, 0.3 a 0.4 g de carbonato de calcio pulverizado.

5.4. Con todo cuidado se vuelve a colocar el tapón para que no queden burbujas de aire en la parte superior.

5.5. Se mezcla el polvo y el agua por agitación del frasco a intervalos frecuentes (cada 10 ó 15 minutos), por no menos de 3 horas.

5.6. Se permite que la muestra se sedimente durante la noche. Durante la primera parte de la sedimentación se golpea suavemente el frasco y se hace girar el tapón para que el polvo que se adhiera a las paredes y al tapón se pueda aflojar y, en consecuencia, se pueda sedimentar en el fondo del frasco.

5.7. Con una pipeta de 100 ml se extraen, cuidadosamente, dos porciones del líquido sobrenadante (la capa clara que se presenta arriba del material sedimentado). Si se desea, se decanta cuidadosamente el líquido sobrenadante.

5.8. El líquido sobrenadante extraído se filtra al través de papel filtro. Se descartan los primeros 25 ml y se aprovecha el resto.

5.9. Se determina la alcalinidad total del filtrado (véase Alcalinidad, sec. 5). Se comprueba que el carbonato de calcio pulverizado se ha eliminado completamente del filtrado para evitar errores en la alcalinidad total.

6. APLICACION PRACTICA DE LA PRUEBA

6.1. El agua se encuentra subsaturada con respecto al carbonato de calcio, y puede ser corrosiva, si el segundo resultado de la alcalinidad total (paso 5.9) es mayor que el primer resultado de la alcalinidad total (paso 5.1).

6.2. El agua se encuentra sobresaturada con carbonato de calcio y puede depositar una película protectora o revestir las tuberías si el primer resultado de la alcalinidad total (paso 5.1) excede al segundo resultado de la alcalinidad total (paso 5.9).

6.3. El agua es estable y se encuentra en equilibrio con el carbonato de calcio si el primero (paso 5.1) y el segundo (paso 5.9) resultados de la alcalinidad total

son similares. Tal agua no sería corrosiva si la película o revestimiento de carbonato de calcio ya se hubiese formado en las tuberías.

6.4. Se pueden lograr cambios en la alcalinidad total de la muestra con las siguientes cantidades de reactivos:

a) Cada dosis de 1 mg/l de cal pura (CaO), o de 1.1 mg/l de cal viva comercial al 90 por ciento incrementa la alcalinidad total en 1.79 mg/l o reduce el bióxido de carbono en 1.57 mg/l.

b) Cada dosis de 1 mg/l de cal hidratada pura, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, o cada dosis de 1.41 mg/l de cal hidratada comercial, al 93 por ciento, aumenta la alcalinidad total en 1.35 mg/l o reduce el bióxido de carbono en 1.19 mg/l.

c) Cada dosis de 1 mg/l de carbonato de sodio puro (Na_2CO_3), o cada dosis de 1.02 mg/l de carbonato de

sodio comercial (ceniza de soda) incrementa la alcalinidad total en 0.944 mg/l o reduce el bióxido de carbono en 0.415 mg/l.

Estas cantidades no estabilizarán, necesariamente, todas las aguas porque la estabilidad se encuentra interrelacionada, además, con otros factores importantes. Para una discusión más amplia de esta prueba y de sus diversas aplicaciones, véase la bibliografía que se presenta en el capítulo Saturación y Estabilidad con Respecto al Carbonato de Calcio, en la última edición de los *Métodos Estándar*.

6.5. La incrustación de tuberías y equipos por el agua que se encuentra sobresaturada con carbonato de calcio, se puede reducir por el uso de sales de fosfatos o por la estabilización del agua ablandada por recarbonatación, adición de alumbre o contacto con calizas.

Bióxido de Carbono Libre

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Las propiedades corrosivas del bióxido de carbono gaseoso, disuelto en el agua, hace recomendable su eliminación. Esto se puede lograr bien sea por eliminación física, por medio de la aeración, o por medio de su conversión química a los estados menos agresivos de bicarbonato o carbonato, con la adición de compuestos alcalinos.

También es importante el conocimiento del contenido de bióxido de carbono en los procesos de ablandamiento. En primer lugar, el bióxido de carbono consume, durante su neutralización, cantidades adicionales de cal y carbonato de sodio. En segundo lugar, se puede aplicar bióxido de carbono al agua ablandada, justamente antes de la filtración, para disolver cualquier precipitado de carbonato de calcio, no sedimentado, que de otro modo se pudiera depositar posteriormente en la arena de filtración o en los conductos de distribución. Como regla general, las aguas de pozo contienen disuelta una mayor cantidad de bióxido de carbono gaseoso que las aguas de ríos. En el caso de la mayoría de los abastecimientos de agua potable, el bióxido de carbono representa el factor importante de acidez por lo que, sustancialmente, la titulación del bióxido de carbono es igual a la titulación de la acidez.

2. ADVERTENCIA

La muestra se debe recolectar evitando, en todo lo posible, el chapoteo y la aeración, para prevenir la pérdida de bióxido de carbono disuelto. Para obtener me-

jores resultados, la determinación debe verificarse inmediatamente después de la recolección de la muestra. Cuando la concentración del bióxido de carbono exceda de 10 mg/l, se debe repetir la titulación en una muestra reciente para comprobar la validez de la primera determinación. Si, por alguna razón, debe demorarse la determinación, la muestra debe recolectarse en un matraz de 500 ml y taparse en tal forma que se evite el aprisionamiento del aire cerca del tapón.

3. APARATOS

3.1. Una cantidad suficiente de tapones de hule, con un orificio para que se inserten en el grifo de agua.

3.2. Tubo de cobre, de acero inoxidable o de otro metal no corrosivo, de diámetro apropiado para su inserción en el tapón de hule.

3.3. Tubo de caucho o de plástico, para conectarlo al tubo metálico.

3.4. Dos, o más, probetas graduadas, o tubos de Nessler, de 100 ml.

3.5. Una pipeta-gotero o un gotero medicinal, de 0.5 a 1.0 ml de capacidad, para aplicar la solución indicadora de fenolftaleína.

3.6. Un agitador largo.

4. REACTIVOS

4.1. Agua destilada hervida. Como la mayor parte de las aguas destiladas contienen algo de bióxido de carbono, se vierte agua destilada ordinaria en un matraz

o frasco grande, sin tapón, de cristal refractario y se hierve por 15 minutos, cuando menos, para expulsar el bióxido de carbono. A continuación, se cubre la boca y el cuello del recipiente con un vaso de precipitados invertido, de mayor diámetro y se enfría el agua a la temperatura ambiente en un baño de agua corriente fría. El agua destilada se prepara inmediatamente antes de que se necesite para la preparación de la solución valorada de carbonato de sodio (4.3).

4.2. Solución indicadora de fenoltaleína. Se prepara en la forma que se indica para Alcalinidad, sec. 4.2.

4.3. Solución de carbonato de sodio, 0.0454 N:

a) En una balanza analítica se pesan, cuidadosamente, 2.407 g de carbonato de sodio seco (Na_2CO_3), de la calidad de patrón primario.

b) Se pasa, con todo cuidado, a un vaso de precipitados de 250 ml y se disuelve en 150 ml de agua destilada hervida.

c) Se vierte cuidadosamente la solución a un matraz aforado de 1,000 ml y se enjuaga el vaso de precipitados con tres porciones de 100 ml de agua destilada hervida.

d) Se diluye posteriormente hasta el aforo de 1,000 ml con agua destilada hervida. Se tapa y se mezcla perfectamente.

Nota: Cuando se almacene esta solución tituladora, debe taponarse herméticamente el recipiente que la contiene, para evitar el acceso del bióxido de carbono atmosférico. Se ha de usar un tapón de caucho, para evitar la cristalización que se presenta con los tapones de cristal.

5. PROCEDIMIENTO

5.1 Se construye una línea especial de muestreo (véase figura 5) para recolectar las aguas que contengan gases disueltos:

a) Se escoge un tapón de caucho, de un orificio, que ajuste firmemente en el interior del grifo de agua, del cual se vaya a extraer la muestra.

b) Se corta un tramo de tubo de metal a una longitud igual a la de cuatro veces la del tapón de caucho.

c) Se remoja la superficie exterior del extremo de entrada del tubo de metal con una película lubricante de glicerina y, con cuidado, se introduce el tubo de metal en el orificio del tapón de caucho. Se empuja el tubo dentro del orificio hasta que el extremo del tubo quede al ras con la superficie del tapón.

d) Se toma un tubo de caucho (o de plástico) de un diámetro adecuado y se fija un tramo, de suficiente longitud, al extremo sobresaliente del tubo de metal. Si es necesario, de nuevo se remoja la superficie del tubo de metal con una película lubricante de glicerina para facilitar la penetración del tubo de caucho.

e) Se limpia íntegramente el tapón de caucho, el tu-

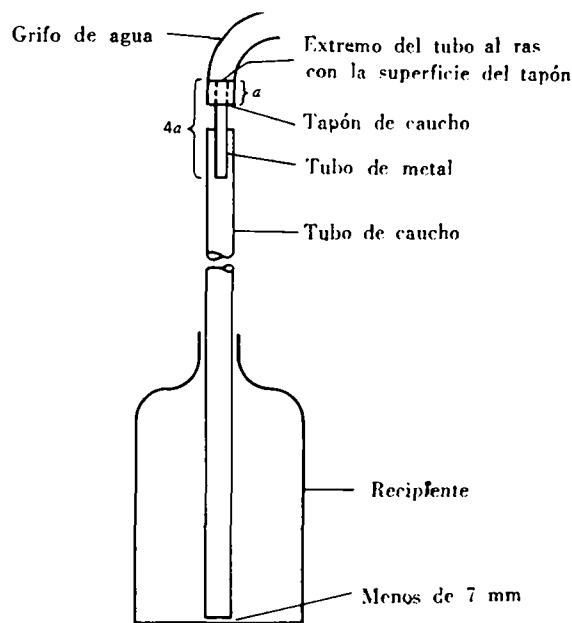


FIG. 5. APARATO PARA RECOLECTAR MUESTRAS CON GASES DISUELTOS

bo de metal y el tubo de caucho, enjuagándolo con el agua que se va a muestrear para eliminar las huellas de glicerina.

5.2. Recolección de la muestra. Se usa el siguiente procedimiento para la recolección de todas las muestras necesarias para las sec. 5.3 y 5.4:

a) Se inserta el tapón de caucho en el grifo de agua. Se comprueba que toda la línea de muestreo es hermética al aire y que nada de oxígeno atmosférico puede llegar a quedar en contacto con el agua que escurre.

b) Se lava, por purga, el interior de los tubos de metal y de caucho, dejando correr la misma agua que se va a muestrear.

c) Se inserta el extremo libre del tubo de caucho hasta que llegue a menos de 7 mm del fondo interior del recipiente (un frasco, una probeta graduada o un tubo de Nessler, según sea necesario).

d) Se permite que la muestra de agua derrame del recipiente en un volumen varias veces mayor al de la capacidad del recipiente. Por lo general, es suficiente un período de derrame de dos a tres minutos.

e) Se extrae suavemente el tubo de caucho del recipiente, mientras que el agua continúa derramando.

5.3. Titulación de la muestra:

a) Se toma una muestra, en la forma que se indica en la sec. 5.2, usando una probeta graduada de 100 ml o un tubo de Nessler como recipiente. Se sacude suavemente la probeta o el tubo de Nessler para expulsar el exceso de muestra que queda arriba del aforo de 100 ml.

b) Se sitúa a un lado esta muestra como testigo para la comparación del color en la siguiente titulación.

c) Se llena la bureta con la solución tituladora de carbonato de sodio. Se anota el nivel del líquido en la bureta, haciendo la lectura en el fondo del menisco.

d) Se toma una segunda muestra como se describió en las sec. 5.2 y 5.3(a).

e) Se agregan a la segunda muestra 10 gotas de la solución indicadora de fenoltaleína. Si la muestra cambia al rosa, no hay presente bióxido de carbono.

f) Si la muestra se mantiene incolora, se agrega la solución tituladora de carbonato de sodio a la probeta o tubo de Nessler. Se agita suavemente con un agitador largo de cristal hasta que persista por 30 segundos un color rosa definido. Se observa hacia abajo, siguiendo el eje de la probeta o del tubo de Nessler, para apreciar el cambio de color. Se usa la primera muestra, sin solución indicadora de fenoltaleína, como un testigo para la comparación del color.

g) Se lee el nuevo nivel en la bureta, en el fondo del menisco y se calcula el volumen consumido de la solución de carbonato de sodio, deduciendo de esta lectura la lectura inicial de la bureta de la sec. 5.3(c).

h) Se toma una tercera muestra en la forma que se describe en las sec. 5.2 y 5.3(a). Se agrega inmediatamente la cantidad íntegra de la solución tituladora de

carbonato de sodio que se consumió según la sec. 5.3(g). A continuación, se agregan 10 gotas de la solución indicadora de fenoltaleína y se mezcla con el agitador largo. Si la muestra se mantiene incolora, se continúa la adición de carbonato de sodio, hasta que se obtenga un color rosa definido que persista por 30 segundos. Se acepta este nuevo resultado como la titulación cuyo valor es digno de confianza.

i) Se calcula la concentración del bióxido de carbono libre multiplicando el número de mililitros de solución de carbonato de sodio, que se consumieron, por 10.

5.4. Manejo de la muestra cuyo análisis se tiene que demorar. Cuando la muestra se tenga que transportar al laboratorio para su análisis, se recoge en la forma descrita en la sec. 5.2, empleando un frasco de tapón de cristal esmerilado, de 500 ml. Se llena completamente el frasco y se coloca el tapón en tal forma que no queden burbujas de aire cerca del cuello. Para reducir más el escape del bióxido de carbono del agua, se conserva el frasco a una temperatura inferior a la del agua recolectada. Se verifica el análisis tan pronto como sea posible después de la recolección, tal como se indica en la sec. 5.3 La muestra de 100 ml se obtiene sifoneando el agua del frasco de 500 ml, en una probeta graduada o tubo de Nessler, dejando que derrame y retirando cuidadosamente el tubo de caucho.

Cloruro

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

El cloruro es un constituyente común de las aguas. En la forma de cloruro de sodio se usa para regenerar los ablandadores de permutación catiónica agotados. Por la adición del cloro como desinfectante, se puede obtener un pequeño aumento en la concentración de cloruros.

Esta prueba se ha formulado para la determinación rutinaria de cloruros en muestras de agua potable.

2. ADVERTENCIA

El agua se debe encontrar libre de color o de turbiedad, que puedan enmascarar y afectar la respuesta del indicador. Antes de iniciar la titulación, la muestra de agua debe ser neutra o ligeramente alcalina. Si el agua es alcalina o ácida, más allá del ámbito de valores del pH de 6.5 a 10.5; o bien, si contiene bromuro, yoduro, sulfuro, sulfito, tiosulfato, ortofosfato, o altas concentraciones de hierro, se debe consultar la última edición de los *Métodos Estándar* sobre las formas para hacer frente a estas situaciones.

3. APARATOS

3.1. Una bureta de 25 ml, con soporte.

3.2. Una probeta graduada de 100 ml, o pipetas volumétricas apropiadas, para medir la muestra.

3.3. Un gotero medicinal o una pipeta graduada de 1 ml, para dosificar la solución indicadora.

3.4. Dos, o más, cacerolas de porcelana, de 250 ml.

3.5. Dos, o más, agitadores de varilla de cristal.

4. REACTIVOS

4.1. Solución de nitrato de plata, 0.014 N:

a) En una balanza analítica se pesan 2.396 g de nitrato de plata en estado seco (AgNO_3), de la calidad de reactivo analítico.

b) Se transfiere cuidadosamente el reactivo a un vaso de precipitados de 250 ml y se disuelve en 100 ml de agua destilada.

c) Se pasa la solución a un matraz aforado de 1,000 ml, se lava por tres veces el vaso de precipitados con porciones de 100 ml de agua destilada, que se vierten

al matraz. Se diluye hasta el aforo de 1,000 ml con agua destilada.

d) Se tapa, se mezcla completamente y se conserva esta solución en un frasco ámbar, en una gaveta oscura, para protegerla de los efectos destructivos de la luz.

4.2. Solución indicadora de cromato de potasio:

a) Se pesan 50 g de cromato de potasio (K_2CrO_4). Se pasan a un vaso de precipitados de 500 ml y se disuelven en 250 ml de agua destilada.

b) Se agrega la solución de nitrato de plata (4.1) hasta que se forme un precipitado de color rojo definido. Se cubre el vaso con un vidrio de reloj y se deja sedimentar el precipitado durante la noche.

c) Por decantación o por el paso al través de un papel filtro, se separa la solución del precipitado sedimentado.

d) La solución clara se diluye en un litro en una probeta graduada de 1,000 ml y se mezcla completamente.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Se llena la bureta con la solución de nitrato de plata. Se registra el nivel del líquido en la bureta, por lectura en el fondo del menisco. Se debe cuidar que no existan fugas en el grifo, lo que daría por resultado la pérdida de la solución contenida.

5.2. Se mide el volumen apropiado de muestra, para el ámbito posible de cloruro:

Volumen de muestra, ml	Ambito de cloruro, mg/l
100	1—50
50	51—100
25	101—200
10	201—500

Si sólo se requieren 50 ml, se agregan 50 ml de agua destilada, para obtener un volumen total de 100 ml; con 25 ml de muestra, se agregan 75 ml de agua destilada; con una muestra de 10 ml, se agregan 90 ml de agua destilada. La cantidad agregada de agua destilada se mide con una probeta graduada. Se vierte la muestra (y el agua destilada, si es necesaria) en una cacerola de porcelana.

5.3. Se prepara un testigo de comparación de color, vertiendo 100 ml de agua destilada (medida con una probeta graduada de 100 ml) en una cacerola similar, de porcelana.

5.4. Con una pipeta graduada o con un gotero medicinal se agrega 1 ml de la solución indicadora de cromato de potasio, tanto al testigo de comparación de color como a la muestra; se mezclan bien.

5.5. Al testigo de comparación de color se agregan de la bureta cuidadosamente, 0.30 ml de solución de nitrato de plata. Con un agitador de cristal se mezcla el color rojo-naranja resultante en la solución. Se registra el nuevo nivel de la bureta, por lectura en el fondo del menisco.

5.6. Si la muestra cambia al color amarillo en el paso 5.4, se agrega gradualmente la solución de nitrato de plata de la bureta. Se agita constantemente la muestra. Se continúa la adición de la solución hasta que la muestra cambie al mismo color rojo-naranja del testigo de comparación de color. Si se tiene dificultad en reconocer el cambio, cuando se agrega 1 gota en cada ocasión, se agregan dos gotas de la solución cerca del vire final. Con esto se intensifica el cambio de color y no es de significación la ligera pérdida en exactitud.

5.7. Se registra el nuevo nivel de la bureta, por lectura en el fondo del menisco.

5.8. Se calcula el volumen bruto de solución que se consumió, para lo cual se deduce la lectura de la bureta en el paso 5.5 de la lectura de la bureta en el paso 5.7.

5.9. Se calcula el volumen neto de solución consumido, únicamente, por la muestra, deduciendo 0.3 del resultado obtenido en el paso 5.8.

5.10. Se calcula el contenido de cloruros, en mg/l, multiplicando el resultado obtenido en el paso 5.9 por el factor correspondiente que se indica a continuación:

Volumen de muestra, ml	Multiplíquense ml de solución de nitrato de plata por
100	5
50	10
25	20
10	50

Cloro (Residual)—General

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

El cloro no es sólo un importante desinfectante sino que también satisface otras necesidades en plantas potabilizadoras de agua. Puede reaccionar con amoníaco, hierro, manganeso, sustancias proteicas, sulfuro y algunas sustancias productoras de olores y sabores, mejorando las características del agua potabilizada. Puede reducir también las proliferaciones biológicas y prolongar las carreras de filtración cuando se practica la cloración antes de la filtración.

Con los procesos de cloración se obtienen dos tipos de cloro residual en el agua, esto es, libre y combinado. El cloro residual libre, que se presenta cuando el agua es clorada íntegramente, puede existir en tres formas: cloro molecular (Cl_2) en rangos de pH de 1 a 4; en ácido hipocloroso (HOCl) también se presenta en rangos de pH de 1 a 9 siendo predominante en el rango de 2 a 7; en pH 7.4 coexisten iguales proporciones de ácido hipocloroso e ión hipoclorito (OCl^-), el hipoclorito gana completa ascendencia sobre 9.5.

El cloro residual combinado se presenta como: monocloramina (NH_2Cl), dicloramina (NHCl_2) y tricloramina (también conocida como tricloruro de nitrógeno) (NCl_3) y actúa como agente oxidante menos activo y su acción bactericida es más lenta que la del cloro libre. El cloro residual combinado se forma cuando el proceso de cloración ocurre en presencia de compuestos de amonio, bien sea que se encuentren presentes en forma natural o que se agreguen artificialmente para tal propósito.

Se incluyen dos modificaciones a ensayos para control en planta de agua potable clara e incolora que se cloran en forma predominante ya sea a un residual de cloro libre dis-

ponible o residual de cloro combinado disponible. La palabra PREDOMINANTE significa que los tres cuartos o más del residuo está en forma de cloro libre disponible o cloro combinado disponible. La determinación de cloro residual puede ser realizada de acuerdo a preferencias personales, por titulación como en el Método A o colorimétricamente como en el Método B.

2. ADVERTENCIA

El bióxido de cloro reacciona como cloro libre disponible, que representa la quinta parte de su contenido de cloro disponible total.

Si el manganeso está presente en su estado oxidado, en forma natural o es añadido en el curso del tratamiento de agua, como permanganato de potasio, éste reacciona con el reactivo N-N-dietil-p-fenilenodiamina (DPD) produciendo un color rosado o rojo, idéntico al producido por el cloro. En tal caso se debe aplicar una corrección para esta interferencia.

En la reacción, el rango de pH debe ser mantenido entre 6.2 y 6.5 para obtener resultados exactos. Con el pH demasiado bajo el ensayo puede enmascarar cloraminas como cloro libre. El pH muy elevado puede originar reacción con oxígeno disuelto y producir un false color rosado.

En todos los métodos para diferenciar cloro libre de cloraminas, las altas temperaturas facilitan la reacción de cloraminas con los reactivos formadores de color, por lo que tienden a incrementar, aparentemente, el cloro libre después de un intervalo fijo de tiempo.

Cloro (Residual) A—Método Titulométrico

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Ver Cloro (Residual) General.

2. PRECAUCIONES

Ver Cloro (Residual) General.

3. APARATOS

3.1. Una bureta de 10 ml con soporte.

3.2. Un cilindro graduado de 100 ml o pipetas volumétricas apropiadas para medir la muestra.

3.3. Uno o dos frascos de 250 ml.

3.4. Dos pipetas automáticas, de seguridad u operadas con sistema de bulbo, para dosificar el reactivo DPD y la solución amortiguadora de fosfato.

3.5. Una pequeña espátula para dosificar cristales de yoduro de potasio.

3.6. Una pipeta o un gotero de 0.5 ml para dosificar la solución de arsenito de sodio.

4. REACTIVOS

4.1. Agua destilada libre de cloro residual para la preparación de los reactivos 4.2., 4.3. y 4.4. Si fuese necesario se debe preparar agua destilada sin cloro, por la exposición

de botellas de borosilicato de vidrio con 4 l de agua destilada, sometiéndola a la acción de los rayos del sol, dentro o fuera de los edificios hasta que el cloro residual desaparezca por las radiaciones ultravioleta (comprobado con ensayos de DPD).

4.2. Solución diluida de ácido sulfúrico.

a) Usando un cilindro graduado de 50 ml, medir 30 ml de agua destilada libre de cloro y verterla en un matraz de 100 ml.

b) Medir 10 ml de ácido sulfúrico concentrado con un cilindro graduado.

c) Removiendo con una mano, muy lenta y cuidadosamente, añadir los 10 ml de ácido sulfúrico a los 30 ml de agua destilada. Al mezclar el ácido con el agua se genera un calor considerable. Debido a esto es necesario, para evitar salpicaduras peligrosas, verterlo muy lentamente y mezclarlo bien con mucho cuidado. Enfriar la solución a la temperatura del ambiente antes del ensayo.

4.3. Solución tituladora de sulfito amónico ferroso (SAF).

a) Medir 1,200 ml de agua destilada en un frasco pyrex de 2 l y hervirla por cinco minutos. Luego cubrir el tope del frasco con un vaso de 400 ml invirtiéndolo y enfriarlo hasta la temperatura del ambiente. Para facilitar el enfriamiento puede colocarse en un baño de agua fría.

b) Vaciar la mitad del agua hervida y enfriada en un frasco de 1,500 ml. Añadir la solución diluida de ácido sulfúrico (4.2.) y mezclar.

c) Pesar en una balanza analítica 1.106 g de sulfato amónico ferroso, $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ de grado analítico. Transferirlo cuidadosamente al vaso de 1,500 ml y disolverlo en el agua hervida y enfriada preparada como se indica en el paso (b).

d) Transferir la solución a un frasco volumétrico de 1 l, enjuagando por tres veces con 100 ml de agua destilada. Diluirla hasta la marca, tapar el frasco y mezclarla completamente. Un ml de esta solución tituladora es equivalente a 1.0 mg/l de cloro para los fines de titulación.

e) Almacenar la solución tituladora en una botella de color ámbar con tapa de vidrio, preservándola de la luz. Desecharla después de un mes.

4.4. Reactivo N-N-dietil-p-fenilendiamina (DPD).

a) Colocar 600 ml de agua destilada libre de cloro en un vaso de 1,500 ml, añadir 6 ml de solución diluida de ácido sulfúrico (4.2.) y mezclar.

b) Pesar 0.2 g de sal disódica del ácido tetraacetato de etilenediamina dehidratado (también llamado sal disódica del ácido etilendiaminotetracético o EDTA), disolverlo y agregarlo en la solución (a).

c) Pesar cualquier de las dos sustancias químicas: 1 g de oxalato de N,N-dietil-p-fenilendiamina o 1.5 g de sulfato p-amino-N:N dietilnilina. Disolverla y mezclarla en la solución (b).

d) Transferir la solución combinada (c) a un cilindro graduado de 1 l y diluirla con agua destilada libre de cloro

hasta la marca de 1,000 ml. Retornar la solución al vaso y mezclarla bien mediante agitación.

e) Guardar la solución en una botella de vidrio oscuro y con tapa, preservándola de la luz. Descartar la solución cuando se haya descolorido.

Manejar el reactivo de oxalato con extremo cuidado y particularmente evitar acercarlo a la boca. Dosificar la solución con pipetas automáticas, de seguridad o propipetas.

4.5. Solución amortiguadora de fosfato.

a) Pesar, por separado, las siguientes sustancias químicas: (1) 24 g de fosfato hidrogenado disódico (llamado también fosfato dibásico de sodio) Na_2HPO_4 ; y (2) 46 g de fosfato dehidrogenado de potasio (también llamado fosfato monobásico de potasio) KH_2PO_4 .

b) Transferir las sustancias químicas a un vaso de 1,500 ml y disolverlas en 600 ml de agua destilada. Si fuera necesario, calentar la solución y agitarla para disolver las sustancias químicas completamente. Si se ha utilizado calor para disolverlas, enfriar la solución hasta la temperatura del ambiente.

c) Pesar 0.8 g de sal sódica del ácido tetraacetato de etilendiamina dehidratado (también llamado sal disódica del ácido etilendiamino-tetracético o EDTA) y disolverlos en 100 ml de agua destilada. Luego agregarlos a la solución (b) y mezclarlos.

d) Transferir la solución mezclada (c) a un cilindro graduado y diluirla con agua destilada hasta la marca de 1,000 ml. Mezclar cuidadosamente retornando la solución al vaso y agitándola.

e) Pesar 20 mg de cloruro de mercurio HgCl_2 y agregarlos a la solución (d) con el propósito de prevenir el crecimiento de moho y la interferencia de trazas de yodo en el reactivo durante el ensayo para determinar cloro.

4.6. Criterios de yoduro de potasio. K I.

4.7. Solución de arsenito de sodio para la estimación de la interferencia de manganeso: pesar 5.0 g de arsenito de sodio (llamado también metaarsenito) NaAsO_2 . Disolverlo en 1 l de agua destilada.

Manejar este veneno con precauciones extremas y evitar particularmente llevarlo a la boca. Dosificar la solución con pipetas automáticas, de seguridad o propipetas.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Llenar la bureta con solución de sulfato amónico ferroso (SAF). Registrar el nivel del líquido leyendo la indicación inferior del menisco. Cuidar algún tipo de pérdida de la solución tituladora por goteo.

5.2. Selección del volumen de la muestra. Medir el volumen apropiado de agua destilada para los rangos de cloro residual indicados a continuación:

Rango de cloro residual mg/l	Volumen original de la muestra ml	Volumen de agua destilada ml
0.0- 4.0	100	0
4.1- 8.0	50	50
8.1-16	25	75

a) Si el cloro residual está en el rango de 0.0 a 4.0 mg/l, tomar una muestra de 100 ml. Colocar 5 ml de solución amortiguadora de fosfato y 5 ml de reactivo DPD en un frasco de 250 ml y mezclar. Luego añadir 100 ml de muestra y mezclar.

b) Cuando el total de cloro disponible excede a 4.0 mg/l, tomar una alícuota de la muestra y diluirla con agua destilada hasta obtener un volumen de 100 ml. Para el análisis proceder de la siguiente manera: primeramente mezclar 5 ml de solución amortiguadora de fosfato y 5 ml de reactivo DPD con un volumen determinado de agua destilada necesario para completar la dilución de la muestra a 100 ml. Entonces agregar una alícuota de la muestra para obtener un volumen total de 110 ml.

5.3. Si la muestra se torna rosada o roja, agregar gradualmente reactivo SAF de la bureta sacudiendo el frasco continuamente hasta que desaparezca el color rosado.

5.4. Leer el nuevo nivel del líquido en la bureta, en la parte inferior del menisco y calcular el volumen de titulante utilizado por sustracción del valor de la presente lectura del leído inicialmente (paso 5.1.).

5.5. Calcular el cloro libre disponible multiplicando el

Volumen de la muestra original ml	Multiplicar los ml de titulante por
100	1
50	2
25	4

resultado encontrado en el paso 5.4. por el factor apropiado.

5.6. Añadir cristales de yoduro de potasio (peso total de 0.5 a 1.0 g) al frasco y mezclar para disolverlos. Dejar la solución en reposo por dos minutos para que las cloraminas puedan convertir el yoduro a yodo; esto se evidenciará por el retorno del color rosado a rojo.

5.7. Reiniciar la titulación con pequeños volúmenes de titulador SAF, hasta que el color rosado o rojo desaparezca otra vez.

5.8. Leer el nuevo nivel del líquido en la bureta en la parte inferior del menisco y registrar el volumen total de la solución titulante utilizada en ambas titulaciones de cloro libre (paso 5.4. si ha sido ejecutado) y el volumen gastado para la titulación de cloro total disponible (paso 5.7.), luego multiplicar este valor por el factor apropiado indicado en el paso 5.5.

5.9. Restar el valor obtenido en el paso 5.5. del obtenido en el paso 5.8. para obtener el cloro combinado disponible.

5.10. Estimación de la interferencia del manganeso.

a) Colocar 5 ml de solución amortiguadora de fosfato, un pequeño cristal de yoduro de potasio y 5 ml de solución de arsenito de sodio en un frasco de 250 ml y mezclar.

b) Agregar 100 ml de muestra y mezclar.

c) Añadir 5 ml de reactivo DPD y mezclar.

d) Si la solución se torna rosada o roja existe interferencia de manganeso. Titular con titulador SAF hasta que desaparezca el color rosado.

e) Leer el nuevo nivel del líquido en la bureta en la parte inferior del menisco y calcular el volumen de titulador usado, restando el valor de la lectura inicial de la presente lectura. Multiplicar el resultado por el factor apropiado dado en el paso 5.5. para obtener la interferencia del manganeso.

5.11. Restando la interferencia del manganeso de los resultados de los pasos 5.5. y 5.8. se obtienen respectivamente los valores verdaderos de cloro libre disponible y cloro total disponible.

5.12. Si se utiliza bióxido de cloro en la planta de tratamiento, ver la determinación de bióxido de cloro, método, Sección 5, para los cálculos y determinaciones correspondientes.

Cloro (Residual) B—Método Colorimétrico

1. PROPOSITO DEL ENSAYO

Ver Cloro (Residual) General.

2. ADVERTENCIA

Ver Cloro (Residual) General.

3. APARATOS

Todos los aparatos descritos en el Método A, Sección 3, para la Determinación de Cloro (Residual) excepto la bureta para titulación y los frascos. Además de éstos se requiere de:

3.1. Tubos Nessler de 100 ml de forma alargada o baja, y soporte.

3.2. Una bureta de 10 ml o pipetas apropiadas para

medición de la solución diluida de permanganato de potasio.

3.3. Tapones limpios de caucho (N° 3 o mayores) para los tubos Nessler.

3.4. Vasos de 250 ml.

3.5. Comparador con estándares permanentes de color con el rango apropiado de cloro desde 0.0 a 1.0 mg/l, 1.0 a 2.0 mg/l, rangos de cloro mayores. Estándares permanentes de cloro son disponibles comercialmente en forma de juegos de comparadores. Lo compacto y eficiente de estos equipos permite una rápida y adecuada estimación. Sin embargo, por prudencia todo nuevo comparador debe ser revisado para la corrección de los valores asignados a los colores individuales permanentes. Esta verificación puede ser realizada transfiriendo una porción de cada solución conocida de permanganato de potasio del tubo Nessler indicado en la Sección 5.1. (b) a la celda del comparador, la cual previamente ha sido llenada con agua, desarrollando colores rosado o rojo con los reactivos, pudiendo compararse el color resultante con los correspondientes valores de color permanente. Si el color desarrollado varía apreciablemente de los estándares permanentes, deberá repetirse el proceso varias veces para eliminar errores experimentales. Sólo entonces se aplicarán las correcciones necesarias a las desviaciones normales.

2. REACTIVOS

Excepto por el titulante sulfato amónico ferroso (SAF) se requieren todos los reactivos descritos en el Método A para la Determinación de Cloro (Residual) (Sección 4), así como de las siguientes soluciones:

4.1. Solución de permanganato de potasio para la preparación de colores normalizados.

a) Pesar en una balanza analítica 0.891 g de permanganato de potasio seco (KMnO_4) y transferirlo cuidadosamente a un vaso de 250 ml y disolverlo en 100 ml de agua destilada.

b) Transferir la solución a un frasco volumétrico de un litro, enjuagando el vaso con tres porciones de agua destilada, diluirla con agua destilada hasta la marca de un litro. Tapar y mezclar cuidadosamente esta solución.

c) Con una pipeta volumétrica medir cuidadosamente 10 ml de la solución de permanganato de potasio (indicada en b) y transferirla a un frasco volumétrico de 100 ml.

d) Diluirla con agua destilada hasta la marca de 100 ml. Tapar y mezclar cuidadosamente esta solución diluida de permanganato de potasio. Almacenar esta solución en una botella de vidrio de color marrón, protegiéndola de la luz.

e) Diluir 1.00 ml de la solución indicada en (d) en agua destilada hasta los 100 ml, de acuerdo con lo indicado en la Sección 5.1. (a-d) para producir un color igual al generado por 1.00 mg de cloro en la reacción con DPD.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de los colores normalizados:

a) Transferir la solución diluida de permanganato de potasio (4.1. d) a una bureta de 10 ml y medir los siguientes volúmenes en tubos Nessler, separados, de 100 ml:

Lecturas de buretas ml	Volúmenes de KMnO_4 ml	Cloro equivalente mg/l
0.10	0.10	0.10
0.30	0.20	0.20
0.70	0.40	0.40
1.30	0.60	0.60
2.10	0.80	0.80
3.10	1.00	1.00
4.60	1.50	1.50
6.60	2.00	2.00
9.60	3.00	3.00

b) Agregar agua destilada en los tubos Nessler hasta la marca de 100 ml, tapar el tubo con tapones de caucho, limpios, y mezclar cuidadosamente el contenido invirtiéndolo de cuatro a seis veces.

c) Preparar un testigo de color (también llamado blanco de reactivos) llenando otro tubo Nessler con agua destilada hasta la marca de 100 ml.

d) Desarrollar el color DPD en cada uno de los patrones (b) y en los testigos (c) de la siguiente manera:

1) Medir 5 ml de solución amortiguadora de fosfato y 5 ml de reactivo DPD en un vaso de 250 ml.

2) Vaciar el permanganato de potasio estandarizado y preparado en el tubo Nessler de 100 ml en el vaso y mezclarlo cuidadosamente.

3) Vaciar la solución coloreada rosada o roja al tubo Nessler.

5.2. Cloro residual libre disponible:

a) Colocar 5 ml de solución amortiguadora de potasio y 5 ml de reactivo DPD en un tubo Nessler de 100 ml.

b) Medir 100 ml de la muestra en un cilindro graduado e inmediatamente vaciar la muestra en el tubo Nessler.

c) Tapar el tubo con un tapón de caucho, limpio, y mezclar el contenido cuidadosamente invirtiéndolo de cuatro a seis veces.

d) Comparar rápidamente el color desarrollado (rosado o rojo) con los patrones de color indicados en la Sección 5.1. (d-3).

e) Indicar los resultados como miligramos por litro de cloro residual libre disponible.

5.3. Cloro residual libre total:

a) Añadir algunos cristales de yoduro de potasio (peso total 0.5-1.0 g) al tubo Nessler.

b) Disolver los cristales invirtiéndolo el tubo tapado de cuatro a seis veces.

c) Dejar en reposo la solución por dos minutos para

que las cloraminas puedan oxidar el yodo a yoduro, lo cual se evidenciará por el incremento de la intensidad del color.

d) Comparar otra vez el color rosado o rojo desarrollado con los patrones de color preparados como se indicó en la Sección 5.1. (d-3).

e) Indicar los resultados obtenidos en el paso 5.2. (e) de los resultados obtenidos en el paso 5.3. (e) e indicar la diferencia como mg/l de cloro residual disponible.

5.4. Estimación de la interferencia del manganeso.

a) Colocar 5 ml de solución amortiguadora de fosfato, un pequeño cristal de yoduro de potasio y 0.5 ml de solución de arsenito de sodio en un tubo Nessler de 100 ml y mezclarlos con movimiento rotacional.

b) Medir una muestra de 100 ml en un cilindro graduado e inmediatamente vaciar el contenido en el tubo Nessler.

c) Tapar el tubo con un tapón de caucho, limpio, y mezclar el contenido cuidadosamente invirtiéndolo de cuatro a seis veces.

d) Añadir 5 ml de reactivos DPD e invertir nuevamente

el tubo tapado de cuatro a seis veces para mezclar el contenido.

e) Si la solución se torna rosada o roja, compare el color debido a la interferencia del manganeso con los patrones de color preparados como se ha indicado en la Sección 5.1. (d-3).

f) Restar la interferencia del manganeso de los resultados obtenidos en los pasos 5.2. (e) y 5.3. (3) para obtener los valores verdaderos de cloro libre disponible y cloro disponible total, respectivamente.

5.5. Reducción de la muestra y reactivos para trabajar con comparadores:

A pesar que en los presentes ensayos se especifica 100 ml de muestra, se pueden tomar muestras más pequeñas, con la disminución proporcional, en las cantidades de reactivos. Por ejemplo, una muestra de 10 ml requerirá únicamente de un décimo del volumen de reactivo normalmente aplicado en el curso del procedimiento.

5.6. Si se usa bióxido de cloro en la planta de tratamiento es necesario utilizar el Método B, Sección 5, para la determinación y cálculo de bióxido de cloro.

Cloro (Residual) C—Métodos de Campo usando Comparadores Comerciales

1. PROPOSITO DEL ENSAYO

Este método (llamado también método de dilución por gotas) es adecuado para una estimación aproximada de las concentraciones de cloro sobre los 10 mg/l como las que se aplican en los sistemas de distribución y almacenamiento de agua.

2. ADVERTENCIAS

Las limitaciones descritas en la Sección 2 para los Métodos de Laboratorio precedentes para la Determinación de Cloro (Residual) se aplican al presente método.

Leer cuidadosamente las instrucciones antes de proceder a realizar los ensayos de campo.

3. APARATOS

3.1. Un cilindro graduado para medición de agua destilada.

3.2. Dos pipetas de seguridad para dosificación de solución amortiguadora de fosfatos y reactivos de DPD.

3.3. Una pipeta de goteo para medición de las muestras de agua. Seleccionar una pipeta de tal forma que se pueda

medir 1.0 ml de la muestra con 20 gotas. Mantener la pipeta exclusivamente para este uso.

3.4. Un comparador colorimétrico comercial con el rango de medición adecuado. Estudiar cuidadosamente la Sección 3.6. del método (b) presente y la Sección 6 de la introducción general de este manual, relacionadas con las ventajas y limitaciones de este tipo de comparadores.

4. REACTIVOS

Reactivos de DPD y solución amortiguadora de fosfato. Prepárense como se indica en las Secciones 4.4. y 4.5. de los Métodos de Laboratorio para Cloro (Residual) (Método A).

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Teniendo la seguridad del volumen de la celda del comparador y usando una pipeta automática de seguridad, añadir el volumen adecuado de solución amortiguadora de fosfato y reactivos de DPD (0.5 ml por cada 10 ml de agua destilada).

5.2. Usando un cilindro graduado añadir el volumen medido de agua destilada.

5.3. Con una pipeta de goteo agregar la muestra de agua por gotas y mezclar hasta que el color rosado o rojo sea similar a uno cualquiera de los colores normalizados.

5.4. Registrar el número total de gotas utilizado y el valor final del cloro obtenido.

5.5. Calcular los mg/l de cloro residual como sigue:

a) Multiplicar por 20 el número de mililitros de agua destilada usados en el paso 5.2.

b) Multiplicar el resultado del peso 5.5. (a) por el valor final de cloro (mg/l) registrado en el paso 5.4.

c) Dividir el resultado encontrado en el paso 5.5. (b) por el número total de gotas de agua de la muestra registrada en el paso 5.4.

Cloro (Residual) D—Método de Ortotolidina

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Este método de control en planta se ha formulado para aguas potables claras e incoloras, que se cloran, en forma predominante, ya sea a un residual de cloro libre disponible a un residual de cloro combinado disponible. El sentido cuantitativo de predominante se refiere a que las tres cuartas partes del residual, o más, se encuentran bien sea en la forma libre disponible o en la forma combinada disponible. Como la mayor parte de las aguas potables se cloran para obtener un residual final de menos de 1 mg/l, sólo se describe la preparación de los patrones permanentes de color en el ámbito de 0 a 1.0 mg/l. Cuando sea necesario para una planta en particular, se debe consultar la última edición de los *Métodos Estándar*, para conocer las instrucciones sobre la preparación de patrones permanentes de cloro en el ámbito de 1 a 10 mg/l.

2. ADVERTENCIA

Para obtener los mejores resultados, las muestras que contengan una alta proporción de cloro combinado disponible se deben enfriar rápidamente y tan cerca como sea posible, a 1°C, antes de agregar el reactivo de ortotolidina para la determinación del residual libre disponible; de otro modo, las lecturas de cloro libre disponible pueden resultar erróneamente altas.

Por otra parte, la determinación del residual combinado disponible se debe verificar en muestras de agua que se hayan llevado a la temperatura del laboratorio (20°-25°C), para tener la seguridad de un desarrollo íntegro del color.

Por fortuna, los agentes oxidantes fuertes, que pudieran afectar seriamente al método de la ortotolidina-arsenito, normalmente se encuentran ausentes de las aguas potables.

Como el cloro residual de una muestra puede disminuir rápidamente por el reposo o por la exposición a la luz solar, la determinación se debe verificar inmediatamente después de la recolección de la muestra, y a cubierto de la luz solar. Los resultados son cada vez más

dudosos conforme aumenta el tiempo entre la recolección y el análisis.

Los tubos de Nessler, utilizados para las determinaciones colorimétricas del cloro, se deben limpiar cuidadosamente, cuando menos dos veces por semana y con mayor frecuencia si, por cualquier razón, se llegaron a ensuciar.

3. APARATOS

3.1. Tubos de Nessler pareados, forma alta o forma baja, de 100 ml, con gradilla.

3.2. Una bureta de 50 ml, o pipetas adecuadas para la medición de la solución diluida de cromato-dicromato.

3.3. Dos pipetas, automáticas o de seguridad, de 5 ml.

3.4. Tapones limpios de caucho (tamaño núm. 3) para los tubos de Nessler.

3.5. Papel filtro.

4. REACTIVOS

4.1. Soluciones para los patrones permanentes de color:

a) Solución amortiguadora concentrada de fosfatos:

1) En una balanza analítica se pesan, separadamente, los siguientes reactivos secos: 22.86 g de fosfato disódico anhidro (llamado también fosfato dibásico de sodio), Na_2HPO_4 ; y 46.16 g de fosfato diácido de potasio (también conocido como fosfato monobásico de potasio), KH_2PO_4 .

2) Se transfieren cuidadosamente ambas pesadas de reactivos a un vaso de precipitados de 1,000 ml y se disuelven en 600 ml de agua destilada. Si es necesario, se calienta suavemente la solución y se agita para lograr la disolución de todos los reactivos sólidos. Si se aplica calor para la disolución de los reactivos, se enfría después la solución a la temperatura ambiente.

3) Se vierte la solución en un matraz aforado de 1,000 ml, lavando el vaso de precipitados con tres porciones de 100 ml de agua destilada. Se diluye hasta el

aforo con agua destilada. Se tapa y se mezcla cuidadosamente.

4) Esta solución se deja reposar por varios días. Se elimina el precipitado que se forme en la solución durante ese tiempo, filtrándola antes de utilizarla.

b) Solución amortiguadora diluida de fosfatos. Con una pipeta volumétrica de 100 ml se miden dos porciones de la solución amortiguadora concentrada de fosfatos ya filtrada, 4.1(a) y se vierten en un matraz aforado de 1,000 ml. Se diluye hasta el aforo de 1,000 ml con agua destilada. Se tapa y se mezcla con todo cuidado.

c) Solución madre de cromato-dicromato:

1) En una balanza analítica se pesan, separadamente, los dos reactivos secos siguientes: 1.55 g de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) y 4.65 g. de cromato de potasio (K_2CrO_4).

2) Se transfieren cuidadosamente ambas pesadas de reactivos a un vaso de precipitados de 500 ml y se disuelven en 300 ml de la solución amortiguadora diluida de fosfatos, 4.1(b).

3) Se vierte la solución a un matraz aforado de 1,000 ml, lavando el vaso de precipitados con tres porciones de 100 ml de la solución amortiguadora diluida de fosfatos. Se diluye hasta el aforo con la solución amortiguadora diluida de fosfatos. Se tapa y se mezcla cuidadosamente.

d) Solución diluida de cromato-dicromato. Con una pipeta volumétrica se miden, con todo cuidado, 100 ml de la solución concentrada de cromato-dicromato, 4.1(c), vertiéndolos en un matraz aforado de 1,000 ml. Se diluye hasta el aforo con la solución amortiguadora diluida de fosfato, 4.1(b). Se tapa y se mezcla cuidadosamente.

4.2. Reactivo de ortotolidina:

a) Se pesa 1.35 g de diclorhidrato de ortotolidina (llamado también diclorhidrato de ortotolidina). No se estornude durante el manejo de este polvo corrosivo, para evitar que las partículas ligeras queden suspendidas en el aire.

b) Se agrega cuidadosamente el polvo ya pesado a un vaso de precipitados de un litro y se disuelve en 500 ml de agua destilada.

c) Con una probeta graduada se miden 350 ml de agua destilada y 150 ml de ácido clorhídrico concentrado. Se vierten el agua destilada y el ácido clorhídrico en un vaso de precipitados de 1,500 ml.

d) Mientras se agita con una mano, se vierte lentamente la solución 4.2(b) sobre la solución 4.2(c).

e) El reactivo se conserva herméticamente tapado en un frasco de color ámbar, lejos de la luz brillante, de preferencia en un estante a baja temperatura. Este reactivo corrosivo se sirve con una pipeta automática o con una pipeta de seguridad.

4.3. Solución de arsenito de sodio. Se pesan 5.0 g de arsenito de sodio (conocido también como *metarsenito de sodio*), $NaAsO_2$. Se disuelven en 1 litro de agua destilada.

Este tóxico debe manejarse con extrema precaución, y evitando, en particular, que llegue a tener contacto con la boca. Esta solución se maneja con una pipeta automática o de seguridad.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de los patrones de color:

a) Se prepara la siguiente serie de patrones de color, midiendo los volúmenes indicados de la solución diluida de cromato-dicromato, 4.1(d), en tubos de Nessler separados, de 100 ml:

Solución cromato-dicromato ml	Equivalente de cloro mg/l
0	0
1	0.01
2	0.02
5	0.05
7	0.07
10	0.10
15	0.15
20	0.20
25	0.25
30	0.30
35	0.35
40	0.40
45	0.45
50	0.50
60	0.60
70	0.70
80	0.80
90	0.90
100	1.0

A partir de esta serie es posible preparar y seleccionar cualquier número de patrones de menor valor que sean adecuados si la variación del cloro residual en la planta tiene variaciones más reducidas.

b) Se diluyen hasta el aforo de 100 ml con la solución amortiguadora diluida de fosfatos, 4.1(b) mezclándose 10 veces por inversión.

c) Estos patrones se protegen cubriendo los tubos con tapones limpios de caucho, si los patrones se tienen que usar por un período de varios meses.

5.2. Determinación del cloro residual libre disponible:

a) Se enfría rápidamente la muestra de agua a una temperatura tan baja como sea posible, colocándola en agua de hielo.

b) Con una pipeta, automática o de seguridad, se vierten 5 ml del reactivo de ortotolidina en un tubo de Nessler de 100 ml.

c) Se agregan 95 ml de agua de la muestra, llenando con ella el tubo de Nessler de 100 ml, hasta el aforo.

d) Se cubre el tubo con un tapón limpio de caucho y se mezcla completamente el contenido, invirtiendo el tubo por cuatro a seis veces. En este paso no se deben ocupar más de 10 segundos.

e) Con una pipeta, automática o de seguridad, se agregan inmediatamente al tubo 5 ml de la solución de arsenito de sodio.

f) Se vuelve a cubrir el tubo con el tapón de caucho y se mezcla de nuevo invirtiéndolo rápidamente por cuatro a seis veces.

g) Se compara rápidamente el color amarillo desarrollado con los patrones permanentes de color.

h) El resultado se registra como mg/l de cloro residual libre disponible.

Nota: Si se usa bióxido de cloro en la planta potabilizadora, consúltase Bióxido de Cloro, sec. 6, sobre los cálculos aplicables para el caso.

5.3. Determinación del cloro residual disponible total:

a) Rápidamente se lleva la muestra de agua a una temperatura de 20°-25°C.

b) Con una pipeta, automática o de seguridad, se vierten 5 ml del reactivo de ortotolidina a un tubo de Nessler de 100 ml.

c) Se agregan 95 ml del agua, de la muestra, llenando hasta el aforo el tubo de Nessler de 100 ml.

d) Se cubre el tubo con otro tapón limpio de caucho y se mezcla completamente su contenido, invirtiendo el tubo cuatro a seis veces.

e) Se compara el color amarillo que se desarrolla con los patrones permanentes de color, después de que el color amarillo haya alcanzado su máxima intensidad, por lo general dentro de los 5 minutos siguientes.

f) El resultado se registra como mg/l de cloro residual total disponible.

5.4. Cloro residual combinado disponible. Se deduce el resultado obtenido en el paso 5.2(h) de aquél obtenido en el paso 5.3(f), registrándose la diferencia como mg/l de cloro residual combinado disponible.

Cloro (Residual) E

Métodos de Campo usando Tubos Nessler

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Este método (conocido también como método de *dilución a gotas*) es adecuado para la estimación aproximada de concentración de cloro residual total, mayores de 10 mg/l, como las que se aplican para la desinfección de tuberías o tanques.

2. ADVERTENCIA

Se aplican las limitaciones que se describen en la sección 2 del método de ortotolidina (Método D), para la determinación de cloro residual. Léase cuidadosamente esa sección antes de tratar de aplicar el método de campo. Con este método no es posible determinar separadamente los residuales de cloro libre y combinado (véase la sec. 1 del método de laboratorio, para una explicación de estos términos).

Sólo son aproximados, los resultados de este método.

3. APARATOS.

3.1. Tubos de Nessler pareados, forma alta o baja, de 100 ml, con gradilla.

3.2. Una bureta de 50 ml, o pipetas adecuadas para la medición de la solución diluida de cromato-dicromato.

3.3. Una pipeta de 5 ml, automática o de seguridad.

3.4. Una pipeta-gotero para medir la muestra de agua.

Se selecciona una pipeta que entregue 1.0 ml de muestra en 20 gotas. Sepárese esta pipeta exclusivamente para este propósito.

3.5. Tapones limpios de caucho (tamaño núm. 3) para los tubos de Nessler.

3.6. Papel filtro.

4. REACTIVOS

4.1. Soluciones para los patrones permanentes de color. Se preparan como se indica en la sec. 4.1. del método de ortotolidina para el cloro residual (Método D).

4.2. Reactivo de ortotolidina. Se prepara como se describe en la sec. 4.2 del método de laboratorio para cloro residual.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de los patrones de color. Se procede como se describe en la sec. 5.1 del método de laboratorio para cloro residual.

5.2. Determinación del cloro residual disponible total:

a) Con una pipeta, automática o de seguridad, se vierten 5 ml del reactivo de ortotolidina en un tubo de Nessler de 100 ml.

b) Se agregan 95 ml de agua destilada, llenando el tubo de Nessler hasta el aforo de 100 ml. Se mezcla bien el contenido.

c) Con una pipeta-gotero se agrega el agua de la muestra, una gota en cada ocasión, mezclando cuidadosamente el contenido del tubo de Nessler después de cada adición. Mientras se mezcla, se cubre la boca del tubo con un tapón limpio de caucho o con la muñeca del brazo limpia; no se debe usar el dedo pulgar o índice para cerrar la boca del tubo.

d) Se continúa la adición de la muestra de agua, una gota en cada ocasión, hasta que se produzca un color amarillo en el tubo Nessler.

e) Se compara el color inmediatamente con los pa-

trones permanentes de color. Si el cloro equivalente es menor de 0.1 mg/l, se continúa añadiendo agua de la muestra a gotas, mezclando hasta, que el color amarillo que se produzca corresponda, cuando menos, a 0.1 mg/l de cloro en los patrones de color.

f) Se registra el número total de gotas utilizadas, y el valor del cloro final obtenido.

g) Se calcula el residual cloro en mg/l, multiplicando primero el valor del cloro final por 1,900 y dividiendo posteriormente el resultado por el número total de gotas consumidas.

Cloro (Demanda de)

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

El cloro se agrega a las aguas de los abastecimientos para asegurar su pureza bacteriológica o para mejorar sus características químicas, físicas y organolépticas (sabor y olor).

Este método de control es adecuado para la determinación de la cantidad aproximada de cloro que se necesita para producir determinado cloro residual en fuentes de agua de calidad potable que, comparativamente, contienen poca polución. En la mayoría de los casos, se afirma la seguridad bacteriológica de una agua cuando se tiene presente un ligero exceso de cloro.

Cuando se conoce que la polución es intensa, deben seguirse los procedimientos que se describen en la última edición de los *Métodos Estándar*.

2. ADVERTENCIA

Las condiciones de prueba están expuestas a variaciones de consideración. La temperatura, el período de contacto y la dosificación de cloro ejercen una marcada influencia en la demanda de cloro, por lo que deben mencionarse al informar sobre todos los resultados de las pruebas de demanda de cloro. Se deben tomar todas las precauciones posibles para que todas las muestras y las soluciones de cloro se mantengan fuera de la influencia de la luz solar directa, lo mismo que lejos de gases que pueden consumir cloro, como amoníaco y bióxido de azufre.

Si la prueba tiene un objetivo bacteriológico, toda la cristalería se debe limpiar completamente y esterilizar.

Si no se valora la solución dosificadora de cloro, sólo se pueden obtener resultados aproximados.

Las muestras de agua que presenten una demanda de cloro en exceso de 10 mg/l se analizan mejor por los métodos que se describen en la última edición de los *Métodos Estándar*. Se debe consultar el mismo libro cuando

se deseen datos de mayor confianza o informe sobre el método apropiado para la valoración de la solución de dosificación del cloro.

3. APARATOS

Además de los aparatos que se indican bajo Cloro Residual, Método A, sec. 3, se necesitan los siguientes:

3.1. Cinco, o más, frascos o matraces de 1 litro de capacidad.

3.2. Una pipeta-gotero o un gotero medicinal, para dosificar la solución de cloro. Selecciónese una pipeta o gotero que entregue 1.0 ml de agua en 20 gotas. Sepárese esta pipeta o gotero exclusivamente para la determinación de la demanda de cloro.

3.3. Una probeta graduada de 500 ml, para medir la muestra.

4. REACTIVOS

Además de todos los reactivos que se describen para Cloro Residual, Método A, sec. 4, se necesitan los siguientes:

4.1. Solución madre de cloro. Se adquiere un frasco de solución blanqueadora doméstica ("Clorox", "Roman Cleanser" o un producto similar). Se almacena en un lugar frío y oscuro, como en un refrigerador, para mantener indefinidamente la concentración del reactivo. Estos productos contienen, aproximadamente, 5 por ciento de cloro disponible, lo que representa 50,000 mg/l.

4.2. Solución concentrada para la dosificación del cloro:

a) Se vierten 20 ml de la solución madre en una probeta graduada de 25 ml.

b) Se vierten 80 ml de agua destilada en una probeta graduada de 100 ml. Se usan probetas separadas para prevenir la posible contaminación del frasco o garrafón de agua destilada con los vapores de cloro.

c) Se mezclan las dos soluciones. Se conservan en un frasco ámbar, cerrado herméticamente, en un refrigerador, para mantener la concentración del reactivo por un mes. Cada gota de esta solución representa una dosis de cloro de 1 mg/l, cuando se agrega a 500 ml de muestra.

4.3. Solución diluida para la dosificación del cloro:

a) Se vierten 10 ml de la solución concentrada de cloro (4.2) en una probeta graduada de 10 ml o 25 ml.

b) Se vierten 90 ml de agua destilada en una probeta graduada de 100 ml.

c) Se mezclan las dos soluciones. Se conserva en frasco ámbar, cerrado herméticamente, en un refrigerador, para mantener la concentración del reactivo por una semana. Cada gota de esta solución representa una dosis de cloro de 0.1 mg/l, cuando se agrega a una muestra de agua de 500 ml.

d) Si es posible, se comprueba la concentración de la Solución (c), por el método que se describe en el Apéndice (pág. 36).

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Con una probeta graduada se miden 500 ml de muestra para cada uno de los 5 ó 10 frascos o matraces.

5.2. Se llevan estas muestras envasadas a la temperatura deseada (bien sea la temperatura ambiente o la temperatura del agua al entrar o salir de la planta potabilizadora).

5.3. Se agrega a los frascos o matraces las siguientes cantidades de gotas de la solución diluida para la dosificación del cloro (4.3):

Gotas de la solución diluida para la dosificación de cloro	Cloro, mg/l
2	0.2
4	0.4
6	0.6
8	0.8
10	1.0
12	1.2
14	1.4
16	1.6
18	1.8
20	2.0

A partir de esta serie se puede seleccionar cualquier número menor de muestras que se considere adecuado. Al fijar el programa de dosificación, procédase de tal modo, que la primera muestra no acusé cloro residual al finalizar el período de contacto deseado, el cual puede ser de 1 hora, 2 horas, o aun 24 horas.

5.4. Se mezclan los contenidos de los frascos o matraces y se dejan en reposo a la temperatura utilizada en el paso 5.2. Las muestras deben conservarse en la oscuridad.

5.5. Se selecciona un período de contacto apropiado. Al final de dicho período de contacto, se mezcla el contenido del primer frasco o matraz y se determina el cloro residual disponible total, según se describe en Cloro Residual método A, sec. 5.3. Si se desea, también se determina el cloro residual libre disponible, como se establece en Cloro Residual, método A, sec. 5.2.

5.6 Se registra la cantidad dosificada de cloro, el cloro residual disponible, total o libre, que se cuantificó el período de contacto y la temperatura a la que se conservó la muestra de agua durante el período de contacto.

5.7. Con cada uno de los frascos de muestra se repiten los pasos 5.5. y 5.6.

5.8. Se calcula la demanda de cloro deduciendo el cloro residual cuantificado a partir de la cantidad dosificada en cada caso.

5.9. Si no se encuentra cloro residual (total o libre, dependiendo de aquel en el que se tenga interés) en la muestra dosificada con 2 mg/l de cloro, se usa la solución concentrada para la dosificación de cloro (4.2), para preparar la siguiente serie de muestras:

Gotas de la solución concentrada para la dosificación de cloro	Cloro, mg/l
2	2
4	4
6	6
8	8
10	10

5.10 Se completa la determinación en la forma que se señala en los pasos 5.4 al 5.8.

APENDICE

Estimación de la concentración de la solución para la Dosificación de Cloro

1. APARATOS

- 1.1. Una bureta de 50 ml con soporte.
- 1.2. Una probeta graduada de 100 ml.

1.3. Una pipeta volumétrica de 1 ml, para dosificar la solución indicadora de almidón.

1.4. Un matraz Erlenmeyer de 250 ml.

2. REACTIVOS

2.1. Solución indicadora de almidón. Se siguen las instrucciones para Oxígeno Disuelto, sec. 4.4.

2.2. Agua destilada hervida. Se siguen las instrucciones para bióxido de carbono, sec. 4.1. El agua destilada se prepara inmediatamente antes de que se vaya a utilizar para la preparación de la solución valorada de tiosulfato de sodio.

2.3. Solución de tiosulfato de sodio, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.025N. Se siguen las instrucciones establecidas para Oxígeno Disuelto, sec. 4.6.

2.4. Acido sulfúrico, H_2SO_4 , concentrado.

2.5. Yoduro de potasio (KI), en cristales o en polvo.

3. PROCEDIMIENTO

3.1. Se llena la bureta de 50 ml con la solución 0.025N de tiosulfato de sodio y se registra el nivel del líquido, por lectura en el fondo del menisco.

3.2. Se deposita 1 g de yoduro de potasio, en cristales o en polvo, en un matraz Erlenmeyer de 250 ml.

3.3. Con la probeta graduada se miden 100 ml de agua destilada y se agregan al matraz, agitando por rotación, para la disolución de los cristales.

3.4. Con precaución se agregan 2 ml de ácido sulfúrico concentrado, mientras se agita el matraz por rotación.

3.5. Se miden, tan exactamente como sea posible, 25 ml de la solución diluida dosificante de cloro bien mezclada, sec. 4.3(c) anterior, agitando rápidamente por

rotación durante la adición. En esta fase aparecerá un color café rojizo.

3.6. Gradualmente, y en pequeñas porciones, se agrega la solución 0.025 N de tiosulfato de sodio, por medio de la bureta, mientras se mantiene en constante agitación al matraz, hasta que la muestra cambie de un amarillo pálido a un color paja.

3.7. Con una pipeta volumétrica se agregan al matraz 1 ó 2 ml de la solución indicadora de almidón. Debe aparecer una coloración azul.

3.8. Se continúa la adición de la solución de tiosulfato de sodio, gota a gota, justo hasta que desaparezca el color azul.

3.9. Se registra el nuevo nivel de la bureta, por lectura en el fondo del menisco.

3.10. Se calcula el volumen consumido de solución de tiosulfato deduciendo la lectura de la bureta en el paso 3.1 de la lectura de la bureta en el paso 3.9.

3.11 Se calcula el cloro presente, cada 1.0 ml de la solución diluida para la dosificación de cloro, multiplicando el resultado por 0.03545. Si la titulación neta de tiosulfato de sodio consume exactamente, 28.2 ml, la solución diluida para la dosificación de cloro será de la concentración apropiada o sea de 1.0 mg por 1.0 ml. Sin embargo, se considera que la solución diluida, para la dosificación de cloro, resulta de una concentración aceptable cuando la titulación neta con tiosulfato de sodio se encuentra en el ámbito de 25.5 y 31.0 ml, en cuyo caso el contenido de cloro varía entre 0.9 y 1.1 mg por 1.0 ml. Con tal concentración se obtiene una dosis de cloro de 0.09 a 0.11 mg/l, cuando se agrega 1 gota de la solución diluida para la dosificación de cloro a una muestra de agua de 500 ml.

Bióxido de Cloro—General

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

El bióxido de cloro se adiciona al agua principalmente para la destrucción de las sustancias productoras de sabores, como los fenoles. Siendo un desinfectante efectivo, permite también eliminar algunos problemas de hierro y manganeso, oxidando estos elementos a un estado insoluble.

Recientemente se ha dado gran atención al bióxido de cloro por su poder desinfectante y a su relativa estabilidad con el amoníaco. El compuesto se genera en el mismo sitio de su utilización, por la intensa reacción del cloro concentrado con soluciones de clorito de sodio.

Se pueden utilizar dos ensayos modificados en plantas para el control de aguas claras y sin olor que han sido tratadas con bióxido de cloro. La determinación de los ensayos puede ser seleccionada de acuerdo a preferencias personales: titulación con el Método A o colorimétricamente con el Método B.

2. ADVERTENCIA

Se debe leer cuidadosamente la Sección 2 del procedimiento para Cloro (Residual). Se aplican las mismas consideraciones en la determinación del bióxido de cloro.

Bióxido de Cloro A—Método por Titulación

1. PROPOSITO DEL ENSAYO

Ver Bióxido de Cloro General

2. ADVERTENCIA

Ver Bióxido de Cloro General

3. APARATOS

Además de los aparatos descrito en Cloro (Residual) Método A, Sección 3, se requieren los siguientes ítems:

3.1. Dos pipetas de goteo o goteros de 1 ml de capacidad para soluciones de ácido malónico y ácido sulfúrico.

3.2. Una pipeta graduada de 5 ml para bicarbonato de sodio.

4. REACTIVOS

Se requieren los siguientes reactivos además de los descritos en el Método A para la determinación de Cloro (Residual), Sección 4:

4.1. Solución de ácido malónico: pesar 1.0 g de ácido malónico $\text{CH}_2(\text{COOH})_2$. Disolverlo en 100 ml de agua destilada.

4.2. Solución de ácido sulfúrico: con un cilindro graduado de 100 ml, medir separadamente 88 ml de agua destilada y 12 ml de solución diluida de ácido sulfúrico, preparada como se indica en la sección 4.2., Método A para determinación de Cloro (Residual); mientras se mueve con una mano lenta y cuidadosamente añadir la solución de ácido sulfúrico al agua destilada en un matraz.

4.3. Solución de bicarbonato de sodio: pesar 4.0 g de bicarbonato de sodio (también llamado carbonato hidrogenado de sodio o carbonato ácido de sodio) NaHCO_3 . Disolverlo en 100 ml de agua destilada.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Fracción al bióxido de cloro.

a) Llenar una bureta con sulfato amónico ferroso (SAF) como titulador. Registrar el nivel del líquido en la bureta leyendo en la parte inferior del menisco. Prevénganse pérdidas en la llave que puedan dar resultados erróneos.

b) Medir 100 ml de muestra en un frasco de 250 ml.

c) Añadir 1 ml de ácido malónico y mezclar. Dejar en reposo la solución por dos minutos para que el ácido malónico pueda desactivar el cloro.

d) Añadir 5 ml de solución amortiguadora de fosfato y 5 ml de reactivo de DPD y mezclarlo.

e) Si la muestra se torna rosada o roja, gradualmente añadir la titulación (SAF) desde la bureta, sacudiendo el frasco continuamente hasta que desaparezca el color rosado.

f) Leer el nuevo nivel de la bureta en la parte inferior del menisco y calcular el volumen de solución utilizado, restando la lectura inicial de la bureta, indicada en (a), con el objeto de obtener un quinto de la cantidad de bióxido de cloro de la muestra.*

g) Multiplicar el resultado obtenido en (f) por cinco para obtener el valor total aproximado de contenido de cloro (en mg/l) en el bióxido de cloro.

5.2. Fracción que incluye cloro libre disponible, un quinto de bióxido de cloro y cloro combinado disponible.

a) Llenar nuevamente la bureta con titulación (SAF). Registrar el nivel del líquido en la bureta leyendo en la parte inferior del menisco.

b) Medir 100 ml de muestra en un segundo frasco de 250 ml.

c) Añadir 5 ml de solución amortiguadora de fosfato y 5 ml de reactivo de DPD y mezclarlos.

d) Si la muestra se vuelve rosada o roja agregar, gradualmente, titulación (SAF) de la bureta, sacudiendo el frasco constantemente hasta que justamente desaparezca el color rosado.

e) Nuevamente leer el nivel de la bureta en la parte inferior del menisco y registrar el volumen total de titulante usado en esta titulación, el cual representa todo el cloro libre disponible más un quinto del bióxido de cloro. Restando la titulación neta de bióxido de cloro encontrado en el paso 5.1. (f) de la presente titulación se obtiene el cloro libre disponible.

f) Proceder inmediatamente con el paso (g) para la determinación del componente de cloro disponible combinado.

g) Añadir varios cristales (peso aproximado total 0.5-1.0 g) de yoduro de potasio, mezclándolos hasta disolverlos. Dejarlos en reposo para que las cloraminas pueden convertir el yodo en yoduro, lo que se evidenciará por el cambio de color a rosado o rojo.

h) Reiniciar la titulación con pequeños volúmenes de titulante (SAF), hasta que el color rosado o rojo desaparezca otra vez.

i) Leer el nuevo nivel de la solución de SAF restándolo del obtenido en el paso (e) para obtener el cloro combinado disponible.

5.3. Cloro disponible total.

a) Llenar la bureta con titulador (SAF). Marcar el nivel del líquido en la bureta leyendo la parte inferior del menisco.

*Esta titulación particular puede únicamente determinar esta cantidad.

b) Medir 100 ml de muestra en un tercer frasco de 250 ml.

c) Añadir 1 ml de solución de ácido sulfúrico y mezclarlo.

d) Agregar varios cristales (con un peso aproximado de 0.5-1.0 g) de yoduro de potasio haciéndolo permanecer en reposo alrededor de un minuto para permitir al cloro, bióxido de cloro, cloraminas y cloritos convertir el yodo en yoduro.

e) Añadir 5 ml de solución amortiguadora de fosfato, 5

ml de reactivo de DPD y 5 ml de solución de bicarbonato de sodio y mezclarlas.

f) Si la muestra se torna roja o rosada, agregar gradualmente titulación (SAF) de la bureta, sacudiendo el frasco continuamente hasta que desaparezca el color rosado.

g) Leer el nuevo nivel de la bureta en la parte inferior del menisco y marcar el volumen total de la titulación utilizada para reaccionar con el cloro disponible total.

Bióxido de Cloro B—Método Colorimétrico

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Ver Bióxido de Cloro—General.

2. ADVERTENCIA

Ver Bióxido de Cloro—General.

3. APARATOS

Todos los aparatos descritos en el Método B, Cloro (Residual), Sección 3, y las pipetas indicadas en bióxido de Cloro, Método A, Sección 3.

4. REACTIVOS

Con excepción de la solución de sulfato amónico ferroso (SAF), se requieren los mismos reactivos que se describen en los Métodos A y B de Cloro (Residual), Sección 4, así como también los reactivos descritos en el Método A, para la Determinación de Bióxido de Cloro.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Fracción de bióxido de cloro.

a) Llenar un tubo Nessler hasta la marca de 100 ml, con la muestra.

b) Añadir 1 ml de solución de ácido malónico.

c) Tapar el tubo con un tapón de corcho, limpio, y mezclar el contenido.

d) Mantener la solución en reposo por dos minutos para que el ácido malónico pueda desactivar al cloro.

e) Añadir 5 ml de solución amortiguadora de fosfato y 5 ml de reactivo de DPD e invertir el tubo tapado de cuatro a seis veces para mezclar el contenido.

f) Si la solución se torna rosada o roja, lo que es debido a un quinto del bióxido de cloro, comparar el color con los colores normalizados preparados en la Sección 5.1. (d-3) Cloro (Residual), Método A.

g) Multiplicar la lectura obtenida en el paso (f) por cinco para obtener el contenido aproximado de cloro disponible (en mg/l) de bióxido de cloro.

5.2. Fracción que incluye cloro libre disponible, un quinto de bióxido de cloro y cloro combinado disponible.

a) Colocar en otro tubo Nessler de 100 ml, 5 ml de solución amortiguadora de fosfato y 5 ml de reactivo de DPD.

b) Medir 100 ml de muestra en un cilindro graduado y vaciarlo inmediatamente en el tubo Nessler.

c) Tapar el tubo con un tapón de crudo, limpio, y mezclar el contenido completamente invirtiéndolo de cuatro a seis veces.

d) Comparar inmediatamente el color rosado o rojo desarrollado, con los colores normalizados.

e) Registrar los resultados como miligramos por litro de cloro residual libre y un quinto de bióxido de cloro residual. Restar la lectura de bióxido de cloro encontrado en el paso 5.1. (f) de la presente lectura y obtener el cloro libre disponible.

f) Continuar agregando cristales de yoduro de potasio (peso total 0.5-1.0 g) al tubo Nessler.

g) Disolver los cristales invirtiéndolo de cuatro a seis veces el tubo tapado.

h) Dejar la solución en reposo por dos minutos para que las cloraminas puedan convertir el yodo en yoduro, lo cual se evidenciará por un incremento de la intensidad del color.

i) Comparar nuevamente el color rosado o rojo con los colores normalizados.

j) Registrar la lectura de cloro residual en mg/l. Restar el resultado obtenido en el paso (e) de la presente lectura y registrar la diferencia como miligramo por litro de cloro residual combinado disponible.

5.3. Cloro total residual disponible.

a) Llenar otro tubo Nessler, hasta la marca de 100 ml, con la muestra.

b) Añadir 1 ml de solución de ácido sulfúrico y cristales

de yoduro de potasio (peso total de 0.5 a 1.0 mg) y sellarlo con un tapón de corcho.

c) Disolver los cristales invirtiendo el frasco tapado de cuatro a seis veces.

d) Dejar la solución en reposo por un minuto, lo que permitirá al cloro residual, al bióxido de cloro y a los cloritos oxidar el yodo en yoduro.

e) Añadir 5 ml de solución amortiguadora de fosfato, 5 ml de reactivo de DPD y 5 ml de solución de bicarbonato de sodio y nuevamente invertir el tubo tapado de cuatro a seis veces para mezclar el contenido.

f) Comparar el color rosado o rojo debido al cloro residual total disponible con los colores normalizados.

5.4. Reducción de la muestra y de volúmenes de reactivos. A pesar que se especifica una muestra de 100 ml en los ensayos anteriores, se pueden tomar muestras menores con menores cantidades proporcionales de reactivos. Por ejemplo, una muestra de 10 ml requerirá únicamente de un décimo del volumen de los reactivos normalmente utilizados en el procedimiento.

Color

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Los colores más comunes que se presentan en las aguas crudas son el amarillo y el café. Por lo general, los colores se deben a la materia orgánica del suelo o de origen vegetal. En tales casos, el valor del pH ejerce un efecto importante sobre la naturaleza del color. Sin embargo, las formas solubles y coloidales de hierro y manganeso pueden también impartir colores del amarillo al café, mientras que los desechos de cromatos le imparten un color amarillo.

Se reconocen dos tipos de color en las aguas. El color verdadero, como resultado de la presencia de sustancias orgánicas, disueltas o coloidales. La materia suspendida puede agregar un color aparente. Al nivel de una planta potabilizadora, con frecuencia se elimina el color verdadero por coagulación con alumbre, en el ámbito ácido del valor del pH. La cloración a residual libre y la sobrecoloración son útiles en la reducción del color.

Este método de control se ha formulado para medir el verdadero color en las aguas, siendo útil para plantas potabilizadoras que tienen que tratar aguas coloridas.

2. ADVERTENCIA

Este método sólo es adecuado para medir el color en aguas claras. Como la turbiedad aumenta el color aparente de una agua, este método se debe usar para determinar el color de una agua que no contenga más de 5 unidades de turbiedad y, de preferencia, menos de 1 unidad de turbiedad. Cuando se tienen mayores cantidades de turbiedad, se debe seguir el procedimiento que se recomienda en la última edición de los *Métodos Estándar*. Algunas veces la turbiedad se puede reducir por un período suficiente de sedimentación. No se recomienda la filtración por la posibilidad de retener parte del verdadero color en el papel filtro.

3. APARATOS

3.1. Diez, o más, tubos de Nessler de 50 ml, pareados, forma alta, con gradilla.

3.2. Una bureta de 25 ml, o pipetas apropiadas para medir la solución madre de color.

3.3. Diez, o más, tapones limpios de caucho (tamaño número 2).

4. REACTIVO

Solución madre de color:

a) Se pesan, separadamente, en una balanza analítica, 1.246 g de cloroplatinato de potasio (K_2PtCl_6) y 1.0 g de cloruro cobaltoso ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$). En estas pesadas se usan juegos contrapesados de platillos de cristal para balanza o vidrios de reloj, debido a que los reactivos utilizados pueden atacar los platillos metálicos.

b) Se transfieren con todo cuidado los dos reactivos pesados a un vaso de precipitados de 250 ml y se disuelven en 50 ml de agua destilada.

c) Se agregan 100 ml de ácido clorhídrico concentrado y se mezcla completamente.

d) Se vierte esta solución a un matraz aforado de 1,000 ml, lavando el vaso con tres porciones de 100 ml de agua destilada.

e) La solución se diluye hasta el aforo de 1,000 ml con agua destilada. Se tapa y se mezcla completamente.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de los patrones de color:

a) Se prepara la siguiente serie de patrones de color, midiendo los volúmenes indicados de solución madre de color en tubos separados de Nessler, de 50 ml:

Solución de color, ml	Unidades de color
0	0
0.5	5
1	10
2	20
3	30
4	40
5	50
6	60
7	70

b) Se agrega agua destilada hasta el aforo de 50 ml y se mezclan.

c) Se protegen estos patrones cubriéndolos con tapones limpios de caucho, si se piensa que se puedan utilizar por varios meses.

5.2. Determinación del color en una muestra que contenga menos de 70 unidades. Se vierten 50 ml de la muestra clara en un tubo separado de Nessler de 50 ml. Se compara esta muestra con los patrones y se estiman las unidades de color en la muestra. Si el color de la muestra es mayor que el de los patrones (más de 70 unidades) se procede como se indica en la sec. 5.3.

5.3. Determinación del color en una muestra que contenga más de 70 unidades:

a) Se vierte una porción de 25 ml de la muestra clara en un tubo separado de Nessler de 50 ml. Se diluye hasta el aforo con agua destilada. Se compara la muestra diluida con los patrones y se estiman las unidades de color en dicha muestra. Si el color de la muestra excede aún al del patrón de mayor color, se repite el procedimiento, usando porciones menores y menores de la muestra original hasta que se encuentre una correspondencia en el color.

b) Se calcula el color total, multiplicando el color estimado de la muestra diluida final por el factor correspondiente, de acuerdo a lo siguiente:

Volumen de la muestra original ml	Multiplíquense las unidades de color por
25	2
20	2.5
10	5
5	10

Cobre

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Esta prueba se ha formulado para la determinación del cobre disuelto en las aguas. El cobre se puede encontrar presente después del tratamiento de las aguas con sulfato de cobre, para el control de la proliferación del plancton y de otras formas acuáticas. También lo puede disolver el agua a su paso a través de tuberías y accesorios de cobre o de bronce. Se ha conocido de casos en los cuales pequeñas cantidades de cobre presentes en el agua, han impartido manchas verdes a los recipientes de porcelana.

2. ADVERTENCIA

Pocos de los constituyentes comunes de las aguas naturales llegan a afectar la prueba. La muestra se debe encontrar exenta de turbiedad y color. El desarrollo de turbiedad, en las muestras o en los patrones, después de la adición del reactivo mixto de "cuprethol", indica bien sea que el reactivo es demasiado viejo y que se debe sustituir o, que se encuentra presente alguna interferencia en una concentración excesiva. Se debe consultar la última edición de los *Métodos Estándar*, para conocer cómo se debe proceder con muestras que contengan turbiedad y color.

3. APARATOS

3.1. Ocho, o más, tubos de Nessler pareados, forma alta, de 100 ml, con gradilla.

3.2. Una bureta de 25 ml, o pipetas apropiadas para la medición de la solución patrón de cobre.

3.3. Tapones limpios de caucho (tamaño número 3), para los tubos de Nessler.

3.4. Una pipeta-gotero o un gotero medicinal para la adición de la solución de ácido clorhídrico.

3.5. Pipetas para la medición de las soluciones de pirofosfato de sodio y de acetato de sodio.

3.6. Una pipeta, automática o de seguridad, para la adición del reactivo de "cuprethol".

4. REACTIVOS

4.1. Solución madre de cobre:

a) En una balanza analítica se pesan 0.393 g de sulfato cúprico pentahidratado, seco ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

b) Se transfiere cuidadosamente el reactivo pesado a un vaso de precipitados de 250 ml y se disuelve en 100 ml de agua destilada.

c) Se agrega, con cuidado, 1 gota de ácido sulfúrico concentrado, y se mezcla.

d) Se vierte la solución acidulada a un matraz aforado de 1,000 ml y se lava el matraz con tres porciones de 100 ml de agua destilada. Se diluye hasta el aforo de 1,000 ml con agua destilada. Se tapa y se mezcla completamente.

4.2. Solución patrón de cobre. Se miden, cuidadosamente con una pipeta volumétrica, 10 ml de la solución madre de cobre (4.1) en un matraz aforado de 100 ml. Se diluye hasta el aforo de 100 ml con agua destilada. Se tapa y se mezcla completamente. La solución patrón de cobre se debe preparar en el día en que se vaya a usar, por ser dudosa su estabilidad.

4.3. Solución de ácido clorhídrico:

a) Empleando una probeta graduada, se miden 100 ml de agua destilada, que se vierten a un frasco de 250 ml.

b) En la misma probeta graduada se miden 100 ml de ácido clorhídrico concentrado (HCl) y se vierten al frasco.

c) Se tapa y se agita el frasco para mezclar los contenidos.

4.4. Solución de pirofosfato de sodio. Se pesan 30 g de pirofosfato de sodio ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) y se pasan a un vaso de precipitados de 1,500 ml. Se disuelven en 1,000 ml de agua destilada, medidos en una probeta graduada.

4.5. Solución de acetato de sodio:

a) Se pesan 400 g de acetato de sodio trihidratado ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) y se pasan a un vaso de precipitados de 1,500 ml. Se utiliza una probeta graduada para medir 600 ml de agua destilada, que se vierten al vaso.

b) Se calienta y se agita la solución, hasta la disolución de los cristales.

4.6. Solución de "cuprethol" (I):

a) Se usa una probeta graduada de 250 ml para medir 200 ml de alcohol metílico o metanol, que se vierten a un frasco de 250 ml, con tapón de cristal esmerilado.

b) Se pesan 4.0 g de 2.2'-iminodietanol (también denominado *dietanolamina*) que se disuelven en el alcohol metílico. Se tapa herméticamente este reactivo para mantener su estabilidad.

Se debe mantener lejos de cualquier llama.

4.7. Solución de "cuprethol" (II):

a) Se usa una probeta graduada de 250 ml para medir 200 ml de alcohol metílico o metanol, que se vierten en un frasco de 250 ml con tapón de cristal esmerilado.

b) Con una pipeta automática o de seguridad, se miden 3 ml de bisulfuro de carbono, que se disuelven en el alcohol metílico. Se tapa herméticamente este reactivo, para mantener su estabilidad.

Debe mantenerse lejos de cualquier llama.

4.8. Reactivo mixto de "cuprethol":

a) Con una probeta graduada de 10 ml, se miden 10 ml de la solución "cuprethol" (I) y se vierten en un tubo de ensayo de 20 x 150 mm.

b) Con la misma probeta graduada se miden 10 ml de la solución "cuprethol" (II) que se agregan al mismo tubo de ensayo.

c) Se mezcla el contenido del tubo de ensayo.

Manténgase lejos de la llama.

Este reactivo se debe preparar en volúmenes no mayores de los que se puedan necesitar para una semana de uso. Para mantener su estabilidad, se debe conservar el recipiente que lo contenga, herméticamente cerrado.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de los patrones de cobre:

a) Se prepara la siguiente serie de patrones de cobre, midiendo los volúmenes indicados de la solución patrón de cobre en tubos de Nessler, separados, de 100 ml:

Solución de cobre, ml	Cobre, mg/l
0	0
0.5	0.05
1.0	0.1
2.0	0.2
3.0	0.3
4.0	0.4
5.0	0.5

b) Se agrega agua destilada hasta el aforo de 100 ml y se mezcla.

5.2. Se miden los volúmenes apropiados de muestra, según los ámbitos de cobre que se indican:

Volumen de muestra, ml	Ambito de cobre, mg/l
100	0.05—0.5
50	0.55—1.0
25	1.1—2.0

Se vierte la muestra, clara e incolora, en un tubo de

Nessler de 100 ml. Si es necesario, se diluye hasta el aforo de 100 ml con agua destilada.

5.3. A todos los tubos (incluyendo cada patrón de cobre y la muestra) se agregan 0.5 ml de solución de ácido clorhídrico con una pipeta-gotero, realizando la mezcla por inversión de los tubos cuatro veces.

5.4. Con una pipeta graduada se agregan 2 ml de la solución de pirofosfato de sodio y, de nuevo, se mezclan los tubos invirtiéndolos cuatro veces.

5.5. Con una pipeta graduada se agregan 10 ml de la solución de acetato de sodio, mezclándose por inversión por cuatro veces. Si es posible, se comprueba en este punto la muestra tratada, para tener la seguridad de que su valor del pH se encuentra entre 5 y 6. Si es necesario, se agrega más solución de acetato de sodio, para llevar el valor del pH al ámbito deseado de 5 a 6.

5.6. Se dejan reposar los tubos por 5 minutos.

5.7. Con una pipeta-gotero, pipeta de seguridad o pi-

peta automática, se agrega 1 ml del reactivo mixto de "cuprethol" (4.8). Se mezcla cada uno, invirtiéndolo cuatro a seis veces.

5.8. Se dejan reposar los tubos cuando menos por 10 minutos, aunque no más de 30 minutos.

5.9. Se compara la muestra con los patrones y se determina, por la intensidad del color amarillo, la cantidad de cobre existente.

5.10. Se calcula la cantidad de cobre, en mg/l, multiplicando el resultado observado en el paso 5.9 por el siguiente factor que le corresponda de acuerdo con:

Volumen de muestra, ml	Se multiplican mg/l de cobre por
100	1
50	2
25	4

Fluoruro

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Los fluoruros se agregan artificialmente a muchos abastecimientos de agua, para reducir la incidencia de las caries dentarias. Este método se ha formulado para las aguas que contienen fluoruros, bien sean de origen natural o artificial.

2. ADVERTENCIA

Este método es adecuado para la cuantificación de fluoruro en aguas claras e incoloras. Ninguna de las siguientes sustancias debe encontrarse en exceso de las cantidades que se indican:

Sustancia	Cantidad, mg/l
Cloruros	2,000
Alcalinidad total (como carbonato de calcio)	400
Sulfato	300
Fosfato	5
Hierro	2
Hexametáfosfato de sodio (denominado también <i>Calgon</i>)	1.0
Aluminio	0.25

Si el agua no llega a satisfacer cualquiera de estas condiciones, debe seguirse el procedimiento que aparece en la última edición de los *Métodos Estándar*.

3. APARATOS

3.1. Ocho, o más, tubos de Nessler de 100 ml, pareados, forma alta, con gradilla.

3.2. Una bureta de 25 ml, o pipetas apropiadas para la medición de la solución patrón de fluoruro.

3.3. Una pipeta volumétrica de 5 ml para la medición del reactivo circonil-ácido.

3.4. Una pipeta-gotero o un gotero medicinal, de 0.5 a 1 ml de capacidad, para medir la solución de arsenito.

3.5. Pipetas volumétricas, apropiadas para la medición de la muestra.

4. REACTIVOS

4.1. Reactivo circonil-ácido:

a) Se pesa 0.30 g de oxiclورو de circonio (denominado también cloruro de circonilo), $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$, y se disuelven en 50 ml de agua destilada, en un matraz aforado de 1,000 ml. Se utilizan platillos de cristal, pareados para balanza, para pesar esta sustancia, porque los platillos metálicos se pueden atacar y opacar.

b) Se pesan 0.07 g de alizarín monosulfato sódico (llamado también "rojo de alizarina S") y se disuelven en 50 ml de agua destilada, en un vaso de 250 ml.

c) Se agrega la solución de alizarina a la solución de circonilo, contenida en el matraz aforado, con agitación por rotación. Se permite que la solución resultante repose por unos minutos.

d) Se miden 390 ml de agua destilada en una probeta de 500 ml. Se vierte el agua destilada a un vaso

de precipitados de 1 litro. Con una probeta graduada de 250 ml se miden 101 ml de ácido clorhídrico concentrado (HCl). Mientras se agita el agua destilada con una mano, se vierte el ácido clorhídrico sobre ella.

e) Con una probeta graduada de 500 ml se miden 400 ml de agua destilada. Se vierte el agua destilada a un vaso de precipitados de 1,000 ml. Con una probeta graduada de 50 ml, se miden 33 ml de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄), que se vierten en los 400 ml de agua destilada. Se genera bastante calor por la mezcla del ácido sulfúrico con el agua destilada, por lo que se debe verter lentamente y con agitación, para evitar salpicaduras peligrosas. Se deja enfriar la solución a la temperatura ambiente.

f) Lentamente se vierte la Solución (d) en la Solución (e), mientras se agita con una mano.

g) A la solución clara de circonio alizarina (c), contenida en el matraz aforado de 1,000 ml, se agregan los ácidos mezclados (f) hasta el aforo del matraz de 1,000 ml. Se tapa y se mezcla completamente. La solución mixta se deja reposar por una hora, antes de usarla. Cuando se protege de la luz solar, el reactivo es estable por 6 meses, cuando menos.

4.2. Solución madre de fluoruro:

a) Se pesan, cuidadosamente, en balanza analítica, 0.2210 g de fluoruro de sodio seco (NaF). Se transfiere cuidadosamente el reactivo pesado a un vaso de precipitados de 250 ml y se disuelve en 100 ml de agua destilada.

b) Se pasa la solución a un matraz aforado de 1,000 ml y se lava el vaso de precipitados con tres porciones de 100 ml de agua destilada.

c) Se diluye hasta el aforo de un litro con agua destilada. Se tapa y se mezcla completamente.

4.3. Solución patrón de fluoruro. Con una pipeta volumétrica se miden, con todo cuidado, 10 ml de la solución madre de fluoruro y se vierten en un matraz aforado de 100 ml. Se diluye hasta el aforo de 100 ml, con agua destilada. Se tapa y se mezcla completamente.

4.4. Solución de arsenito de sodio. Se pesan 5.0 g de arsenito de sodio (también denominado *metarsenito de sodio*), NaAsO₂. Se disuelven en un litro de agua destilada.

Se maneja este reactivo con extremo cuidado y se debe evitar su ingestión. La solución se sirve con una pipeta-gotero, o con un gotero medicinal.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de los patrones de fluoruro:

a) Se prepara la siguiente serie de patrones de fluoruros, midiendo los volúmenes indicados de la solución

patrón de fluoruro (4.3), en tubos de Nessler, separados, de 100 ml:

Solución patrón de fluoruro, ml	Fluoruro, mg/l
0	0
2	0.2
4	0.4
6	0.6
8	0.8
10	1.0
12	1.2

b) Se agrega agua destilada hasta el aforo de 100 ml y se mezcla cada tubo por inversión, por unas cuatro a seis veces.

5.2. Se miden los volúmenes adecuados de muestra, para las siguientes cantidades posibles de fluoruros:

Volumen de muestra, ml	Ambito de fluoruro, mg/l
100	0.1—1.2
50	1.3—2.4
25	2.5—4.8

Se vierte la muestra clara e incolora en un tubo de Nessler de 100 ml. Si es necesario, se diluye hasta el aforo de 100 ml con agua destilada.

5.3. Se elimina cualquier residual de cloro por la adición de 1 gota (0.05 ml) de la solución de arsenito de sodio, por cada mg/l de cloro residual presente en la muestra de 100 ml. Se mezcla el tubo de muestra, invirtiéndole por 4 a 6 veces.

5.4. Se permite que los patrones y la muestra adquieran la misma temperatura, porque el desarrollo de color depende, en forma crítica, de la temperatura. La diferencia de temperatura entre el tubo más caliente y el más frío no debe ser mayor de 2°C.

5.5. Con una pipeta volumétrica se agregan 5 ml del reactivo circonil-ácido a cada uno de los patrones y a la muestra. La adición del reactivo a toda la serie debe quedar terminada en un período de 5 minutos. Se mezclan perfectamente los contenidos de cada tubo, invirtiéndolos por 4 a 6 veces. Se deja que los tubos reposen de 60 minutos, por lo menos.

5.6. Se compara la muestra con los patrones y se determina, por la coloración del amarillo al rosa, la cantidad presente de fluoruro.

5.7. Se calcula el contenido de fluoruro, en mg/l, multiplicando el resultado observado en el paso 5.6 por el factor correspondiente:

Volumen de muestra, ml	Multiplíquense la lectura de mg/l de fluoruro por
100	1
50	2
25	4

Dureza

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

La presencia de calcio y magnesio da origen a la dureza de las aguas. La dureza puede ser de dos tipos: de carbonatos y de no carbonatos. La dureza se puede eliminar por tratamiento con cal, carbonato de sodio (cenizas de soda), permutadores catiónicos o una combinación de los tres.

Este método se ha formulado para la determinación rutinaria de la dureza en muestras de aguas potables.

2. ADVERTENCIA

El agua se debe encontrar exenta de color o turbiedad, que puedan enmascarar o afectar la respuesta del indicador. Por fortuna, las sustancias que inducen a error en esta titulación rara vez se encuentran presentes en los abastecimientos de agua potable. Se titulan como dureza los elementos bario, estroncio, cadmio, plomo, cinc y manganeso, mientras que cantidades limitadas de cobre, hierro, cobalto, níquel y aluminio pueden afectar los resultados de la prueba. Se debe consultar la última edición de los *Métodos Estándar* para conocer la concentración tolerable de estas sustancias en el agua.*

La titulación se debe verificar en una muestra que se encuentre a la temperatura del laboratorio. La reacción es demasiado lenta en una muestra fría y, por otra parte, el indicador se descompone en una muestra caliente.

*Se han expedido dos patentes de E. U. de A. (números 2.534,890 y 2.583,891) a favor de G. Schwarzenbach, amparando sus descubrimientos en relación con los métodos complexométricos y de titulación para la determinación cuantitativa de la dureza de las aguas. Nada de lo que se indica en este manual se debe tomar en el sentido de que se concede un derecho, por implicación o en otra forma, para la manufactura, venta o uso en conexión con cualquier método, aparato o producto amparado por la patente, ni que exista una seguridad para nadie contra la responsabilidad por la violación de la patente.

La titulación se debe terminar dentro de un período de 5 minutos después de la adición de la solución amortiguadora, para evitar las dificultades que se pueden presentar por la precipitación del carbonato de calcio (CaCO_3).

La solución amortiguadora y el indicador en estado sólido están sujetos a deterioro, debiéndose conservar herméticamente tapados, cuando no se tienen en uso.

Un cambio final deficiente o con tonalidades verdosas, indica la necesidad de un nuevo indicador.

3. APARATOS

3.1. Una bureta de 25 ml, con soporte.

3.2. Una probeta graduada de 50 ml, o pipetas volumétricas apropiadas para la medición de la muestra.

3.3. Dos, o más, matraces de 250 ml, o cacerolas de porcelana.

3.4. Dos, o más, agitadores para las cacerolas.

3.5. Una pipeta-gotero o un gotero medicinal de 0.5 a 1.0 ml de capacidad, para dosificar la solución amortiguadora.

3.6. Dos cucharillas de medición, de capacidad de 0.2 a 0.3 ml, para la adición de los cristales de cianuro de sodio y de la mezcla en estado seco del indicador.

4. REACTIVOS

Se dispone comercialmente de las siguientes soluciones preparadas y mezclas en estado sólido.

4.1. Cianuro de sodio, en cristales, NaCN.

Este tóxico se debe manejar, cuidadosamente, con una cucharilla o espátula. Se debe evitar la ingestión e inhalación de los gases mortales de cianuro.

4.2. Solución amortiguadora:

a) Se pesan cuidadosamente, por separado, en balanza analítica, 1.179 g de etilendiaminotetraacetato disódico diácido en estado seco (abreviado EDTA o Na_2EDTA) de calidad analítica y 0.780 g de sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Se transfieren cuidadosamente los dos

reactivos pesados a un vaso de precipitados de 100 ml y se disuelven en 50 ml de agua destilada.

b) Se pesan 16.9 g de cloruro de amonio (NH_4Cl) y se colocan en un vaso de precipitados de 400 ml. Con una probeta graduada de 250 ml, se miden 143 ml de hidróxido de amonio concentrado que se vierten en el vaso de 400 ml. Se disuelve el cloruro de amonio en el hidróxido de amonio concentrado.

c) Se vierte la Solución (a) en la Solución (b), con agitación.

d) Se vierte la Solución (c) en una probeta graduada de 250 ml y se diluye hasta el aforo de 250 ml con agua destilada. Se mezcla completamente la solución resultante, trasvasándola entre el vaso de precipitados de 400 ml y la probeta graduada de 250 ml. Se conserva en un frasco herméticamente tapado.

4.3. Mezcla indicadora en estado sólido. Se pesan, separadamente, 0.5 g de colorante Negro Eriocromo T y 100 g de cloruro de sodio (NaCl). Se colocan ambas sustancias en un mortero y se trituran juntas con el pistilo, hasta que la anilina oscura se distribuya uniformemente en toda la sal blanca. Se guarda en un frasco herméticamente tapado.

4.4. Solución de EDTA:

a) Se pesan cuidadosamente, en una balanza analítica, 3.723 g del etilendiaminotetraacetato disódico diácido en estado seco (abreviado EDTA o Na_2EDTA), de calidad analítica. Se transfiere el reactivo, cuidadosamente, a un vaso de precipitados de 250 ml y se disuelve en 150 ml de agua destilada.

b) Se vierte cuidadosamente la solución a un matraz aforado de 1,000 ml y se lava el vaso de precipitados con tres porciones de 100 ml de agua destilada. Se diluye más con agua destilada hasta el aforo de 1,000 ml. Se tapa y se mezcla completamente.

La solución valorada de EDTA pierde fuerza lentamente; por lo general, la pérdida es despreciable durante los 6 primeros meses, aunque llega a ser de consideración después de un año.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Se llena la bureta con la solución de EDTA. Se registra el nivel del líquido en la bureta, haciendo la lectura en el fondo del menisco. Se debe cuidar que no existan fugas en el grifo, que dan por resultado pérdidas de la solución durante el reposo.

5.2. Se miden los volúmenes apropiados de muestra, según el ámbito de dureza que se indica:

Volumen de muestra, ml	Ambito de dureza, mg/l como CaCO_3
50	0—300
25	301—600
10	601—1,500

Si sólo se necesitan 25 ml de la muestra, se agregan 25 ml de agua destilada para obtener un volumen total de 50 ml; con una muestra de 10 ml, se agregan 40 ml de agua destilada. La cantidad de agua destilada por agregar, se mide con una probeta graduada. Se vierte la muestra (y el agua destilada, si es necesaria) en un matraz de 250 ml (o en una cacerola de porcelana).

5.3. Se prepara un testigo de comparación de color, vertiendo 50 ml de agua destilada (medida con una probeta graduada) en un matraz similar de 250 ml (o en una cacerola de porcelana).

5.4. Con una cucharilla, se miden 0.25 g de cristales de cianuro de sodio y se agregan al testigo de comparación de color y a la muestra. Se disuelven los cristales por mezcla.

5.5. Se agregan 1 a 2 ml de la solución amortiguadora al testigo de comparación de color y a la muestra y se mezcla.

5.6. Con la cucharilla se agrega una medida (.02 g) de la mezcla indicadora en estado sólido al testigo de comparación de color y a la muestra; se mezclan para su disolución.

5.7. Al testigo de comparación de color se agregan; con cuidado, por medio de la bureta, 1 gota de la solución tituladora de EDTA en cada ocasión, hasta que la coloración púrpura cambie a un azul brillante. Algunas veces, no es necesaria la adición de gotas pero, en otras ocasiones, se pueden necesitar hasta 3 gotas. Se registra el nuevo nivel de la bureta por lectura en el fondo del menisco.

5.8. Si la muestra cambia al color rojo o púrpura en el paso 5.6, se agrega gradualmente la solución tituladora de EDTA de la bureta. Se sacude por rotación el matraz constantemente (o se agita constantemente el contenido de la cacerola de porcelana). Se continúa la adición de la solución tituladora hasta que el color rojo vire a un matiz púrpura. En este punto se detiene la adición del reactivo, por diez segundos, aunque se continúa agitando.

5.9. Se reinicia la adición de la solución de EDTA, a gotas, hasta que el color púrpura cambia al mismo color azul brillante, que presenta el testigo de comparación de color. Antes de cada nueva adición se agita por rotación el matraz (o se agita el contenido de la cápsula de porcelana). El vire de color, del púrpura al azul brillante, se debe presentar por la adición de 1 a 4 gotas. Si se tiene dificultad en reconocer el vire cuando se agrega una gota en cada ocasión, se pueden agregar 2 gotas cada vez, cerca del cambio final. Con esto se intensifica el cambio de color y no es de significación la pequeña pérdida en exactitud.

5.10. Se registra el nuevo nivel de la bureta por lectura en el fondo del menisco.

5.11. Se calcula el volumen bruto consumido de la solución tituladora para lo cual se deduce la lectura inicial de la bureta en el paso 5.7 de la lectura final en el paso 5.10.

5.12. Se calcula la corrección del testigo, deduciendo la lectura de la bureta en el paso 5.1 de la lectura de la bureta en el paso 5.7.

5.13. Se calcula el volumen neto de solución consumido por la muestra, deduciendo el resultado encontrado en el paso 5.12 del resultado calculado en el paso 5.11.

5.14. Se calcula la dureza, en términos de mg/l, como carbonato de calcio, multiplicando el resultado obtenido en el paso 5.13 por el factor correspondiente:

Volumen usado de muestra, ml	Multiplíquese la lectura en ml de solución EDTA por
50	20
25	40
10	100

Hierro

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Las concentraciones de hierro, en exceso de 1 mg/l, se pueden presentar, en forma natural, en aguas de pozos, o bien, en aguas de ríos que reciben desechos industriales. Se aplica el tratamiento de eliminación en aquellas aguas en las que el hierro causa problemas de colores, de manchas, de bacterias y de olores y sabores en la red de distribución. Una forma de enfrentarse al problema de la presencia del hierro, en algunas aguas de pozos, es su acomplejamiento con polifosfatos. Los coagulantes a base de hierro pueden aplicarse en la potabilización de las aguas, para eliminar la turbiedad. En tales casos, la presencia de cantidades apreciables de hierro en el agua potabilizada indican que se está aplicando una dosis incorrecta de coagulante. El conocimiento del contenido total de hierro de una agua es importante para diversos propósitos.

Se ha formulado este método para cuantificar el hierro total, bien sea que se presente normalmente en el agua o que se introduzca como resultado de un proceso de tratamiento con coagulantes ferruginosos o por fenómenos de corrosión en tuberías de hierro.

2. ADVERTENCIA

La muestra se debe encontrar exenta de turbiedad o de color que no se deban al hierro. El hecho de que el hierro se puede presentar en las formas soluble, coloidal, de complejos o en partículas, lo mismo en forma ferrosa o férrica, da lugar a que ésta sea una de las determinaciones más difíciles. Se debe aplicar un buen criterio en la recolección de muestras de aguas ferruginosas, en particular cuando se investigan manifestaciones de corrosión. Un recipiente de cristal, con tapa de cristal o de plástico, es preferible a los que tengan tapas metálicas. El frasco se debe agitar perfectamente para suspender y distribuir uniformemente todo el hierro en el volumen completo de la muestra antes de extraer la porción necé-

saria para la determinación del hierro total. Aun así, cuando la determinación se demora por varios días, pueden quedar adheridas a las paredes del recipiente algunas incrustaciones de hierro. Para una estimación precisa, se debe disolver en ácido clorhídrico esa adsorción de hierro. Para resultados lógicos en un laboratorio en particular, la determinación se debe realizar siempre exactamente del mismo modo exacto desde el primero hasta el último paso. De otro modo, los resultados pueden variar como consecuencia de las variaciones en la técnica de manipulación.

Para evitar la contaminación de matraces, tubos, vasos de precipitados u otra cristalería, que hayan contenido sustancias químicas con una alta concentración de hierro (tales como sulfato ferroso o sulfato o cloruro férrico), deben limpiarse por ebullición durante 1/2 hora, cuando menos, con una solución que contenga volúmenes iguales de ácido clorhídrico y de agua destilada.

Aunque pocos de los constituyentes comunes de las aguas afectan a la prueba, las sustancias siguientes inducen a errores: concentraciones de cinc en exceso de 10 veces el valor del hierro; cobre y cobalto en exceso de 5 mg/l; más de 2 mg/l de níquel, así como de bismuto, plata, cadmio, mercurio, molibdato y grandes cantidades de agentes oxidantes poderosos. Se debe consultar la última edición de los *Métodos Estándar* con respecto a informes sobre la determinación de hierro ferroso o férrico, porque en tales casos las muestras requieren de precauciones especiales para su manejo y almacenamiento.

3. APARATOS

3.1. Diez, o más, tubos de Nessler de 100 ml, pareados, forma alta o baja, con gradilla.

3.2. Una bureta de 25 ml, o pipetas apropiadas para la medición de la solución patrón de hierro.

3.3. Una probeta graduada de 100 ml para medir la muestra. Se pueden usar probetas graduadas de 50 ó 25

ml para muestras de menor volumen cuando existen partículas que pueden obturar las pipetas.

3.4. Uno, o más, matraces Erlenmeyer de 250 ml.

3.5. Una pipeta automática o de seguridad, para la medición del ácido clorhídrico concentrado.

3.6. Pipetas para la medición de las soluciones de clorhidrato de hidroxilamina, de la amortiguadora de acetato y de fenantrolina.

3.7. Un mechero de gas o una plancha eléctrica.

3.8. Uno, o más, cuadros de tela de alambre, de 20 mallas.

3.9. Cuatro o más perlas de vidrio.

3.10. Uno, o más, agitadores de cristal.

3.11. Una piceta para lavar matraces, perlas y agitadores.

4. REACTIVOS

4.1. Solución madre de hierro:

a) Con una probeta de 50 ml se miden 50 ml de agua destilada y se vierten en un vaso de 250 ml.

b) Con la misma probeta de 50 ml se miden 20 ml de ácido sulfúrico concentrado.

c) Mientras se agita con una mano, se agrega, lentamente y con precaución, el ácido sulfúrico al agua destilada. Se genera un fuerte calentamiento por la mezcla del ácido sulfúrico y del agua destilada por lo que, para evitar salpicaduras peligrosas, debe agregarse lentamente y con agitación. Se permite que la solución se enfríe a la temperatura del laboratorio.

d) Se pesan, en una balanza analítica, 0.7022 g de sulfato ferroso amoniacal seco, $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, que se agregan a la solución (c). Los cristales se disuelven por agitación de la solución.

e) Se pesa 1 g de permanganato de potasio, KMnO_4 , que se coloca en un vaso de precipitados de 250 ml y se disuelve en 100 ml de agua destilada.

f) Se agrega la Solución (e), a gotas, a la Solución (d), con agitación constante, hasta que persista un débil color rosa.

g) Se transfiere la Solución (f) a un matraz aforado de un litro, se lava el vaso de precipitados con tres porciones de 100 ml de agua destilada y se diluye hasta el aforo de un litro con agua destilada. Se tapa y se mezcla perfectamente.

4.2. Solución patrón de hierro. Con una pipeta volumétrica se miden, con todo cuidado, 10 ml de la solución madre de hierro y se vierten a un matraz aforado de 100 ml. Se diluye hasta el aforo de 100 ml con agua destilada. Se tapa y se mezcla perfectamente. Debido a la inestabilidad de la solución, el patrón de hierro se prepara el día en que se vaya a usar.

4.3. Acido clorhídrico concentrado, HCl.

4.4. Solución de clorhidrato de hidroxilamina:

a) Se pesan 10 g de clorhidrato de hidroxilamina

($\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$) que se colocan en un vaso de precipitados de 250 ml.

b) Con una probeta graduada, se miden 100 ml de agua destilada, que se vierten en el vaso de precipitados de 250. ml. Se agita hasta disolución de los cristales.

4.5. Solución amortiguadora de acetato:

a) Se pesan 250 g de acetato de amonio ($\text{NH}_4\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$), que se colocan en un vaso de precipitados de un litro y se disuelven en 150 ml de agua destilada.

b) Se agregan 700 ml de ácido acético glacial (o concentrado) y se mezcla.

c) Se transfiere la solución mezclada de acetato de amonio y ácido acético a una probeta de un litro y se diluye hasta el aforo de 1,000 ml con agua destilada. Se mezcla perfectamente, trasvasando al vaso de precipitados y agitando.

4.6. Solución de fenantrolina:

a) Se pesan, en una balanza analítica, 0.1 g de 1,10-fenantrolina monohidratada ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) que se colocan en un vaso de precipitados de 250 ml.

b) Con una probeta graduada, se miden 100 ml de agua destilada y se agregan al vaso de precipitados.

c) Se agregan al vaso de precipitados 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado.

d) Se agita la solución hasta disolución. (Si los cristales no se disuelven rápidamente, se pone el vaso en un baño María para acelerar la disolución). La solución se desecha cuando se oscurece por reposo prolongado.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de los patrones de hierro:

a) Se prepara la siguiente serie de patrones de hierro, midiendo los volúmenes que se indican de la solución patrón de hierro (4.2) en tubos de Nessler separados, de 100 ml:

Solución patrón de hierro, ml	Hierro, mg/l
0	0
0.5	0.05
1.0	0.10
2.0	0.20
3.0	0.30
4.0	0.40
6.0	0.60
8.0	0.80
10.0	1.0

b) Se agrega agua destilada hasta el aforo de 100 ml y se mezclan.

5.2. Se mezcla perfectamente la muestra y se mide el

volumen apropiado de muestra según el contenido de hierro que se indica a continuación:

Volumen de muestra, ml	Ambito de concentración de hierro, mg/l
100	0.05—1.0
50	1.1 —2.0
25	2.1 —4.0

Se vierte la muestra en un matraz de 250 ml.

5.3. Se agregan 2 ml de ácido clorhídrico concentrado y se mezcla.

5.4. Se agrega 1 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina y se mezcla.

5.5. Se calienta la solución hasta ebullición y se permite que hierva por 5 minutos. Se evitan las salpicaduras y la ebullición tumultuosa del líquido poniendo una tela de alambre sobre la fuente de calor, eléctrica o de gas, haciendo reposar el fondo del matraz sobre la tela. Se agregan, para mayor protección, 4 ó 5 perlas de vidrio al matraz, o se pone en el mismo un agitador de varilla de cristal.

5.6. Se enfría la muestra a la temperatura ambiente.

5.7. Se transfiere la muestra a un tubo de Nessler de 100 ml. Se enjuagan el matraz, las perlas de vidrio y el

agitador con 5 a 10 ml de agua destilada, agregando el agua usada en el lavado al tubo de Nessler.

5.8. Se agrega suficiente agua destilada para llevar el volumen hasta el aforo de 100 ml.

5.9. A la muestra, y a la serie de patrones preparados en el paso 5.1, se agregan 10 ml de la solución amortiguadora de acetato, medidos con una pipeta graduada y se mezclan perfectamente por inversión de cada tubo, de 4 a 6 veces.

5.10. Se agregan con una pipeta, 5 ml de solución de fenantrolina y se mezclan perfectamente invirtiendo cada tubo de 4 a 6 veces.

5.11. Se permite que los tubos reposen, cuando menos por 15 minutos, para que se desarrolle el color.

5.12. Se compara la muestra con los patrones y se determina por la intensidad del color rosa, la cantidad presente de hierro total.

5.13. Se calcula el hierro total, en mg/l, multiplicando el resultado del paso 5.12 por el factor correspondiente:

Volumen de muestra, ml	Se multiplican los mg/l de hierro por
100	1
50	2
25	4

Pruebas de potabilización

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Uno de los objetivos de una planta potabilizadora de agua es la producción, término de los procesos, de una agua que sea clara e incolora y, por lo tanto, de un gusto y de una apariencia aceptables para el consumidor.

Por lo general, las aguas superficiales contienen materias suspendidas que se denominan como turbiedad (lodo en su mayor parte), que varían en tamaño y en cantidad. Cuando una agua turbia, sin tratar, se aplica aisladamente a un filtro rápido de arena, sólo se podrá eliminar una porción de ese lodo. La eliminación de la turbiedad en las agua se mejora con la adición de un coagulante, como el alumbre (sulfato de aluminio), seguido de una mezcla rápida, por un breve intervalo, agitando lentamente por un período más prolongado (proceso que se denomina indistintamente, como *floculación* o *coagulación*) y terminando con una sedimentación aun más prolongada. En el curso de estas etapas, el coagulante forma un "flóculo", que atrae y atrapa las pequeñas partículas de color, lodo, algas y otras materias. La combinación resultante del flóculo con las materias

particuladas al resultar más pesada que el agua, se sedimenta ampliamente en las cámaras de sedimentación. La porción que no se llega a sedimentar, pero ya constituida por partículas más grandes que las de la turbiedad original, se elimina más fácilmente en los filtros de arena. En esta forma, la coagulación convierte la turbiedad semejante a una "bruma" con cualidades deficientes tanto de sedimentación como de filtración, en una "tormenta de nieve", de partículas mucho más grandes, que se sedimentan y filtran en forma satisfactoria.

En los procesos de coagulación influyen tanto la alcalinidad como el valor del pH. A menudo, el color se elimina con mayor facilidad a valores ácidos del pH, después de lo cual el agua se hace alcalina. Por otra parte, es común que la turbiedad se coagule bajo condiciones alcalinas. Sin embargo, se debe poner de manifiesto que no todos los coagulantes reaccionan en forma similar al mismo valor del pH.

Cuando el sulfato de aluminio se disuelve en el agua, se produce un ácido, por lo que debe tenerse un compuesto alcalino que permita la formación del flóculo. Si el compuesto alcalino no existe en el agua, en forma na-

tural, debe agregársele artificialmente. Con frecuencia, se agregan cal y ceniza de sodio a las aguas blandas, que contienen menos de 25 mg/l de alcalinidad total. La neutralización de cada mg/l de alumbre se logra con 0.25 mg/l de cal pura, o con 0.46 mg/l de cenizas de soda puras (carbonato de sodio).

Las pruebas de potabilización se han formulado para que pongan de manifiesto la naturaleza y la amplitud del tratamiento químico que deberá demostrar su efectividad en la planta. Muchos de los reactivos que se agregan a una agua se pueden valorizar, en una escala de laboratorio, por medio de las pruebas de potabilización. Entre los reactivos químicos más importantes se encuentran los coagulantes, los compuestos alcalinos, los reactivos químicos para ablandamiento y el carbón activado; este último, para la eliminación de olores y sabores. Cuando se agregan coagulantes durante la prueba de potabilización, para describir la operación se pueden usar los términos prueba de floculación, prueba de coagulación o prueba de flóculo.

La prueba de floculación pretende semejar a las condiciones que prevalecen en una planta determinada al seguir los procesos de adición de reactivos, mezcla rápida, floculación y sedimentación que prevalecen en una planta determinada. Mediante esta prueba, el operador puede llegar a la dosificación correcta que debe aplicar en la planta, cuando la variación en las cantidades de turbiedad y color, así como de otros factores, imponen un cambio en las dosis de coagulante. La prueba también permite estimar el valor de los méritos relativos de los coagulantes de aluminio y de hierro, aislados o en combinación con co-coagulantes tales como la sílice activada, los polielectrolitos, las arcillas, el polvo de piedra, el carbón activado, los lodos sedimentados, la cal y carbonato de sodio. Los resultados de la prueba tienen un valor considerable en el diseño de nuevas plantas cuando no se dispone de informes previos sobre el coagulante más adecuado para el agua y el tipo de flóculo que es posible esperar. En forma análoga, la prueba puede demostrar el conocimiento, la cordura y la necesidad de modernizar una planta antigua, por la instalación de mezcladores instantáneos mejorados o de floculadores mecánicos y mediante reconstrucción de los estanques de sedimentación.

2. ADVERTENCIA

Aun el detalle más pequeño puede tener una influencia importante en los resultados de una prueba de potabilización. Por lo tanto, todas las muestras en una serie de pruebas se deben manejar en igual forma, hasta donde sea posible.

El propósito de la prueba es la determinación de las diversas condiciones experimentales, tales como la velocidad de la agitación, la duración de la mezcla instan-

tánea y los intervalos de floculación y sedimentación. Las diversas condiciones que se describen en el procedimiento siguiente constituyen un buen punto de partida para un laboratorio que, por vez primera, ensaya las pruebas. Dado el caso, se pueden tener que cambiar algunos o todos los tiempos y velocidades, como consecuencia de las deficiencias de una planta antigua o de y la operación mejorada de una planta nueva o reconstruida.

Como la temperatura tiene un papel importante en la coagulación, las muestras de agua cruda se deben recolectar y medir solamente después de que se han hecho todos los preparativos, para reducir el efecto que la temperatura del local pudiera tener sobre la muestra.

3. APARATOS

3.1. Un agitador mecánico provisto con tres a seis paletas, capaz de operar a velocidades variables (de 0 a 100 revoluciones por minuto). Las unidades de agitadores múltiples, como la que se ilustra en la figura 7, se encuentran disponibles comercialmente y, por lo general, son superiores a los equipos similares de fabricación particular que pueden tener ocupado a un mecánico por mucho tiempo para su construcción.

3.2. Un iluminador de flóculos. Esta unidad localizada en la base del agitador de laboratorio, que se muestra en la figura 6, permite la observación de pequeñas partículas de flóculos.

3.3. Vasos de precipitados, de 1,500 ml, forma baja, de cristal refractario. Se pueden usar vasos de precipitados de 500 ml o de otra capacidad, con aparatos agitadores de menor tamaño.

3.4. Un balde de plástico, de tipo doméstico, con una capacidad superior a 8 litros, para la recolección de la muestra.

3.5. Una probeta graduada de 1,000 ml. Se pueden utilizar probetas graduadas de 500 ml para la medición de muestras, con vasos de precipitados de menor tamaño.

3.6. Pipetas graduadas, de 1, 5 y 10 ml, todas con graduaciones cada 0.1 ml, para dosificar rápidamente, a las muestras de agua, con coagulantes, suspensiones y otras soluciones necesarias. Estas pipetas se lavan perfectamente con agua corriente o destilada, para evitar que se formen incrustaciones con los coagulantes, suspensiones u otras soluciones que se estén utilizando.

3.7. Una pipeta de 100 ml, para la extracción de la muestra coagulada o ablandada.

3.8. Aparatos para la determinación del color, de la turbiedad, del valor del pH y de la alcalinidad a la fenolftaleína y total.

3.9. Aparatos especiales para las pruebas de ablandamiento:

a) Embudo de filtración.

b) Papel filtro de retención media. Son satisfactorios los Whatman N° 40 o Schleicher & Schull N° 589.

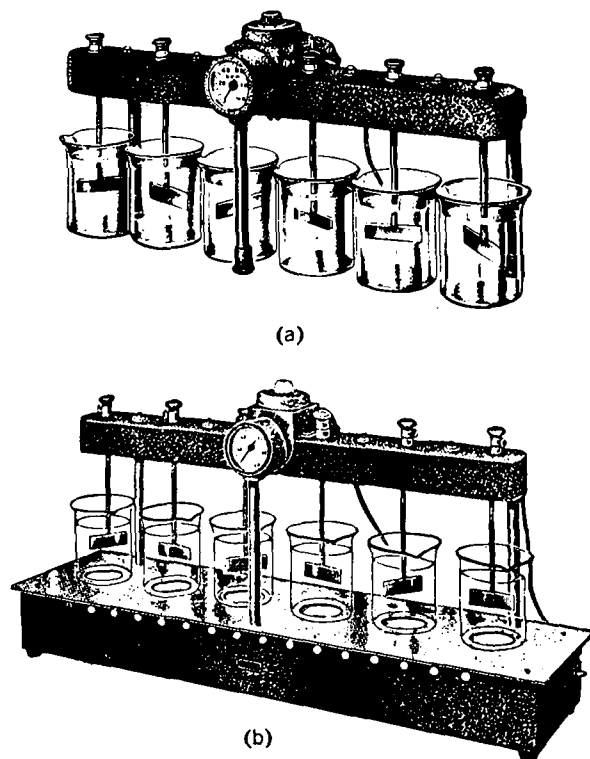


FIG. 6. AGITADOR PARA PRUEBA DE POTABILIZACION

Clave: (a) agitador mecánico; (b) iluminador de flóculos, con el agitador en su lugar.

3.10. Aparatos especiales para las pruebas de eliminación de sabor y olor con carbón activado:

- a) Un filtro de tubo.
- b) Lana de vidrio. Se lava perfectamente con agua inodora.

4. SOLUCIONES Y SUSPENSIONES PARA LA DOSIFICACION

En la coagulación de aguas turbias o coloridas se utilizan varios reactivos y otros materiales. Se agrupan en tres clases: coagulantes, co-coagulantes y portadores de alcalinidad.

Los coagulantes comunes son: sulfato de aluminio (llamado también *alumbre* de filtración), $Al_2(SO_4)_3 \cdot 14H_2O$; sulfato ferroso (denominado *caparrosa*), $FeSO_4 \cdot 7H_2O$; sulfato férrico (también llamado *ferrisul*), $Fe_2(SO_4)_3$; y aluminato de sodio, $NaAlO_2$.

Los co-coagulantes incluyen: sílice activada; materiales orgánicos artificiales conocidos como polielectrolitos; arcilla, caolín o polvo de piedra.

El coagulante necesita de alcalinidad para que se pueda producir el flóculo de óxido hidroso que se desea. Para proporcionar la alcalinidad necesaria, se agrega a

las aguas blandas una pequeña cantidad de un álcali fuerte. Los reactivos que se usan para este propósito son: óxido de calcio (sinónimos: cal, cal viva, cal no apagada o cal quemada) CaO ; hidróxido de calcio (sinónimos: cal hidratada o cal apagada) $Ca(OH)_2$; carbonato de sodio (sinónimo: cenizas de soda), Na_2CO_3 .

Las soluciones o suspensiones para la dosificación se deben preparar con los reactivos en existencia, de uso común que se estén empleando en una planta de potabilización. El agua destilada que se utilice para las suspensiones de cal se debe hervir por 15 minutos, para expulsar el bióxido de carbono, enfriándose a la temperatura ambiente antes de agregar la cal.

4.1. Solución o suspensión para la dosificación de coagulante:

a) Se pesan 10.0 g de material. Se disuelven o se suspenden en 1 litro de agua destilada. Se registra la fecha de preparación en la etiqueta del frasco.

b) Se agita la suspensión inmediatamente antes de emplearla.

c) Cada 0.1 ml de esta solución o suspensión representa una dosis de 1 mg/l, cuando se agrega a una muestra de agua de 1 litro, mientras que cada 1.0 ml de la solución de dosificación representa una dosis de 10 mg/l en 1 litro de muestra. (Véase la sec. 6 para el procedimiento de ensayo que debe seguirse cuando se utilicen estas soluciones o suspensiones).

Nota: Si en el paso 4.1 (a) se pesan 17.1 g del material, cada 1.0 ml de la solución resultante representa una dosis de 1 grano por galón US, al agregarse a 1 litro de muestra. Si se emplean 14.3 g en el paso 4.1 (a), cada 1.0 ml representa un grano por galón imperial, cuando se agrega a 1 litro de muestra.

4.2. Solución para dosificación de la sílice activada. La sílice activada se prepara por la acidulación de una solución madre de sílice (n. del t.: más propiamente de "silicato de sodio") con cualquiera de las siguientes sustancias: sulfato de amonio, sulfato de aluminio, ácido sulfúrico, bióxido de azufre, cloro o bióxido de carbono. Los reactivos disponibles en una determinada planta potabilizadora dictan, en gran parte, el agente de acidulación que se seleccione. La sílice activada se prepara en dos etapas. Se prepara primero la solución alcalina de silicato de sodio y, a continuación, se le hace reaccionar con el agente de acidulación, para formar el sol de sílice activada. Para propósitos de ilustración en este procedimiento se ha seleccionado al sulfato de amonio como sustancia aciduladora:

a) Solución madre de silicato de sodio. Se pesan 348.4 g de silicato de sodio (solución de silicato de sodio marca "N", un producto de Philadelphia Quartz Co., Philadelphia, Pa., E. U. de A.). Se disuelve en 500 ml de agua destilada. Se diluye a 1 litro con agua destilada. Esta solución es indefinidamente estable.

b) Solución madre de sulfato de amonio. Se pesan

66.0 g de sulfato de amonio, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Se disuelven en 980 ml de agua destilada. Esta solución es indefinidamente estable.

c) Preparación del sol de sílice activada:

1) Se vierten 20 ml de agua destilada en una probeta graduada de 100 ml. Se agregan 10 ml de la solución madre de silicato de sodio y se invierte cuatro veces para mezclar.

2) Se agregan 10 ml de la solución madre de sulfato de amonio y se invierte 10 veces para mezclarla. Se diluye a 100 ml con agua destilada y se invierte 10 veces para mezclarla. El sol de sílice activada se prepara diariamente.

3) Cada 0.1 ml de este sol de sílice activada representa una dosis de 1 mg/l, cuando se agrega a una muestra de agua de 1 litro, mientras que cada 1.0 ml del sol de sílice activada representa una dosis de 10 mg/l en 1 litro de agua. Véase la sec. 6.14 (c) relativa al procedimiento de ensayo por seguir cuando se emplea este sol.

4.3. Suspensión para la dosificación de carbón activado:

a) Se pesa 1.0 g de carbón activado. Se pasa cuidadosamente el polvo pesado a un frasco con tapón de cristal.

b) Se agregan 1,000 ml de agua inodora. Se tapa el frasco y se agita bien para suspender completamente todo el carbón. La suspensión se agita inmediatamente antes de usarla.

c) Cada 1 ml de esta suspensión representa una dosis de 1 mg/l cuando se agrega a una muestra de agua de 1 litro. (Véase la sec. 8 sobre el procedimiento de ensayo por seguir cuando se usa esta suspensión).

4.4. Las soluciones o suspensiones para la dosificación se preparan con la siguiente frecuencia (usando, para los frascos, tapones herméticos, que eviten la oxidación o carbonatación de aquellas soluciones que se deben preparar de acuerdo a un programa diario o semanal):

a) Diariamente: sulfato ferroso, sílice activada, sulfato férrico, cal, aluminato de sodio.

b) Semanariamente: carbonato de sodio, polielectrolitos.

c) Mensualmente: arcilla, caolín, polvo de piedra.

d) Semianualmente: sulfato de aluminio, carbón activado.

5. REACTIVOS

Deben consultarse las secciones correspondientes, en este Manual, en relación con los reactivos que se necesitan para la determinación del color, turbiedad, valor del pH, alcalinidad a la fenoltaleína y total, dureza, calcio y bióxido de carbono libre, cuando son necesarias tales determinaciones.

6. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO PARA EL PROCESO COAGULACION

El procedimiento básico se describe en las sec. 6.1 a 6.13. Aquellas variaciones relacionadas con la adición de agentes alcalinos, suspensiones de arcillas o sol de sílice activada, se tratan en la sec. 6.14. Cuando el agua contiene color natural, se agrega la dosis de alumbre antes que los otros agentes o los co-coagulantes.

6.1. Se enjuagan seis vasos de precipitados, de 1,500 ml, con agua corriente permitiendo que escurran por unos cuantos minutos, colocándolos boca abajo. Los vasos que tienen varios días de uso se deben lavar interior y exteriormente con un cepillo y con un detergente casero para lavado de loza, terminando la limpieza con un buen enjuague de agua corriente.

6.2. Se limpian las paletas del aparato de agitación con una tela húmeda.

6.3. Se recolecta la muestra de agua cruda, teniendo presente que los pasos 6.4 al 6.8 deben quedar terminados dentro de un lapso de 20 minutos. Si el trabajo se tiene que interrumpir durante esta fase crítica, se desecha la muestra y se procura una muestra reciente. En otra forma, la sedimentación de gran parte de la turbiedad y el aumento en la temperatura de la muestra, por el calor del laboratorio, pueden conducir a resultados erróneos.

6.4. Se voltean los vasos a su posición normal y se vierte, en cada uno de ellos, más de 1 litro del agua cruda.

6.5. Tomando un vaso de precipitados en cada ocasión, se trasvasa algo de agua cruda, entre el vaso y una probeta graduada de 1,000 ml. Finalmente, se llena la probeta graduada hasta el aforo de 1,000 ml y se desecha el exceso de agua cruda del vaso de precipitados. Se regresa al vaso la muestra con volumen de 1 litro.

6.6. Se colocan todos los vasos que contienen los volúmenes de muestra de 1 litro en el aparato de agitación.

6.7. Con una pipeta graduada, se agregan dosis crecientes de la solución coagulante (4.1) tan rápidamente como sea posible. La serie de dosis se selecciona en forma tal, que el primer vaso represente un tratamiento deficiente o subtratamiento, y que el último vaso represente un exceso de tratamiento o sobretatamiento. Cuando se ha establecido una serie adecuada, la sucesión de vasos debe mostrar resultados de coagulación calificables como pobre, regular, buena y excelente, al finalizar la prueba. Será necesario repetir la prueba de potabilización una o dos veces más, hasta conseguir la serie adecuada que conduzca a los resultados deseados. (No es recomendable, en este manual, la sugestión de una serie específica de dosis de coagulante porque la coagulación depende del valor del pH y de la cantidad de turbiedad, color, alcalinidad y sustancias minerales disueltas, lo mismo que de la naturaleza del coagulante que se agrega).

6.8. Se bajan las paletas de agitación dentro de los

vasos, se pone en marcha el aparato agitador y se opera, por un minuto, a una velocidad de 60 a 80 revoluciones por minuto.

6.9. Se reduce la velocidad del agitador, en los siguientes 30 segundos, a 30 revoluciones por minuto y se continúa la agitación a esta velocidad por 15 minutos exactos. (Véase la sec. 9.1 para una discusión de las variaciones en el tiempo de agitación).

6.10. Obsérvese cada vaso de precipitados para determinar la aparición de flóculo, de "punta de alfiler", registrando el tiempo y el orden de tales apariciones.

6.11. Se detiene el aparato de agitación y se permite que las muestras se sedimenten por 5, 15, 30 ó 60 minutos. Se observan los flóculos y se registra el orden de sedimentación. Se describen los resultados como pobres, regulares, buenos o excelentes. Una muestra brumosa indica una coagulación pobre o deficiente. El agua apropiadamente coagulada contiene partículas de flóculos que se encuentran bien formadas, y el líquido entre las partículas es claro. La dosis más baja de coagulante, capaz de abatir la turbiedad durante la prueba de potabilización, debe ser la primera que se pruebe en la operación de la planta. (Véase la sec. 9.2 para una discusión sobre las variaciones en el tiempo de sedimentación).

6.12. Por medio de una pipeta de 100 ml se extrae, de cada vaso, la porción superior de la muestra a unos 4 cm de profundidad.

6.13. Se determinan el color, la turbiedad, el valor del pH y la alcalinidad a la fenolftaleína y total de la muestra coagulada, siguiendo las instrucciones contenidas en las secciones correspondientes de este Manual.

6.14. Variaciones que implican la adición de otros agentes:

a) Adición de agentes alcalinos. Cuando el agua es deficiente en alcalinidad natural, agréguese al agua una solución dosificante bien agitada, de cal o una solución de carbonato de sodio, o una combinación de ambas. (Se preparan como se indica en la sec. 4.1: véase el cuadro número 3 para conocer las cantidades de ceniza de soda o de cal necesarias para neutralizar los diferentes coagulantes). Se determina, por experimentación, si la cal o el carbonato de sodio deben agregarse antes o después del coagulante para lograr los mejores resultados. Después se sigue con el procedimiento de las sec. 6.1 a 6.13.

b) Adición de las suspensiones de arcilla. Cuando se usa la arcilla para mejorar la coagulación de aguas de baja turbiedad, se agrega una suspensión bien agitada de arcilla, caolín o polvo de piedra (preparadas en la forma indicada en la sec. 4.1) justamente antes del coagulante. Después se sigue con el procedimiento de las sec. 6.1 a 6.13.

c) Adición de sílice activada. Cuando se emplea la sílice activada como co-coagulante, la dosis del sol de sílice activada (4.2) que se aplique, ha de variar de 1 a 7 mg/l. En promedio, se obtienen resultados satisfac-

torios con dosis de sílice activada de 2 a 5 mg/l. Se determina, por experimentación, si el sol de sílice activada se debe agregar, para obtener mejores resultados, antes o después del coagulante. Después se sigue con el procedimiento de las secciones 6.1 a 6.13.

7. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO PARA EL PROCESO DE ABLANDAMIENTO CON CAL Y CARBONATO DE SODIO

7.1. Se determina la dureza, la alcalinidad total, la fenolftaleína, el calcio y el bióxido de carbono libre, en la forma que se describe en las secciones correspondientes de este manual.

7.2. Se calculan las dosis de cal, carbonato de sodio, o de ambas, necesarias para el ablandamiento del agua (véase el cuadro número 4 para los reactivos requeridos de cada constituyente). Tomando como base estos cálculos, se preparan las suspensiones y soluciones para la dosificación, en la forma indicada en la sección 4.1.

7.3. Se miden, con una probeta graduada, muestras de 1 litro de agua cruda, en uno, o más, vasos de precipitados de 1,500 ml.

7.4. Se bajan las paletas de agitación dentro de los vasos y se pone en marcha el aparato agitador, que se fija a 30 revoluciones por minuto.

7.5. Con una pipeta graduada, se agrega la suspensión dosificante de cal bien agitada y, si se utiliza la solución dosificante de carbonato de sodio.

7.6. Se mantiene en operación el aparato agitador a 30 revoluciones por minuto, durante 30 minutos.

7.7. Se detiene el funcionamiento del aparato de agitación y se permite la sedimentación de la muestra, hasta que el líquido quede bastante claro (por lo general, al cabo de 10 a 15 minutos).

7.8. Por medio de una pipeta de 100 ml se extraen del vaso de precipitados dos o tres porciones de la porción superficial de la muestra, a unos 75 mm de profundidad.

7.9. Las porciones extraídas, se combinan y se calientan a una temperatura de 25°C.

7.10. Se filtra a través de papel filtro de retentividad media.

7.11. Se determina la dureza, la alcalinidad a la fenolftaleína, y el valor del pH, como se describe en este manual.

8. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO PARA EL PROCESO CON CARBÓN ACTIVADO

8.1. Se limpian y se cepillan, con un detergente inodoro, los vasos, de precipitados, los filtros de tubo, el balde para recolección de muestras y las paletas del

CUADRO 3

REACTIVOS ALCALINOS QUE SE REQUIEREN PARA NEUTRALIZAR COAGULANTES

Para neutralizar 1 mg/l de:	Se requiere la siguiente cantidad de:				
	Cal pura, mg/l	Cal viva comercial (90% pureza) mg/l	Cal hidratada comercial (93% pureza) mg/l	Carbonato de sodio puro mg/l	Carbonato de sodio comercial (98% pureza) mg/l
Sulfato de aluminio (alumbre)	0.25	0.28	0.35	0.48	0.49
Sulfato ferroso (caparrosa)	0.20	0.22	0.28	0.38	0.39
Sulfato férrico (90%)	0.38	0.42	0.54	0.72	0.73
Sulfato férrico-cloruro férrico (caparrosa clorada)	0.30	0.33	0.42	0.57	0.58

CUADRO 4

REACTIVOS DE ABLANDAMIENTO QUE SE REQUIEREN PARA REDUCIR LA DUREZA

Para reducir 1 mg/l de lo siguiente:	Se requiere la siguiente cantidad de:				
	Cal pura, mg/l	Cal viva comercial (90% pureza) mg/l	Cal hidratada comercial (93% pureza) mg/l	Carbonato de sodio puro mg/l	Carbonato de sodio comercial (98% pureza) mg/l
Dureza no carbonatos*				1.06	1.08
Dureza de bicarbonatos**	0.56	0.62	0.79		
Bióxido de carbono libre	1.27	1.41	1.79		
Magnesio***	2.31	2.56	3.26		

* Existe dureza de no carbonatos si la dureza total excede a la alcalinidad total; se calcula deduciendo la alcalinidad total de la dureza total EDTA (cuando ambos se expresan en términos de "mg/l de carbonato de calcio").

** Lo mismo que la alcalinidad de bicarbonato (véase Alcalinidad, Cuadro Núm. 1). Las concentraciones se expresan en términos de "mg/l de carbonato de calcio".

*** Para calcular el contenido de magnesio en mg/l, se deduce la dureza cálcica (en "mg/l de carbonato de calcio") de la dureza total (en "mg/l de carbonato de calcio") y el resultado se multiplica por 0.243.

aparato agitador. Se enjuagan perfectamente con agua inodora.

8.2. Con una probeta graduada, se miden muestras de 1 litro del agua que contiene con olor, tomadas en un sitio de la planta aguas arriba del punto de aplicación del carbón.

8.3. Se vierten los volúmenes medidos de muestras de agua con contenido de olor en cinco vasos de precipitados separados. Una de las muestras se usa como testigo.

8.4. Con una pipeta graduada se agregan dosis crecientes de la suspensión de dosificante de carbón, (4.3) bien agitada, a cuatro de las muestras. Se selecciona una serie de dosis de tal modo que el primer vaso represente un subtratamiento y el último vaso represente un sobretatamiento. Puede ser necesario repetir la prueba de potabilización una o dos veces, hasta conseguir la serie adecuada que conduzca a los resultados deseados.

8.5. Se bajan las paletas de agitación dentro de los vasos, se pone en marcha el aparato y se mezclan las muestras durante 30 minutos, a 30 revoluciones por minuto.

8.6. Con una pipeta graduada, se agrega a las cinco muestras, (incluyendo el testigo), la misma cantidad de coagulante y de los otros reactivos que se apliquen en la operación de la planta.

8.7. Se aumenta, por 1 minuto, la velocidad de rotación a 60 u 80 revoluciones por minuto.

8.8. Se reduce la velocidad de rotación, en los siguientes 30 segundos, a 30 revoluciones por minuto, y se continúa la agitación a 30 revoluciones por minuto, en los siguientes 15 minutos.

8.9. Se detiene el aparato de agitación y se permite que las muestras se sedimenten por 5 a 15 minutos.

8.10. Se filtra cada una de las muestras a través de un filtro de tubo, que contenga un tapón con abundante lana de vidrio, previamente lavado con agua inodora.

8.11. Se determina la cualidad del sabor y el olor de cada filtrado, según se describe en la sección sobre Sabor y Olor, sec. 5.

8.12. Tomando como base este ensayo de laboratorio, se inicia el proceso de tratamiento, a la escala de la planta, con la dosis mínima que produzca una agua satisfactoria. Por tanteos, se reduce la dosis de carbón activado hasta que se haya alcanzado la dosis mínima requerida para lograr un sabor agradable.

9. APLICACIONES PRACTICAS DE LAS PRUEBAS DE POTABILIZACION

9.1. Variación del tiempo de agitación. El procedimiento especifica un tiempo exacto de agitación de 15 minutos, a 30 rpm. Esta cifra arbitraria sólo es de valor real cuando dos plantas potabilizadoras, a cierta distan-

cia una de la otra, desean comparar los resultados de una investigación sobre un coagulante o co-coagulante en particular. El período de agitación de 15 minutos resulta demasiado breve en plantas potabilizadoras de agua, con un período de floculación de 40 a 60 minutos, y demasiado prolongado en las plantas antiguas, en las que sólo se conceden 5 minutos de floculación. El operador debe aumentar o disminuir el tiempo de agitación de 15 minutos para que se equipare con el tiempo de floculación de la planta.

También las condiciones de operación en la planta pueden influir para cambiar el período de agitación del laboratorio. Por ejemplo, el período de floculación en una planta que trabaja a 220 litros por segundo (lps), en el invierno, puede ser de 40 minutos, mientras que en verano una tasa de bombeo de 440 litros por segundo, con reducir el período de floculación a 20 minutos. En el segundo caso, el tiempo de agitación se debe reducir proporcionalmente. Deben efectuarse ajustes similares cuando en una planta, con tres tanques de floculación sedimentación, trabajando en paralelo, se tiene un período normal de floculación de 30 minutos, pero que, al quedar fuera de servicio un tanque por reparaciones o limpieza, se reduce el período efectivo de floculación.

9.2. Variación del período de sedimentación. Un período de sedimentación de 5 minutos puede ser útil, si se justifica como conclusión posterior al finalizar el período de agitación. Por ejemplo, una muestra puede aparentar un buen comportamiento durante la agitación, sin embargo, al suspenderse ésta, los flóculos grandes pueden ser incapaces de sedimentarse en 15 ó 20 minutos. Por otro lado, con una dosis más elevada y presentando exactamente la misma apariencia, es posible que otra muestra comience a sedimentarse bien en menos de 5 minutos mostrando rápidamente un cielo limpio, de más de 1 cm de espesores, de agua clara, en la parte en el estrato superior del vaso de precipitados. Bajo tales circunstancias, pudiera ser preferible la dosis más elevada. La idea general es emplear en la operación de la planta la dosis más baja que produzca un flóculo bien formado, de rápida sedimentación, que muestre agua clarificada entre las partículas.

9.3. Comparación de los distintos coagulantes. Cuando se ha encontrado la dosis óptima para cada uno de los diferentes coagulantes ensayados, se puede hacer una última prueba de potabilización en la cual cada coagulante se aplica con dosificación óptima, en un vaso de precipitados por separado. Al final de la prueba se pueden comparar los coagulantes sobre la base de velocidad en la formación de los flóculos, tamaño de los mismos, concentración de los flóculos, velocidad de sedimentación, claridad aparente del agua entre las partículas de flóculos, turbiedad, valor del pH, alcalinidad, color del agua después de la sedimentación y costo por metro cúbico.

9.4. Valuación de la necesidad de co-coagulante. Las

aguas muy turbias generalmente coagulan bastante bien, tanto en invierno como en verano. Sin embargo, las aguas relativamente claras y frías presentan problemas de coagulación, por la falta de núcleos para los flóculos y porque las bajas temperaturas hacen más lento el proceso de coagulación. En el invierno, una turbiedad coloidal como de arcilla puede ser particularmente molesta. Bajo tales condiciones, la sílice activada y algunos otros materiales comerciales que, en forma un tanto vaga, se denominan "polielectrolitos" han demostrado ser de utilidad.

La sílice activada emplea, con frecuencia, como coagulante con el sulfato de aluminio. Para comprobar la necesidad y efectividad de esta o cualquiera otra combinación de coagulantes, la prueba de potabilización se debe desarrollar en la forma normal, usando sólo sulfato de aluminio en la primera serie. Se determinan la dosis óptima de alumbre y la turbiedad del agua después de la sedimentación. A continuación, se repite la prueba, aplicándose 5 mg/l de suspensión de sílice activada a cada muestra de 1,000 ml de agua cruda, antes de la adición de las distintas dosis de alumbre. La serie de pruebas se repite por tercera ocasión, agregando la sílice activada después de las distintas dosis de alumbre. Los resultados de todas estas pruebas deben indicar si la aplicación de la sílice activada realmente mejora la coagulación, por la formación más rápida de flóculos más grandes, más firmes y de más rápida sedimentación. Se debe anotar la mejor secuencia para la adición de la sílice activada, lo mismo que cualquier ahorro en el sulfato de aluminio. Finalmente, se verifica una cuarta serie para determinar la dosis óptima de sílice activada. Todas las muestras reciben la misma dosis económica de alumbre y sólo se varía la dosis de sílice activada de 1 a 7 mg/l, agregándose antes o después del alumbre, según se haya encontrado mejor en los experimentos previos.

9.5. Comprobación de la eficiencia de la planta. Las pruebas de potabilización ayudan a descubrir deficiencias en el diseño de una planta. Se verifica, en la forma aceptada, la primera serie de experimentos para determinar la dosis real de coagulante que es necesaria para la operación de la planta. En la segunda serie se agrega a todos los vasos de precipitados la dosis óptima de coa-

gulante que se definió en la primera serie y se retiran los vasos separadamente, del aparato de agitación, a intervalos de 5 ó 10 minutos, hasta un total de 40 minutos, para encontrar el período óptimo de agitación. Aplicando el período óptimo de operación, que se encontró en la segunda serie, se verifica una tercera serie en la que se varían las dosis de coagulantes, para precisar si se puede aplicar una dosis más económica de coagulante con el nuevo período de agitación. Estos experimentos pueden revelar defectos en los procesos de mezcla, floculación y sedimentación de una planta antigua, así como la necesidad de introducir mejoras tales como dosificadores de coagulantes más precisos, mejor equipo mecánico de mezcla y floculación, así como períodos más prolongados para la mezcla, floculación y sedimentación. Es obvio que cualquiera conclusión que se obtenga de una serie de pruebas de potabilización se debe relacionar y limitar a una determinada planta de potabilización y al agua de determinado abastecimiento. En este aspecto, se ha demostrado que pueden ser peligrosas las generalizaciones sobre las plantas potabilizadoras y sobre los abastecimientos de agua.

9.6. Reacciones de ablandamiento. Las pruebas de potabilización comprueban las dosificaciones calculadas para de cal y carbonato de sodio, que necesita la planta potabilizadora. Se usa una agitación suave en todo el transcurso de las pruebas debido a la lentitud de la reacción que tiene lugar entre los componentes de la dureza y la cal y el carbonato de sodio.

Se encuentra fuera de los propósitos de este libro una discusión completa de los diversos procesos de ablandamiento con cal y carbonato de sodio. El proceso de ablandamiento se debe ajustar al agua de un abastecimiento particular. La práctica usual es ablandar el agua a una dureza de 50 a 100 mg/l, como carbonato de calcio, y reducir la dureza de carbonatos, en términos de carbonato de calcio, a 35 ó 40 mg/l. El carbonato de sodio o cenizas de soda, es el más costoso de los reactivos de ablandamiento y, por lo general, se reserva para la eliminación de la dureza de no carbonato. El cuadro núm. 3 indica la forma de cálculo de las cantidades aproximadas de reactivos que son necesarias para el ablandamiento.

Manganeso

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

El manganeso produce problemas de lavandería y de manchas, similares a las del hierro, excepto que las manchas y los depósitos son más oscuros y, con frecuencia, más persistentes. Los problemas se acentúan porque el manganeso rara vez se presenta en forma aislada, pero sí por lo general, en coexistencia con el hierro, en espe-

cial en aguas de pozos. Resulta indispensable su eliminación cuando el manganeso alcanza un nivel molesto, que puede ser tan bajo como 0.1 mg/l.

2. ADVERTENCIA

De los constituyentes comunes de las aguas naturales, pocos afectan esta prueba. La muestra debe encon-

trarse exenta de turbiedad y color, que no se puedan eliminar por la ebullición preliminar descrita en el paso 5.4. Debe consultarse la última edición de los *Métodos Estándar*, con respecto a las instrucciones sobre la forma de enfrentarse a muestras que contienen una cantidad considerable de materia orgánica o en exceso de 1,000 mg/l de cloruros.

3. APARATOS

- 3.1. Diez, o más, matraces Erlenmeyer de 250 ml.
- 3.2. Una bureta de 25 ml, o pipetas apropiadas, para la medición de la solución patrón de manganeso.
- 3.3. Una probeta graduada, de 100 ml, para medir el agua destilada y la muestra.
- 3.4. Una pipeta para la medición de la solución mixta de reactivo.
- 3.5. Un mechero de gas o una plancha eléctrica.
- 3.6. Uno, o más, cuadrados de tela de alambre, de 20 mallas.
- 3.7. Perlas de vidrio.
- 3.8. Uno, o más, agitadores de varilla de cristal.
- 3.9. Diez, o más, tubos de Nessler de 100 ml, pareados, forma alta, con su gradilla.
- 3.10. Piceta para lavar el matraz, las perlas de vidrio y los agitadores.

4. REACTIVOS

- 4.1. Solución madre de manganeso:
 - a) Se pesan, en balanza analítica, 0.308 de sulfato manganeso monohidratado, en estado seco ($MnSO_4 \cdot H_2O$). Con todo cuidado se transfiere el reactivo pesado a un vaso de precipitados de 250 ml y se disuelve en 100 ml de agua destilada.
 - b) Con precaución se agrega 1 ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), con agitación constante.
 - c) Se transfiere la solución ácida a un matraz aforado de un litro, se enjuaga el vaso de precipitados con tres porciones de 100 ml de agua destilada. Posteriormente, se diluye hasta el aforo de un litro con agua destilada. Se tapa y se mezcla perfectamente.
- 4.2. Solución patrón de manganeso. Se miden cuidadosamente, con una pipeta volumétrica, 10 ml de la solución madre de manganeso, vertiéndose a un matraz aforado de 100 ml. Se diluye hasta el aforo de 100 ml con agua destilada. Se tapa y se mezcla perfectamente. La solución patrón de manganeso se prepara el día en que se vaya a utilizar, por ser dudosa su estabilidad.
- 4.3. Solución mixta de reactivo:
 - a) Con una probeta graduada de 500 ml se miden 200 ml de agua destilada, que se vierten a un vaso de precipitados de 1,500 ml.

b) Con la misma probeta se miden 400 ml de ácido nítrico concentrado.

c) Mientras se agita con una mano, se agrega el ácido nítrico, lentamente y con precaución, al agua destilada.

d) Se pesan 75 g de sulfato mercúrico ($HgSO_4$), que se disuelven en la Solución (c).

e) Con una probeta graduada de 500 ml, se miden 200 ml de ácido fosfórico al 85 por ciento (H_3PO_4) y se mezcla con la Solución (d).

f) Se pesan, en una balanza analítica, 0.035 g de nitrato de plata ($AgNO_3$), se agrega a la Solución (e) y se mezcla para disolverlo.

g) Se permite que la Solución (f) se enfríe a la temperatura ambiente. A continuación se transfiere a una probeta graduada de un litro y se diluye hasta el aforo de 1,000 ml con agua destilada. Se mezcla perfectamente trasvasando al vaso de precipitados y agitando.

4.4. Persulfato de amonio, en cristales o pulverizado, $(NH_4)_2S_2O_8$.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de los patrones de manganeso:

a) Se prepara la siguiente serie de patrones de manganeso, por la medición de los volúmenes indicados de la solución patrón de manganeso (4.2) en matraces separados de 250 ml:

Solución patrón de manganeso, ml	Manganeso, mg/l
0	0
0.5	0.05
1.0	0.1
2.0	0.2
3.0	0.3
4.0	0.4
6.0	0.6
8.0	0.8
10.0	1.0

b) Se miden, con una probeta graduada, 75 ml de agua destilada, que se agregan a cada matraz.

5.2. Se mezcla perfectamente la muestra y se miden 100 ml de la misma, que se vierten en un matraz de 250 ml que tiene marcado un aforo de 90 ml.

5.3. Se agregan 5 ml de la solución del reactivo mixto a la muestra.

5.4. Se calienta la muestra hasta la ebullición y se hierve hasta que el líquido alcance el aforo de 90 ml. Se

evitan las salpicaduras y la ebullición tumultuosa del líquido, para lo cual se coloca una tela de alambre sobre la fuente de calor, eléctrica o de gas, haciéndose reposar el matraz sobre la misma. Como una precaución más, se agregan 4 ó 5 perlas de vidrio o se pone un agitador de varilla de cristal dentro del matraz.

5.5. A cada patrón de manganeso, preparado según el paso 5.1, se le agregan 5 ml de la solución del reactivo mixto y se mezcla.

5.6. Se pesan porciones de 1 g de cristales de persulfato de amonio y se agregan a cada patrón de manganeso y a la muestra.

5.7. Se calienta el contenido de cada matraz hasta la ebullición a continuación, se hierve a fuego leve por un minuto más. En esta fase debe desarrollarse un color rosa a púrpura en los patrones de manganeso.

5.8. Se retiran los matraces de la fuente de calor y se dejan reposar por 1 minuto, o más.

5.9. Se enfría cada matraz a la temperatura ambiente, exponiéndolos al chorro de agua fría. Esto no se debe demorar, tomando en cuenta que el enfriamiento lento puede conducir a cierta pérdida del color del permanganato.

5.10. Se transfieren los contenidos de los matraces a tubos de Nessler, separados, de 100 ml. Se enjuaga el matraz, las perlas y el agitador con 5 a 10 ml de agua destilada, agregándose el agua de lavado al tubo de Nessler.

5.11. Se agrega suficiente agua destilada para llevar el volumen al aforo de 100 ml.

5.12. Se mezcla cada tubo de Nessler, cuatro o seis veces, por inversión.

5.13. Se compara la muestra con los patrones y se determina, por los colores rosa al púrpura, el contenido de manganeso en mg/l.

Oxígeno Disuelto

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Se considera a la aeración como un proceso aceptado para el tratamiento del agua. Como un primer paso para la eliminación de hierro y manganeso, el oxígeno se introduce en algunas aguas profundas, recién alumbradas, antes de su filtración. En ciertas aguas de pozos, la aeración también reduce los contenidos de gases disueltos, como bióxido de carbono y ácido sulfhídrico, hasta alcanzar niveles adecuados. El sabor y el olor de algunas aguas se mejora por la aeración.

El agua en íntimo contacto con el aire se satura, a menudo con oxígeno, a la temperatura prevalente. Por otra parte, las aguas que se han mantenido aisladas del aire (tales como las de pozos profundos o aquellas de las zonas profundas en lagos estratificados) tienen un contenido reducido o nulo de oxígeno disuelto (OD). El contenido de OD se puede incrementar con el oxígeno producido por las plantas acuáticas, durante su actividad fotosintética. Puede ocurrir una disminución en el OD de una agua superficial cuando aumenta la temperatura del agua o cuando aumenta la carga de polución en la corriente.

El oxígeno disuelto es importante en las aguas, por diversas razones. Con él se mejora la palabilidad del agua. Los peces y otros organismos más pequeños, que viven en el agua, necesitan OD para su supervivencia.

Finalmente, su presencia puede ocasionar corrosión, en especial en sistemas de agua caliente.

2. ADVERTENCIA

Este método (denominado de modificación al nitrato del método de Winkler) es aplicable para la mayoría de las aguas de abastecimiento que se destinan a usos potables. Cuando una agua contiene más de 0.1 mg/l de nitrógeno de nitrito, o más de 1 mg/l de hierro ferroso, o bien, contiene otros agentes reductores u oxidantes, se debe consultar la última edición de los *Métodos Estándar*.

El punto de muestreo debe seleccionarse teniendo en mente los siguientes aspectos: La muestra debe ser representativa del agua del abastecimiento en estudio. Deben tomarse precauciones con respecto a la introducción de aire en el agua durante todas las operaciones de bombeo, aguas arriba del sitio de muestreo. El proceso de tratamiento del agua, con cloro o con bióxido de cloro, aplicado antes de tomar la muestra, ocasiona un error considerable en la determinación, dependiendo la amplitud del error, del valor del residual. Por lo tanto, de ser posible, el sitio de muestreo se debe localizar aguas arriba del punto de aplicación de la cloración.

Debe consultarse la última edición de los *Métodos*

Estándar con respecto a los detalles relacionados con los dispositivos especiales de muestreo necesarios para la recolección de muestras en corrientes, lagunas, tanques y algunas otras fuentes usuales.

3. APARATOS

3.1. Uno, o más, frascos normales para DBO (figura 1), de 250 a 300 ml, de boca angosta y tapones de cristal esmerilado.

3.2. Una probeta graduada de 250 ml.

3.3. Uno, o más, matraces de 500 ml.

3.4. Una bureta de 25 ml, con su soporte.

3.5. Cuatro pipetas graduadas, para servir porciones de 2 ml de los reactivos.

4. REACTIVOS

4.1. Solución de sulfato manganoso:

a) Se pesan 480 g de $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, ó 400 g de $MnSO_4 \cdot 2H_2O$ o 364 g de $MnSO_4 \cdot H_2O$.

b) Se vierte la sal en un vaso de precipitados de 1,500 ml y se disuelve en 600 ml de agua destilada.

c) Se diluye a 1,000 ml con agua destilada, en una probeta graduada de 1,000 ml. Se mezcla perfectamente, trasvasando al vaso y agitando.

4.2. Solución álcali-yoduro-nitruro:

a) Se pesan 500 g de hidróxido de sodio (NaOH), en lentejas, se pasan a un vaso de precipitados de 1,500 ml y se disuelven en 600 ml de agua destilada. Esta operación se debe realizar con cuidado, por la cantidad de humos irritantes que se despiden y por el calor que se genera.

b) Se pesan 150 g de yoduro de potasio (KI), se pasan a un vaso de precipitados de 250 ml y se disuelven en 150 ml de agua destilada.

c) Se agrega la Solución (b) a la Solución (a), con agitación constante y completa.

d) Se transfiere la Solución mixta (c) a una probeta graduada de 1,000 ml y se diluye hasta el aforo de 1,000 ml con agua destilada. Se mezcla perfectamente, trasvasando la solución al vaso de precipitados y agitándola.

e) Se pesan 10 g de nitruro de sodio (NaN_3), que se colocan en un vaso de precipitados de 150 ml y se disuelven en 40 ml de agua destilada.

f) Se agrega la Solución (e) a la Solución (d), con agitación constante y completa. Se conserva en un frasco que tenga un tapón de caucho o de plástico.

4.3. Acido sulfúrico concentrado, H_2SO_4 .

4.4. Solución indicadora de almidón:

a) Se pesa 1 g de almidón de patata, de arruoruz o soluble, y se pasa a un vaso de precipitados de 150 ml.

b) Se agregan 10 ml de agua destilada y se agita

hasta que se haya humedecido el almidón formando una suspensión lechosa.

c) Se vierte esta suspensión en un vaso de precipitados de 250 ml, que contenga 200 ml de agua destilada en ebullición. Agítese la solución y déjese hervir por 3 minutos.

d) Se enfría la solución y se deja sedimentar por una noche.

e) Se vierte el líquido claro sobrenadante. La solución se preserva por la adición de 4 gotas de tolueno. Esta solución se desecha cuando se empiecen a formar moho y desechos en el fondo del frasco.

4.5. Agua destilada hervida. Se siguen las instrucciones establecidas en Bióxido de Carbono, sec. 4.1. Se prepara el agua destilada hervida inmediatamente antes de usarla para la preparación de la solución valorada de tiosulfato de sodio.

4.6. Solución de tiosulfato de sodio, 0.0375 N:

a) Se pesan cuidadosamente, en balanza analítica, 9.307 g de tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$), de calidad reactivo analítico. Se transfiere el reactivo, con todo cuidado, a un vaso de precipitados de 600 ml y se disuelve en 300 ml de agua destilada hervida (4.5). Si es necesario, se calienta suavemente para disolver todos los cristales.

b) Con todo cuidado, se vierte la solución enfriada a un matraz aforado de 1 l, lavando tres veces el vaso con porciones de 100 ml de agua destilada hervida.

c) La solución se preserva por la adición de 0.4 g de hidróxido de sodio, en lentejas. Se mezcla el contenido del matraz aforado para disolver las lentejas.

d) Se diluye hasta el aforo de 1 l con agua destilada hervida (4.5). Se tapa y se mezcla perfectamente.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. La recolección de la muestra se hace en la forma que se describe para Bióxido de Carbono, sec. 5.1 y 5.2. Se emplea un frasco de boca angosta de tapón de cristal, de 250 a 300 ml de capacidad.

5.2. Se mide la temperatura del agua que se está muestreando, en la forma que se describe en Temperatura. Se registra la temperatura.

5.3. Se quita el tapón de cristal del frasco de muestreo. Con una pipeta graduada se agregan 2 ml de solución de sulfato manganoso. La punta de la pipeta se introduce abajo de la superficie del agua, para permitir que la solución pesada fluya sin quedar en contacto con el aire.

5.4. Se agregan, del mismo modo, 2 ml de la solución álcali-yoduro-nitruro.

5.5. Con todo cuidado, se vuelve a colocar el tapón de cristal, en forma tal que no queden aprisionadas burbujas de aire abajo del tapón.

5.6. Se mezcla el frasco, invirtiéndolo varias veces, durante un lapso de 3 minutos.

5.7. Permítase que se sedimente el precipitado resultante, hasta la mitad del frasco.

5.8. De nuevo inviértase el frasco varias veces y, a continuación, déjese reposar hasta que el precipitado se ha sedimentado, cuando menos en una altura equivalente a la de la mitad del frasco.

5.9. Se quita de nuevo el tapón y, con una pipeta graduada, se agregan 2 ml de ácido sulfúrico concentrado.

5.10. Se vuelve a colocar cuidadosamente el tapón, evitando el acceso del aire al frasco. Se lava con agua corriente el exterior del frasco tapado. A continuación, se mezcla varias veces, por inversión, hasta que el precipitado se disuelva completamente y el color, café o amarillo, quede distribuido de modo uniforme.

5.11. Transferir todo el contenido de la botella de DBO (300 ml) a un frasco Erlenmeyer de 500 ml con boca ancha.

5.12. Se llena la bureta con la solución de tiosulfato de sodio y se registra el nivel del líquido, por lectura

en el fondo del menisco. Hay que cuidarse que no existan fugas en el grupo lo cual daría por resultado la pérdida de la solución valorada.

5.13 Se agrega, con la bureta, en forma gradual, pequeñas porciones de la solución de tiosulfato de sodio, mientras se mantiene una constante rotación del matraz, hasta que la muestra cambie a un color amarillo pálido o paja.

5.14. Se agregan al matraz, con una pipeta graduada, 1 ó 2 ml de la solución indicadora de almidón, con lo que se produce un cambio al azul.

5.15. Se continúa la adición de la solución de tiosulfato de sodio, gota a gota, hasta la desaparición del color azul. Se ignora cualquiera reaparición de color durante el reposo.

5.16. Se calcula el volumen de titulación consumido, deduciendo la lectura de la bureta en el paso 5.12 de la lectura en el paso 5.16. La concentración del oxígeno disuelto es el consumo, en mg/l.

Valor del pH

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

La escala de valores del pH mantiene cierta semejanza con un termómetro. La escala de un termómetro mide la intensidad del calor. La escala de valores del pH indica, por otra parte, la intensidad de la acidez y de la alcalinidad. La escala de valores del pH comprende de 0 a 14. El agua con un valor del pH de 7.0 se encuentra en el punto medio de la escala y se considera neutra. Esa agua no es ácida ni alcalina. Un agua que contenga un ácido tiene que mostrar un valor del pH inferior a 7.0. Mientras más fuerte es la intensidad de la acidez, menor será el valor del pH. Un valor de pH de 0 indica que la muestra es muy ácida. También es cierto lo opuesto, para el caso de los álcalis. La alcalinidad eleva los valores del pH a más de 7.0. Un valor del pH de 14 indica que la muestra es intensamente alcalina.

El valor del pH juega un papel importante en ciertos procesos de potabilización, como la cloración, la coagulación, el ablandamiento y el control de la corrosión. La prueba del valor del pH permite al operador de una planta potabilizadora descubrir los cambios que se presenten entre la calidad del agua cruda y del agua potabilizada para proceder de acuerdo con ello a regular la adición apropiada de los reactivos para el mejor desarrollo de las reacciones de clarificación y de ablandamiento. En algunas plantas, el agua terminada se ajusta, con cal o carbonato de sodio, a valores ligeramente al-

calinos del pH, mayores de 8, con el propósito de reducir la corrosión en el sistema de distribución.

2. ADVERTENCIA

Este método sólo es adecuado para la estimación aproximada del valor del pH, en aguas claras e incoloras, con variaciones de valor del pH entre 5.8 y 11.0. Se obtienen los mejores resultados en muestras que no contengan más de 5 unidades de turbiedad y, de preferencia, con menos de 1 unidad de turbiedad. El valor del color del agua también debe ser inferior a 5 unidades.

En un agua ligeramente amortiguada, deficiente en bicarbonatos, el indicador puede contribuir con su propio valor del pH. En tal caso, debe comprobarse el valor del pH mediante el uso de otro indicador, de un ámbito algo diferente de valores del pH. Si se utiliza una muestra de 50 ml, contenida en un tubo de Nessler, en lugar de la muestra usual de 10 ml, se obtiene mayor dilución de la solución indicadora y la posible corrección de esta dificultad. Otro medio para la reducción de esta deficiencia es el ajuste del valor del pH de la solución indicadora misma, hasta el punto medio de su ámbito, por la adición de un álcali o de un ácido 0.02 N.

El cloro destruye o cambia a los indicadores de sulfonftaleína, dando lugar a lecturas bajas erróneas. Por esta razón, la concentración del cloro residual en la mues-

tra no debe exceder de 0.5 mg/l cuando se encuentra como cloro libre disponible, y de 1.0 mg/l cuando está presente como cloro combinado disponible.

Estos importantes defectos de los métodos colorimétricos han conducido a la adopción creciente, en los últimos años, de métodos electrométricos o instrumentales para determinar los valores del pH.

La temperatura ejerce un efecto importante sobre las soluciones amortiguadoras y sobre las determinaciones del valor del pH, siendo una situación que no se puede vencer ni por métodos colorimétricos ni por métodos electrométricos. Por ejemplo, la misma solución puede dar lecturas del valor del pH de 7.6 a 20°C, de 7.8 a 40°C y de 8.0 a 60°C. Las soluciones amortiguadoras, que se describen en la sección 5.1, se han formulado para que rindan los mejores resultados en el ámbito de temperaturas de 18°C a 25°C, que es la escala usual en la temperatura ambiente de muchos laboratorios.

3. APARATOS

3.1. Tubos de ensayo, de 16 × 150 mm, pareados, con gradilla.

3.2. Buretas, de 25 ó 50 ml, o pipetas apropiadas para la medición de los reactivos, en la preparación de las soluciones amortiguadoras.

3.3. Una pipeta graduada de 1 ml, con escala de 0.1 ml, para dosificar la solución indicador.

3.4. Tubos limpios de caucho que se adapten a los tubos de ensayo.

3.5. Una pipeta de 10 ml para la medición de la muestra.

4. REACTIVOS

4.1. Reactivos para la preparación de las soluciones amortiguadoras:

a) Solución de fosfato diácido de potasio:

1) Se pesan, en balanza analítica, 13.62 g de fosfato diácido de potasio (denominado también fosfato monobásico de potasio), KH_2PO_4 . Se pasa cuidadosamente la pesada del reactivo a un vaso de precipitados de 250 ml y se disuelve en 175 ml de agua destilada.

2) Se transfiere la solución a un matraz aforado de 1,000 ml, lavando el vaso con tres porciones de 100 ml de agua destilada. Se diluye hasta el aforo de 1,000 ml con agua destilada. Se tapa y se mezcla perfectamente.

b) Solución de bórax:

1) Se pesan, en balanza analítica, 19.10 g de borato de sodio (llamado también tetraborato de sodio), $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$. Se pasa cuidadosamente la pesada de reactivo a un vaso de precipitados de 250 ml, disolviéndose en 175 ml de agua destilada. Se calienta suavemente para disolver todos los sólidos.

2) Se vierte la solución enfriada a un matraz aforado de 1,000 ml, lavando el vaso con tres porciones de 100 ml de agua destilada. Se diluye hasta el aforo de 1,000 ml con agua destilada. Se tapa y se mezcla con cuidado.

c) Solución de carbonato de sodio:

1) Se pesan, en balanza analítica, 5.30 g de carbonato de sodio, Na_2CO_3 , seco. Se pasa cuidadosamente la pesada del reactivo a un vaso de precipitados de 250 ml y se disuelve en 150 ml de agua destilada.

2) Se vierte la solución a un matraz aforado de 1,000 ml, se lava el vaso tres veces con porciones de 100 ml de agua destilada. Se diluye posteriormente hasta el aforo de 1,000 ml con agua destilada. Se tapa y se mezcla cuidadosamente.

4.2. Soluciones indicadoras:

a) Solución de indicador de azul bromotimol, para el ámbito de valores del pH de 6.0 a 7.6. En balanza analítica se pesa 0.100 g de la sal sódica pulverizada de azul bromotimol (también denominada *sal sódica pulverizada de 3', 3''-dibromotimolsulfoneftaleína*). Se disuelve en 250 ml de agua destilada.

b) Solución de indicador de rojo fenol, para el ámbito de valores de pH de 6.8 a 8.4. Se pesa, en balanza analítica, 0.100 g de la sal sódica del rojo fenol (también denominada *sal sódica pulverizada de fenolsulfoneftaleína*). Se disuelve en 250 ml de agua destilada.

c) Solución de indicador de azul timol, para el ámbito de valores de pH de 8.0 a 9.6. Se pesa, en balanza analítica, 0.100 g de la sal sódica pulverizada de azul timol (llamado también *sal sódica de timolsulfoneftaleína*). Se disuelve en 250 ml de agua destilada.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de las soluciones amortiguadoras:

a) Se prepara la serie siguiente de soluciones amortiguadoras, en el ámbito de valores del pH de 5.8 a 9.2 midiendo, en tubos de ensayo separados, los volúmenes que se indican de la solución de fosfato diácido de potasio y de la solución de bórax:

Solución de fosfato diácido de potasio, ml	Solución de bórax, ml	Solución amortiguadora, valor de pH
9.3	0.7	5.8
8.9	1.1	6.0
8.4	1.6	6.2
7.9	2.1	6.4
7.3	2.7	6.6
6.7	3.3	6.8
6.3	3.7	7.0
5.9	4.1	7.2

Solución de fosfato diácido de potasio, ml	Solución de bórax ml	Solución amortiguadora Valor de pH
5.6	4.4	7.4
5.3	4.7	7.6
5.1	4.9	7.8
4.8	5.2	8.0
4.5	5.5	8.2
4.0	6.0	8.4
3.4	6.6	8.5
2.8	7.2	8.8
1.8	8.2	9.0
0	10.0	9.2

b) Se prepara la siguiente serie de soluciones amortiguadoras, en el ámbito de valor del pH de 9.2 a 11.0 midiendo, en tubos de ensayo separados, los volúmenes que se indican de la solución de carbonato de sodio y de la solución de bórax:

Solución de carbonato de sodio, ml	Solución de bórax, ml	Solución amortiguadora, valor del pH
3.6	6.4	9.4
5.6	4.4	9.6
6.7	3.3	9.8
7.5	2.5	10.0
8.2	1.8	10.2
8.7	1.3	10.4
9.2	0.8	10.6
9.5	0.5	10.8
9.7	0.3	11.0

c) Se selecciona y se prepara cualquier número menor de soluciones amortiguadoras a partir de las series antes indicadas, si las variaciones en el valor del pH, en la planta, caen dentro de ámbitos más restringidos.

d) Con una pipeta graduada de 1 ml se agregan 0.40 ml de la solución indicadora apropiada a cada tubo de solución amortiguadora. Se agita con suavidad, para lograr una mezcla completa. Se observa que:

1) La serie de soluciones amortiguadoras que contienen la solución indicadora de azul bromotimol, 4.2 (a), cambia gradualmente de un color amarillo, a valor de pH de 6.0, o menos, a un color azul, a valor de pH de 7.6 y superiores.

2) La serie de soluciones amortiguadoras, que contienen la solución indicadora de rojo fenol, 4.2 (b), cambia gradualmente de un color amarillo, a valor de pH de 6.8 o menos, a un color rojo, a valor de pH de 8.4 o más.

3) La serie de soluciones amortiguadoras que contienen la solución indicadora de azul timol, 4.2 (c), cambian gradualmente de un color amarillo, a valor de pH de 8.0, o menos, a un color azul, a un valor de pH de 9.6, o más.

e) Se protegen estas soluciones amortiguadoras, cerrándolas herméticamente con tapones limpios de caucho, si es que se pretende usar estas soluciones por un mes, o más.

5.2. Determinación del valor del pH de una muestra:

a) Con una pipeta graduada de 1 ml se vierten 0.4 ml de la solución indicadora apropiada a un tubo de ensayo perfectamente limpio.

b) Se agregan, con una pipeta, 10 ml de la muestra. Se mezclan suavemente la muestra y el indicador, con la misma pipeta.

c) Se compara la muestra con las soluciones amortiguadoras preparadas conforme al paso 5.1 (d). Se coloca una hoja de papel blanco detrás de los tubos y se observan lateralmente los tubos. Para mejores resultados, la muestra colorida se mueve de agujero en agujero en la gradilla, hasta que el color de la muestra corresponde con una de las soluciones amortiguadoras coloridas, o caiga entre dos soluciones amortiguadoras consecutivas, que presenten la mayor aproximación del color.

Fosfato

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Los fosfatos rara vez se encuentran presentes, en cantidades de consideración en las aguas naturales utilizadas para fines de consumo, aunque se pueden agregar en una de sus varias formas durante los procesos de tratamiento. El hexametáfosfato de sodio y los polifosfatos

relacionados con el mismo, se aplican en ocasiones a las aguas en pequeñas dosis para prevenir o demorar la precipitación del hierro o la corrosión o para el control de la deposición de incrustaciones de carbonato de calcio en los sistemas de distribución. Las aguas de alimentación de calderas se tratan, algunas veces, con sales de fosfatos, para reducir la formación de incrustaciones.

El procedimiento de la sec. 5 se divide en dos partes. La sección 5.1, Determinación del Ortofosfato, describe los pasos por seguir cuando se usan sales de fosfatos simples, para el tratamiento de aguas de alimentación de calderas. Debe seguirse la sección 5.2, Determinación del Fosfato Total, cuando se utilizan metafosfato y polifosfatos de sodio durante el proceso de tratamiento.

2. ADVERTENCIA

Los procedimientos son adecuados para aguas claras e incoloras. Para salmueras con un alto contenido de cloruros y para aguas que contienen más de 1 mg/l de hierro férrico, nitrito o agentes oxidantes, como cromatos, debe consultarse la última edición de los *Métodos Estándar*.

3. APARATOS

3.1. Ocho, o más, tubos de Nessler de 100 ml, pareados, forma alta, con gradilla.

3.2. Una bureta de 25 ml, o pipetas apropiadas para la medición de la solución patrón de fosfato.

3.3. Una pipeta para la medición del reactivo ácido de molibdato.

3.4. Una pipeta-gotero o un gotero medicinal para la adición del reactivo de cloruro estano.

Además, para la determinación del fosfato total se necesita lo siguiente:

3.5. Una probeta graduada, de 100 ml, o pipetas volumétricas apropiadas, para la medición de la muestra.

3.6. Uno, o más, matraces Erlenmeyer de 250 ml.

3.7. Pipetas-goteros o goteros medicinales, de 0.5 a 1.0 ml de capacidad para la adición de la solución indicadora de fenolftaleína, solución ácida y solución de hidróxido de sodio.

3.8. Un mechero de gas o una plancha eléctrica para calentamiento.

3.9. Uno, o más, cuadrados de tela de alambre, de 20 mallas.

3.10. Cuatro, o más, perlas de vidrio.

3.11. Uno o más, agitadores de cristal.

3.12. Una pipeta para el lavado de matraces, perlas y agitadores.

4. REACTIVOS

4.1. Solución madre de fosfato:

a) En una balanza analítica se pesan 0.7165 g de fosfato diácido de potasio, en estado seco (llamado también *fosfato monobásico de potasio*), KH_2PO_4 . Se transfiere con cuidado a un vaso de precipitados de 250 ml y se disuelve en 100 ml de agua destilada.

b) Se pasa la solución a un matraz aforado de 1,000 ml, lavando el vaso con tres porciones de 100 ml de agua destilada y diluyendo, posteriormente, hasta el aforo de 1,000 ml con agua destilada. Se tapa y se mezcla perfectamente.

4.2. Solución patrón de fosfato. Se miden cuidadosamente, con una pipeta volumétrica, 10 ml de la solución madre de fosfato, que se vierten en un matraz aforado de 1,000 ml. Se diluye hasta el aforo de 1,000 ml con agua destilada. Se tapa y se mezcla perfectamente.

4.3. Solución ácida de molibdato:

a) Se miden 400 ml de agua destilada, con una probeta de 500 ml, y se vierten en un vaso de precipitados de 1,500 ml.

b) Se miden 280 ml de ácido sulfúrico concentrado, H_2SO_4 , con una probeta graduada de 500 ml.

c) Mientras con una mano se agita constantemente el agua destilada, se le agrega con toda precaución el ácido sulfúrico. Se genera un intenso calor al mezclarse el ácido sulfúrico con el agua destilada, por lo que el ácido se debe verter lentamente, mezclando bien, para evitar que ocurran salpicaduras peligrosas.

d) Se permite que la Solución (c) se enfríe a la temperatura ambiente.

e) Se pesan 25 g de molibdato de amonio (NH_4)₆ $\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, que se colocan en un vaso de precipitados de 250 ml y se disuelven en 175 ml de agua destilada.

f) Se agrega la solución de molibdato a la solución de ácido, que se ha dejado enfriar, se diluye a 1 litro con agua destilada y se mezcla perfectamente.

4.4. Solución de cloruro estañoso:

a) Se pesan 2.5 g de cloruro estañoso ($\text{SnCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y se colocan en un frasco refractorio pyrex de 250 ml.

b) Con una probeta graduada se miden 100 ml de glicerol o glicerina, de calidad de reactivo analítico, que se agregan al frasco. Se pone el frasco en baño maría caliente y se agitan los reactivos con un agitador de cristal hasta que se disuelva completamente el cloruro estañoso.

Además de los anteriores, se necesitan los siguientes reactivos para la determinación del fosfato total:

4.5. Solución indicadora de fenolftaleína. Se pesan 0.5 g de la sal disódica, pulverizada, de fenolftaleína, disolviéndose en 100 ml de agua destilada.

4.6. Solución ácida:

a) Se miden, con una probeta graduada de 1,000 ml, 600 ml de agua destilada y se vierten en un vaso de precipitados de 1,500 ml.

b) Se miden, con una probeta graduada de 500 ml, 300 ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4).

c) Mientras con una mano se agita constantemente el agua destilada, se le agrega lentamente, y con toda precaución, el ácido sulfúrico. Se genera un intenso calor al mezclarse el ácido sulfúrico con el agua destilada, por lo que el ácido se debe verter lentamente, mezclan-

do bien, para evitar que ocurran salpicaduras peligrosas.

d) Se permite que la solución se enfríe a la temperatura ambiente.

e) Se agrega 4.0 ml de ácido nítrico concentrado (HNO_3), a la solución enfriada, y se mezcla bien.

f) Se transfiere la Solución (e) a una probeta graduada de 1,000 ml y se diluye hasta el aforo con agua destilada. Se mezcla perfectamente al verterla y agitarla en el vaso de precipitados.

4.7. Solución de hidróxido de sodio, NaOH 1N. Se pesan 40 g de hidróxido de sodio en lentejas. Se disuelven en 1,000 ml de agua destilada.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Determinación del ortofosfato:

a) Se prepara la siguiente serie de patrones de fosfatos, midiendo los volúmenes que se indican, de la solución patrón de fosfato (4.2) en tubos de Nessler, separados, de 100 ml:

Solución patrón de fosfato, ml	Fosfato, mg/l
0	0
1	0.05
2	0.10
3	0.15
4	0.20
5	0.25
6	0.30

b) Se agrega agua destilada hasta el aforo de 100 ml y se mezclan.

c) Se vierten 100 ml de la muestra clara a incolora en otro tubo de Nessler de 100 ml.

d) Se permite que los patrones y la muestra adquieran la misma temperatura (temperatura del laboratorio).

e) Se agregan, con una pipeta de Mohr, 4 ml de la solución ácida de molibdato (4.3) a cada uno de los patrones y a la muestra y se mezclan perfectamente por la inversión de cada tubo por cuatro a seis veces.

f) Con una pipeta-gotero o con un gotero medicinal, se agregan 10 gotas de la solución de cloruro estañoso y se mezclan, invirtiendo cada tubo de cuatro a seis veces.

g) Se permite que los tubos reposen diez minutos para que se desarrolle el color.

h) Se compara la muestra con los patrones y se determina, por la intensidad del color azul, la cantidad presente de fosfato.

5.2. Determinación del fosfato total:

a) Se miden los volúmenes adecuados de muestra, para las siguientes cantidades posibles de metafosfato de sodio:

Volumen de muestra, ml	Ambito de metafosfato de sodio, mg/l
100	0.1—2.0
50	2.1—4.0
25	4.1—6.0

Si sólo son necesarios 50 ml de muestra, se agregan 50 ml de agua para completar un volumen total de 100 ml; con 25 ml de muestra se agrega 75 ml de agua destilada. Las cantidades por agregar de agua destilada se miden con probeta graduada. Se vierte la muestra (y el agua destilada por agregar, si es necesario) en un matraz de 250 ml, al que previamente se ha aforado a los niveles de 50 ml y 25 ml.

b) Se agrega 1 gota de solución indicadora de fenolftaleína.

c) Si se desarrolla un color rojo o rosa, se agrega la solución ácida (4.6), gota por gota, hasta que desaparezca el color rojo. (La muestra se agita constantemente mientras se agrega el ácido.)

d) Se agrega, a continuación, 1 ml más de la solución ácida (4.6).

e) Se hierva nuevamente la muestra tratada con ácido por 90 minutos. De tiempo en tiempo se le agrega agua destilada para mantener el volumen entre las marcas de 25 y 50 ml. Se evitan las salpicaduras y la ebullición tumultuosa del líquido si se coloca una tela de alambre sobre la fuente de calor, eléctrica o de gas, y se hace descansar el fondo del matraz sobre la tela de alambre. Para mayor protección, se pueden agregar 4 ó 5 perlas de vidrio al matraz, o bien, colocar un agitador de vidrio dentro del mismo.

f) Se enfría la muestra a la temperatura ambiente.

g) Agitando la muestra constantemente, se le agrega la solución de hidróxido de sodio, hasta que reaparezca una débil coloración rosa.

h) Se transfiere la muestra a un tubo de Nessler de 100 ml. Se lavan el matraz, las perlas de vidrio y el agitador con 10 ml de agua destilada, agregando el agua usada en el lavado al tubo de Nessler.

i) Se agrega suficiente agua destilada para llevar el líquido hasta el aforo de 100 ml.

j) Se completa la determinación, según se describe en la sec. 5.1.

k) Se calcula el fosfato total en mg/l multiplicando el resultado observado en el paso 5.2 (j) por el factor correspondiente:

Volumen de muestra, ml	Se multiplican los mg/l de fosfato por
100	1
50	2
25	4

Residuo Filtrable

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Para bebida, para usos domésticos y para propósitos industriales especiales, es menos aceptable una agua altamente mineralizada que una agua con un contenido mineral bajo o moderado. Se puede tener una buena indicación de la cantidad de sustancias minerales, pesando el material que deja después de evaporarla. Si la muestra se filtra antes de la evaporación el residuo se denomina "residuo filtrable"; si no es así, se llama "residuo total".

2. ADVERTENCIA

Se pretende que este método sencillo proporcione una indicación aproximada de los sólidos disueltos en una agua potable. Se ha demostrado, en muchos casos, que los resultados son suficientemente exactos. Sin embargo, para muestras que son muy alcalinas o altamente mineralizadas, debe usarse el procedimiento que se describe en la última edición de los *Métodos Estándar*.

3. APARATOS

3.1. Un embudo de filtración.

3.2. Papel filtro, lavado en ácido, sin cenizas, de acabado duro y de retentividad fina. Son satisfactorios los Whatman N° 42, 44 ó 50 o Schleicher & Schull N° 589.

3.3. Una cápsula de evaporación, de unos 90 a 110 mm de diámetro, con una capacidad de 120 a 200 ml. La cápsula puede ser de platino, níquel, porcelana, sílice, Vycor o pyrex.

3.4. Una lámpara calorífica infrarroja, de 250 vatios, con soporte.

3.5. Un desecador que contenga un desecante que cambie de color, cuando el contenido de humedad llegue a ser elevado.

3.6. Una balanza analítica, capaz de pesar con una aproximación al miligramo.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. Se filtra una muestra turbia al través de un papel filtro retentivo. Se desechan los primeros 25 ml del filtrado y se aprovecha el resto.

4.2 Se limpia por completo la cápsula de evaporación y se deseca bajo la lámpara calorífica infrarroja, durante 15 a 30 minutos.

4.3. Se coloca la cápsula de evaporación en el desecador.

4.4. Tan pronto como la temperatura de la cápsula de evaporación alcance a la del ambiente y a la de la balanza, se pesa la cápsula con tanta exactitud como sea posible.

4.5. Se miden, con una probeta graduada, 100 ml de la muestra de agua filtrada que se vierte a la cápsula previamente tarada para su evaporación.

4.6. Se coloca la cápsula de evaporación bajo la lámpara calorífica y se evapora la muestra a sequedad. Por lo general, se obtiene una velocidad adecuada de evaporación si se fija una distancia de 4 a 5 cm entre la parte inferior de la lámpara calorífica y el labio de la cápsula de evaporación. Si es necesario, se ajusta la distancia, hacia arriba o hacia abajo, para evitar la ebullición o las salpicaduras de la muestra.

4.7. Si es necesario, se vierten a la cápsula de evaporación, una segunda y una tercera porción de 100 ml de la muestra filtrada, para que al pesar el residuo resulte, cuando menos, de 10 a 25 mg, aunque nunca mayor de 250 mg.

4.8. Después de que se ha evaporado toda el agua, se mantiene la cápsula de evaporación bajo la lámpara calorífica por 1 hora más.

4.9. Con una tela limpia se frota ligeramente el exterior de la cápsula, para eliminar cualquier polvo, basura o humedad, que se haya acumulado en dicha cápsula. La cápsula de evaporación se coloca en el desecador.

4.10. Tan pronto como la temperatura de la cápsula de evaporación se haya abatido para alcanzar la del local y de la balanza, se pesa la cápsula con toda la exactitud posible.

4.11. Se deduce el peso obtenido en el paso 4.4 del peso obtenido en el paso 4.10.

4.12. Se calcula el residuo filtrable, en mg/l, multiplicando el resultado encontrado en el paso 4.11 por el factor correspondiente:

Volumen de muestra, ml	Multiplíquense los mg del residuo por
100	10
200	5
300	3.3

Sílice

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

La sílice se presenta, de modo natural, en muchas aguas de pozos y de ríos y también se aplica artificialmente como co-coagulante (bajo la forma de "sílice activada") en muchas plantas potabilizadoras. La sílice activada se prepara localmente por la neutralización, parcial o completa, de una solución de silicato de sodio con ácido sulfúrico, alumbre, sulfato de amonio, cloro o bióxido de carbono. El uso apropiado de la sílice activada no aumenta el contenido de sílice del agua potabilizada.

Esta prueba se ha formulado para la determinación de aquella fracción de la sílice que ya está disuelta, lo mismo que de la fracción que se ha solubilizado fácilmente por el tratamiento con bicarbonato de sodio. Estas dos fracciones de la sílice se pueden encontrar compuestas de la sílice originalmente presente en el agua y de la sílice activada adicionada en el curso de la potabilización

2. ADVERTENCIA

Los resultados que se obtienen con este método son aproximados y se deben registrar al mg/l más cercano. Se debe consultar la última edición de los *Métodos Estándar*, si se desea una mayor sensibilidad y exactitud, en los resultados, así como indicaciones sobre las formas de salvar la turbiedad y el color en una muestra.

3. APARATOS

3.1. Ocho, o más, tubos de Nessler de 50 ml, pareados, forma alta, con su gradilla.

3.2. Una bureta de 25 ml, o pipetas apropiadas para medir la solución de cromato de potasio.

3.3. Una probeta graduada de 25 ml para medir la solución de bórax.

3.4. Tapones limpios de caucho (tamaño núm. 2) para los tubos de Nessler.

3.5. Una probeta graduada de 50 ml para la medición de la muestra.

3.6. Una cápsula de evaporación de 100 ml. Aunque es preferible una cápsula de platino, se puede sustituir por cápsulas de níquel o de porcelana.

3.7. Una lámpara calorífica infrarroja, 250 vatios, con su soporte.

3.8. Pipetas graduadas para la adición de las soluciones de ácido sulfúrico, molibdato de amonio y ácido oxálico.

3.9. Una pipeta-gotero para la adición de la solución de ácido clorhídrico.

4. REACTIVOS

4.1. Solución de cromato de potasio:

a) Se pesan, en una balanza analítica, 0.63 g de cromato de potasio (K_2CrO_4) seco. Se pasa reactivo a un vaso de precipitados de 250 ml y se disuelve en 100 ml de agua destilada.

b) Se vierte la solución a un matraz aforado de 1,000 ml se lava el vaso con tres porciones de 100 ml de agua destilada y se diluye hasta el aforo con agua destilada.

4.2 Solución de borato de sodio. Se pesan 10 g de borato de sodio (también denominado tetraborato de sodio), $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$, y se colocan en un vaso de precipitados de 1,500 ml. Se disuelve en 1,000 ml de agua destilada, medidos con probeta graduada.

4.3. Bicarbonato de sodio en polvo, $NaHCO_3$, exento de sílice.

4.4. Solución de ácido sulfúrico, N_2SO_4 , 1 N:

a) Con probeta graduada se miden 980 ml de agua destilada, que se vierten en un vaso de precipitados de 1,500 ml.

b) Con una probeta graduada de 50 ml se miden 28 ml de ácido sulfúrico concentrado.

c) Mientras se agita con una mano, se agrega lentamente, y con precaución, el volumen medido de ácido sulfúrico al agua destilada. Se produce un calentamiento considerable al mezclar el ácido sulfúrico con el agua, por lo que se debe agregar lentamente, mezclando bien, para evitar salpicaduras peligrosas.

4.5. Solución de ácido clorhídrico:

a) Se miden, por medio de una probeta graduada, 100 ml de agua destilada, que se vierten en un frasco de 250 ml.

b) En la misma probeta graduada se miden 100 ml de ácido clorhídrico (HCl) concentrado, que se vierten al frasco.

c) Se tapa y se agita el frasco para mezclar su contenido.

4.6. Solución de molibdato de amonio:

a) Se pesan 10 g de molibdato de amonio, $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$, que se colocan en un vaso de precipitados de 250 ml. Se disuelven en 100 ml de agua destilada, medidos con una probeta graduada.

b) Se calienta y se agita la solución para disolver los cristales. La solución se conserva en un frasco de polietileno para mantenerla libre de sílice. La solución se desecha cuando se empieza a formar un precipitado.

4.7. Solución de ácido oxálico. Se pesan 10 g de áci-

do oxálico $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$, que se pasan a un vaso de precipitados de 250 ml. Se disuelven en 100 ml de agua destilada, medidos con una probeta graduada. Esta solución se conserva en un frasco de polietileno.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de los patrones de sílice:

a) Se prepara la serie siguiente de patrones de color, midiendo los volúmenes indicados de la solución de cromato de potasio en tubos de Nessler separados de 50 ml.

Solución de cromato de potasio, ml	Equivalente de sílice mg/l
0.0	0
1.0	2
2.0	4
4.0	8
5.0	10
7.5	15
10.0	20

b) Usando una probeta graduada de 25 ml, se vierten 25 ml de la solución de borato de sodio en cada tubo.

c) Se agrega agua destilada a cada tubo, hasta completar un volumen de 50 ml, mezclándose por inversión del tubo por cuatro a seis veces.

d) Si los patrones se van a emplear por un período de varios meses, se protegen con tapones limpios de caucho.

5.2. Usando una probeta graduada, se miden 50 ml de la muestra clara e incolora en una cápsula de evaporación de 100 ml.

5.3. Se pesan 0.2 g de bicarbonato de sodio pulverizado, que se agregan a la muestra.

5.4. Se coloca la cápsula de evaporación bajo la lámpara calorífica de rayos infrarrojos y se calienta la muestra por 60 minutos. Por lo general, se obtiene una velocidad satisfactoria de calentamiento si se fija una separación de 4 a 5 cms. entre la parte inferior de la lámpara y el labio de la cápsula de evaporación. Si es necesario,

se ajusta la distancia, hacia arriba o hacia abajo, para evitar la ebullición o las salpicaduras de la muestra.

5.5. Se apaga la lámpara calorífica y se permite que la cápsula se enfríe hasta la temperatura ambiente.

5.6. Con una pipeta graduada se agregan, con precaución y lentamente 2.4 ml de la solución de ácido sulfúrico. Se agita la solución durante todo el lapso de adición del ácido.

5.7. Se transfiere el contenido de la cápsula de evaporación a un tubo de Nessler de 50 ml. Se lava la cápsula de evaporación con un pequeño volumen (5 a 10 ml) de agua destilada agregando este volumen de lavado al tubo de Nessler. Se controla cuidadosamente el volumen del agua destilada que se aplique para que el volumen de la muestra, más el de lavado, no exceda de 50 ml.

5.8. Se agrega suficiente agua destilada hasta completar el volumen al aforo de 50 ml.

5.9. Con una pipeta-gotero se agrega 1 ml de la solución de ácido clorhídrico.

5.10. Se agregan, con rapidez, 2.0 ml de solución de molibdato de amonio, con una pipeta graduada. Se mezcla inmediatamente, invirtiendo el tubo por cuatro a seis veces.

5.11. Se deja reposar el tubo por 5 a 10 minutos.

5.12. Con una pipeta graduada se agrega 1.5 ml de la solución de ácido oxálico y se mezcla, invirtiendo el tubo cuatro a seis veces.

5.13. Se deja reposar el tubo durante no menos de 2 minutos, pero sin exceder de 15 minutos.

5.14. Se compara la muestra con los patrones y se determina, por la intensidad del color amarillo, la cantidad presente de sílice.

5.15 Se comprueba el contenido de sílice de todos los reactivos en la forma siguiente:

a) Se pesan 0.2 g de bicarbonato de sodio en polvo y se agregan a 50 ml de agua destilada en la misma (u otra similar) cápsula de evaporación, que se emplea en el paso 5.2.

b) Se continúa con todos los pasos del procedimiento, de 5.4 hasta el 5.14.

c) Se deduce el valor de la sílice así cuantificada, de los resultados obtenidos en el paso 5.14, para obtener el verdadero contenido de sílice de la muestra.

5.16. Se registran los resultados, aproximando al mg/l más cercano.

Sabor y Olor

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

En las aguas, los sabores y olores objetables se pueden deber al plancton, a los actinomicetos, a las bacterias, a la vegetación en putrefacción, a desechos domésticos inadecuadamente tratados y a desechos industriales. Para reducir o eliminar los sabores y olores desagradables se recurre a procesos que comprenden la aeración, así como la aplicación de cloro a residual libre, la cloraminación y de sulfato de cobre. Un objetivo importante en una planta de potabilización de agua es la producción final de una agua, que se encuentra exenta de sabores y olores desagradables.

Este método cualitativo siempre se ha formulado para determinaciones rutinarias en los laboratorios de pequeñas plantas de agua. La prueba es adecuada para muestras de aguas potables o de aguas en proceso de potabilización.

2. ADVERTENCIA

La prueba del sabor sólo se debe aplicar en aquellas aguas que se conoce que son seguras para bebida.

Cuando sea posible, se debe buscar y registrar la opinión de la mayoría de entre varias personas (catadores).

Cuando se desea una valoración más cuantitativa del carácter, y de la intensidad del sabor y el olor, se deben seguir los procedimientos contenidos en la última edición de los *Métodos Estándar*.

3. APARATOS

3.1. Dos, o más, frascos o botellas de 50 ml, de boca ancha y con tapón de cristal. Se eliminan todas las huellas de sabor y olor del interior y del exterior de los recipientes, cepillando con limpiadores sin aroma o con ácido clorhídrico. Finalmente, se enjuagan con varias porciones de agua inodora. Estos frascos o botellas se mantienen separados, para su uso exclusivo en las determinaciones de olores y sabores. Si es posible, consérvense los frascos o matraces, sumergidos en agua inodora.

3.2. Termómetro, 0°-110°C, de mercurio o del tipo de vástago metálico con carátula.

3.3. Generador de agua inodora. Véase fig. 7.

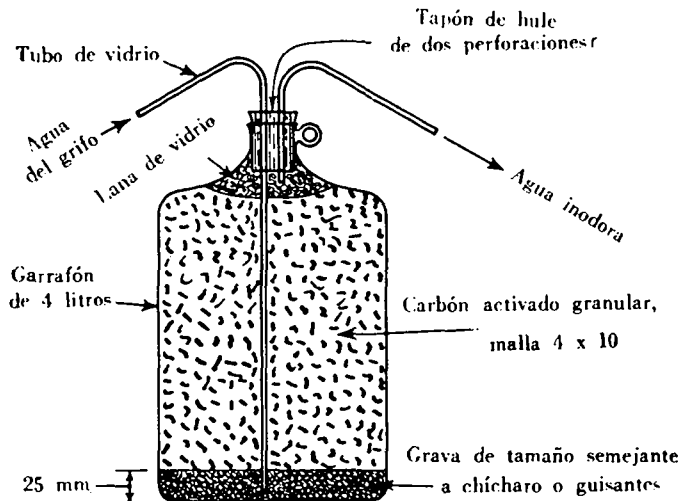


FIG. 7. GENERADOR DE AGUA INODORA

4. AGUA INODORA

Se prepara el generador de agua inodora en la forma que se indica en la figura 7. Antes de cargar el generador con carbón activado, se limpian perfectamente la grava, los tubos y el frasco de 4 litros, con un limpiador sin aroma o con ácido clorhídrico y se enjuaga varias veces con agua destilada. Después de haber conectado el generador al grifo de agua corriente, permítase que pase el agua, por corto tiempo, para arrastrar las partículas finas de carbón, antes de iniciar la recolección del agua inodora. Opérese el generador a un flujo de 1 litro por minuto. Si se ha clorado el agua corriente, se usa el método de la ortotolidina (véase Cloro Residual, Método A) para comprobar el cloro residual en el agua recolectada. El carbón activado se sustituye cuando aparece cloro residual en el agua recolectada.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Calidad del sabor y el olor a la temperatura de recolección:

a) Se llena hasta la mitad un frasco o un matraz con agua inodora y se vuelve a colocar el tapón. Se usa esta agua como testigo de comparación.

b) Se llena hasta la mitad otro frasco o matraz con la muestra de agua y se vuelve a colocar el tapón.

c) Se agita vigorosamente el contenido del frasco que contiene el agua inodora, se quita el tapón e inmediatamente se aspira el olor.

d) Sin demora, se agita vigorosamente el contenido de la botella que contenga la muestra, se quita el tapón y también se aspira el olor. Se anota el olor por la clave que se muestra en el cuadro núm. 5.

e) Se vierten 10 ml de la muestra en un vaso de precipitados y se lleva el agua a la boca. El agua se mantiene en la boca por varios segundos, escupiéndose a continuación. Apréciase el sabor mientras se tiene el agua en la boca, lo mismo que el resabio de sabor.

No se pruebe cualquier muestra de agua que pueda ser impropia o insegura para beber

5.2. Calidad del sabor y el olor a temperaturas elevadas:

a) Se calienta a 40°C las botellas o matraces que contienen el agua inodora y la muestra; pasos 5.1(a) y 5.1(b).

b) Se siguen los pasos 5.1(c) al 5.1(e). (Se anota el sabor debido al cloro como "a cloro" y el que se debe a clorofenol como "medicinal".)

c) Se repite el procedimiento anterior, a 60°C.

CUADRO 5

Descripciones cualitativas de los olores

Clave	Naturaleza del olor	Descripción (olor análogo a:)
A	Aromático (especias)	Alcanfor, clavo, espliego, limón
Ac	Pepino, cohombro	<i>Synura</i>
B	Balsámico (floral)	Geranio, violeta, vainilla
Bg	Geranio	<i>Asterionella</i>
Bn	Nasturcia o mastuerzo	<i>Aphanizomenon</i>
Bs	Dulzón	<i>Coelesphaerium</i>
Bv	Violetas	<i>Mallomonas</i>
C	Químico	Desechos industriales o tratamientos químicos
Cc	A cloro	Cloro libre
Ch	Hidrocarburo	Desechos de refinerías de petróleo
Cm	Medicinal	Fenol y yodoformo
Cs	Sulfhídrico	Acido sulfhídrico, huevos podridos
D	Desagradable	(pronunciadamente repugnante)
Df	Ictico (a pescado)	<i>Uroglenopsis, Dinobryon</i>
Dp	Zahurda	<i>Anabaena</i>
Ds	Séptico	Aguas negras añejas
E	Terroso	Tierra húmeda
Ep	Pantanosos	Turba
G	A pasto	Pasto triturado
M	A rancio	Paja en descomposición
Mm	Mohoso	Sótano húmedo
V	Vegetal	Legumbres

Temperatura

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Las lecturas exactas de la temperatura son importantes en varios procesos de tratamiento y en determina-

ciones de laboratorio. Por ejemplo, la temperatura es un factor en la proliferación de ciertas algas, en el grado de saturación del oxígeno disuelto y en la concentración del bióxido de carbono.

2. ADVERTENCIA

Para mejores resultados, la temperatura debe tomarse en el punto de muestreo. Debe sumergirse el termómetro en la corriente o en un gran recipiente lleno con la muestra, y debe mantenerse en esas condiciones hasta que el nivel del mercurio permanezca estático. A continuación, se debe leer la temperatura antes de extraer el termómetro de la muestra.

Como el mercurio es un tóxico, los termómetros de mercurio se pueden instalar, en forma permanente, sólo en una tubería de agua que drene hacia el exterior y no hacia alguna que conduzca a la red de distribución para que la rotura del termómetro no llegue a causar ningún derrame serio de mercurio en el abastecimiento potable.

3. APARATOS

Un termómetro de mercurio, de escala centígrada, de 0° a 100°C. Esto es suficiente para la mayoría de los propósitos generales. Para facilidad de lectura, la escala se

debe encontrar subdividida en 0.5° ó 1°C. Los termómetros se calibran para "inmersión total" o para "inmersión parcial". Para que se obtenga la temperatura correcta, los termómetros de inmersión total se deben encontrar completamente sumergidos en el agua. Los termómetros de inmersión parcial, por otra parte, deben sumergirse en el agua a la profundidad del círculo grabado que aparece, alrededor del vástago, abajo del nivel de la escala. Para mejores resultados, la precisión de un termómetro en uso rutinario se debe comprobar con un termómetro de precisión que haya sido certificado por el National Bureau of Standards de los Estados Unidos de América.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. Se sumerge el termómetro en la muestra, a la profundidad adecuada para obtener una lectura correcta.

4.2. Se registra la temperatura a la fracción más cercana de un grado centígrado que sea posible estimar con el termómetro de que se disponga. Para convertir la lectura o grados Fahrenheit, refiérase al cuadro núm. 6.

Cuadro 6

Conversión de temperatura, de grados Centígrados a grados Fahrenheit

°C	°F	°C	°F	°C	°F
— 5	20.6	11	51.8	26	78.8
— 4	24.8	12	53.6	27	80.6
— 3	26.6	13	55.4	28	82.4
— 2	28.4	14	57.2	29	84.2
— 1	30.2	15	59.0	30	86.0
0	32.0	16	60.8	31	87.8
1	33.8	17	62.6	32	89.6
2	35.6	18	64.4	33	91.4
3	37.4	19	66.2	34	93.2
4	39.2	20	68.0	35	95.0
5	41.0	21	69.8	36	96.8
6	42.8	22	71.6	37	98.6
7	44.6	23	73.4	38	100.4
8	46.4	24	75.2	39	102.2
9	48.2	25	77.0	40	104.0

Turbiedad

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Turbiedad es la expresión empleada para describir las partículas insolubles de arcilla, limo, materia mineral, basuras orgánicas, plancton y otros organismos microscópicos que impiden el paso de la luz al través del agua. Como la turbiedad no mantiene ninguna relación directa con el peso de los diversos materiales en suspensión, sólo se registra en unidades de turbiedad.

La unidad de turbiedad es una cantidad empírica que se basa en el turbidímetro de bujía Jackson. Se utiliza este instrumento para medir la turbiedad de las aguas crudas en valores superiores a 25 unidades, lo mismo que para la normalización de suspensiones madre, que se diluyen a valores inferiores a 25 unidades. Para estimaciones de laboratorio, son necesarios los patrones de turbiedad en más de un ámbito determinado. Por ejemplo, un juego de patrones puede abarcar ámbito superior a 5 unidades y, otro juego el ámbito inferior a 5 unidades. Este último juego se destina para estimar la turbiedad de aguas coaguladas y filtradas.

La turbiedad en exceso de 5 unidades es perceptible para el consumidor y, por lo tanto, representa una condición que no cumple los requisitos de potabilidad. Las aguas de los abastecimientos públicos se coagulan y filtran para reducir el número y el tamaño de las partículas suspendidas hasta niveles que no sean desagradables. Los procesos eficientes de coagulación y filtración deben producir una turbiedad inferior a 1 unidad. La presencia de turbiedad en una agua filtrada puede indicar hendiduras en el lecho de arena filtrante o la precipitación de un flóculo de coagulante en los depósitos de agua filtrada, como resultado de un sobretratamiento o de una coagulación incompleta. La turbiedad coloidal, de partículas de tamaño extremadamente fino, es difícil de eliminar, excepto por tratamiento químico.

La prueba de turbiedad se utiliza para regular la cantidad de coagulante y de reactivos complementarios necesarios para producir una agua de la claridad deseada. En este manual, el procedimiento se divide en tres partes bien definidas. La primera trata del uso del turbidímetro Jackson, de bujía, el instrumento reconocido como básico para la determinación. La segunda sección describe el uso de frascos de patrones. Aunque la mayor aplicación de los frascos de patrones es en el ámbito de 2 a 25 unidades, algunos laboratorios preparan y confían en frascos de patrones hasta de 50 y 100 unidades para el control rutinario de la operación. En tales casos, la práctica usual es preparar patrones a intervalos de 5 unidades, hasta llegar a 40 unidades y a partir de aquí, a intervalos de 10 unidades, hasta alcanzar 100 unidades. La sección final del procedimiento describe brevemente los instrumentos comerciales disponibles para la estimación de la turbiedad en la escala de 0 a 5 unidades.

2. ADVERTENCIA

La naturaleza visual de la estimación restringe el límite inferior hasta el cual la turbiedad se puede determinar o interpretar debidamente. Por ejemplo, una lectura de 0, o de 0.0 de turbiedad no significa la completa ausencia de partículas en el agua. La prueba del tapón de algodón o las reclamaciones provenientes de ciertas zonas en la red de distribución aguas por sucias, pueden indicar que algunas partículas alcanzan a escapar con el agua ya procesada. Más aún, materiales tales como el carbón activado y los productos de corrosión pueden dar lugar a lecturas de turbiedad que difieren de aquellas producidas por una cantidad similar de sílice o de des-

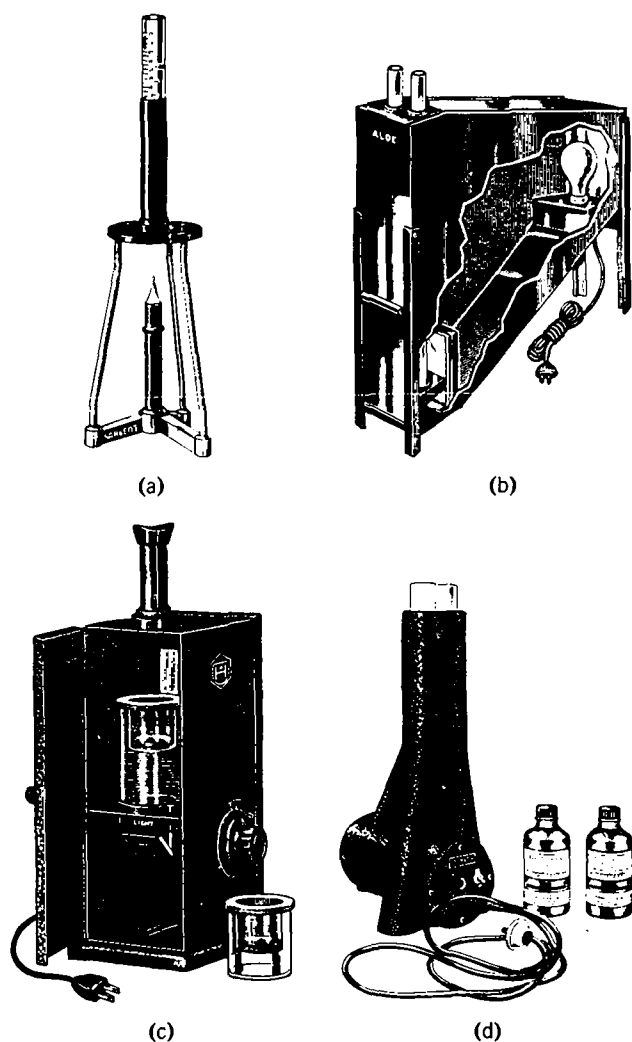


FIG. 8. TURBIDIMETROS

Clave: (a) tipo Jackson de bujía; (b) tipo Baylis; (c) tipo Hellige; (d) tipo St. Louis.

perdicios que naturalmente se encuentran en las aguas. Por lo tanto, las estimaciones de turbiedad deben considerarse más bien como aproximadas que como absolutas. Los resultados proporcionan una guía para la producción de una agua aceptable. Las lecturas de turbiedad dependen también del instrumento que se usa para la determinación. La experiencia ha demostrado que los dispositivos fotoeléctricos modernos conducen, a menudo, con aguas naturales, a lecturas diferentes de las que se obtienen con el turbidímetro de Jackson de bujía.

Las estimaciones de turbiedad deben verificarse dentro de un tiempo razonable para evitar cambios en las mismas partículas suspendidas. Algunas veces, cuando las partículas consisten principalmente de flóculos, es recomendable una estimación inmediata. Por otra parte, la estimación de la turbiedad, en muestras que contengan partículas minerales inactivas, se puede demorar, sin peligro por una semana, o más.

Todos los frascos y la cristalería que se utilicen para las estimaciones de turbiedad deben conservarse en una condición escrupulosamente limpia, tanto interior como exteriormente. Debe desecharse la cristalería rayada o esmerilada o raspada.

Para mejores informes sobre la determinación de la turbiedad, se debe consultar la última edición de los *Métodos Estándar*.

3. APARATOS

3.1. Suficientes (hasta doce o más) frascos del tipo para reactivos de 1 litro, de cristal común, claro, de boca angosta, con tapón de cristal. Se reservan estos frascos para la recolección y estimación de las muestras, lo mismo que para conservar todas las suspensiones patrones de turbiedad.

3.2. Un turbidímetro Jackson, de bujía, incluyendo soporte, tubo calibrado de cristal y bujías especiales de cera de abejas y esperma.

3.3. Una probeta graduada de 1,000 ml para la preparación de las diluciones de las muestras y para diluir los patrones de turbiedad.

3.4. Pipetas graduadas y probetas graduadas de capacidad apropiada para la preparación de los frascos de patrones.

3.5. Fuentes luminosas para estimar la turbiedad por el procedimiento de los frascos de patrones, que se describe en la sec. 7. Se dispone la fuente luminosa para que los rayos no lleguen directamente al ojo, pero que al mismo tiempo, iluminen por igual a la muestra y los frascos de los patrones, para la estimación adecuada de la turbiedad. Una disposición apropiada es un tubo fluorescente protegido, situado abajo de una plataforma que tenga una abertura descendente a todo lo largo la mitad de su longitud, para admitir los rayos luminosos.

3.6. Un instrumento para la determinación de bajos

niveles de turbiedad (inferiores a 5 unidades). Entre los instrumentos que se usan ampliamente para tal propósito se tiene el turbidímetro de Bayliss, el de Hellige y el de St. Louis.

4. SUSPENSION MADRE PARA LOS FRASCOS DE PATRONES

4.1. Para mejorar la comparación visual entre la muestra y los patrones de turbiedad, la suspensión madre se prepara partiendo de una agua cruda de alta turbiedad, del mismo origen que la muestra, o de una suspensión concentrada que se prepare para la turbiedad que, normalmente, se presenta en el agua cruda. Se determina la turbiedad de estas suspensiones madre con el turbidímetro Jackson de bujía, como se describe en la sec. 6.

4.2. Cuando no se dispone de una agua de alta turbiedad, o es difícil la preparación de una suspensión concentrada, se puede adquirir la suspensión patrón, de 1,000 unidades de turbiedad en casas abastecedoras del ramo, de buena reputación.

4.3. Se utilizan cualesquiera de las soluciones madre anteriores para preparar los patrones más débiles de turbiedad que se necesiten en el laboratorio. Como se deterioran todos los patrones de turbiedad, los patrones se preparan semanalmente o aun dos veces en la semana, si el uso excesivo llegara a deteriorar las partículas de las suspensiones. Cada solución madre se agita antes de usarla.

5. MANEJO PRELIMINAR DE LA MUESTRA

5.1. Para evitar la formación de humedad en el exterior de los frascos mientras se realizan las estimaciones de turbiedad, se calienta una muestra muy fría a la temperatura ambiente.

5.2. Se eliminan de la muestra las molestas burbujas sobresaturadas de aire, por medio de la agitación y reposo alternado del frasco.

6. PROCEDIMIENTO UTILIZANDO EL TURBIDIMETRO JACKSON DE BUJIA

6.1. Estimación de la turbiedad entre 25 y 1,000 unidades:

a) Se sitúa el turbidímetro Jackson de bujía en un lugar sombreado, no expuesto a corrientes, para reducir al mínimo el parpadeo de la llama de la bujía, que se puede presentar durante las siguientes estimaciones.

b) Se ajusta la bujía a su altura total en el portabujía y se desprende cualquier porción carbonizada de la mecha, rompiéndola con los dedos.

c) Se agita la muestra vigorosamente y se agregan

de 1 a 5 ml al tubo calibrado de cristal del turbidímetro.

d) Se enciende la bujía. Sólo se debe permitir que, en cada ocasión, la bujía arda por unos cuantos minutos porque la llama tiene una tendencia a ir aumentando de tamaño después de un cierto lapso.

e) Se agita de nuevo a la muestra. Se mira hacia abajo, a través del tubo calibrado de cristal, observando la llama de la bujía mientras se agregan pequeñas porciones de la muestra al tubo de cristal. Se detiene la adición cuando la imagen de la llama ya no se puede distinguir. Los contornos de la llama se desvanecen gradualmente, a medida que se agrega la muestra al tubo, cambiando a partir de entonces por una luz difusa. En la escala sobre el tubo graduado se lee la turbiedad a la cual justamente desaparece la llama. Se registra esta lectura preliminar.

f) Se retira la muestra del tubo, el que se enjuaga con agua destilada o agua corriente clara (turbiedad de 0.0).

g) Otra vez se agita la muestra. Se agrega suficiente muestra al tubo hasta llegar, aproximadamente, al 80 por ciento de la altura de la lectura preliminar, obtenida en el paso 6.1 (e). A partir de este momento, se agrega en pequeñas porciones, hasta que la llama desaparezca de nuevo. Se registra esta lectura.

h) Se repiten los pasos 6.1 (f) y 6.1 (g) dos veces más, registrándose las lecturas en cada caso.

i) Se registra el promedio de las tres lecturas obtenidas en los pasos 6.1 (g) y 6.1 (h). (Véase la sección 9, Registro de los Resultados).

6.2. Estimación de la turbiedad en exceso de 1,000 unidades:

a) Se diluye la muestra con agua clara corriente, como se indica en el párrafo siguiente, de tal modo que las lecturas de la turbiedad resultante caigan en el ámbito de 300 a 700 unidades y, de preferencia, cerca de 500 unidades:

1) Se agita vigorosamente la muestra y se mide en una probeta graduada de 1,000 ml la cantidad apropiada de muestra para la escala de turbiedades que se indica:

Volumen de muestra, ml	Escala de turbiedad (unidades)
500	1,000—1,200
250	1,300—2,000
100	3,000—5,000
50	6,000—10,000

2) Rápidamente se diluye hasta el aforo de 1,000 ml con agua clara corriente (turbiedad 0.0).

3) Inmediatamente se pasa la muestra diluida a un

frasco de 1 litro, con tapón de cristal. Se hace girar el contenido de la probeta, durante la operación de transferencia, con el objeto de eliminar, tanto como sea posible, la turbiedad y los sedimentos.

b) Se agita vigorosamente la muestra diluida y se sigue el procedimiento completo de la sección 6.1.

c) Se calcula la turbiedad, multiplicando el resultado encontrado en el paso 6.2 (b) por el factor correspondiente:

Volumen de muestra, ml	Multiplicar las unidades de turbiedad por
500	2
250	4
100	10
50	20

7. PROCEDIMIENTO UTILIZANDO FRASCOS DE PATRONES

7.1. Preparación de los frascos de patrones:

a) Se estima la turbiedad de la suspensión madre (4.1 ó 4.2) bien agitada, mediante el procedimiento del turbidímetro Jackson de bujías (sección 6).

b) Se calcula el volumen necesario de suspensión madre para preparar un frasco de patrón de 1 litro, en la forma siguiente: En la columna A, de la tabulación que se da a continuación, se observa el patrón deseado de turbiedad. Se divide la figura correspondiente de la columna B por la turbiedad de la suspensión madre; el resultado es el volumen necesario, en mililitros, de la suspensión madre.

Columna A	Columna B
2	2,000
5	5,000
10	10,000
15	15,000
20	20,000
25	25,000

Por ejemplo: Para preparar un frasco patrón con una turbiedad de 2 unidades, a partir de una solución madre con una turbiedad de 300, se divide 2,000 entre 300: $2,000 / 300 = 6.7$ ml de la suspensión madre.

c) Después de agitar vigorosamente la solución madre, se mide el volumen necesario con una pipeta o una probeta graduada.

d) Se vierte inmediatamente el volumen de suspensión madre a un frasco limpio de 1 litro. Se seleccionan frascos que sean del mismo tamaño, forma y tipo que el frasco que se desea utilizar para la recolección y estimación de la muestra.

e) Con una probeta graduada de 1,000 ml se mide

el volumen apropiado de agua destilada o de agua corriente clara (turbiedad 0.0), hasta completar el volumen total de 1,000 ml en cada frasco de patrón.

f) Se pesan porciones de 1 g de cloruro mercúrico ($HgCl_2$) y se agregan a cada frasco patrón de 1 litro como preservativo. Se agita para disolver los cristales.

g) Se rotula cada frasco de patrón con el valor de la turbiedad y la fecha de preparación.

h) Si es necesario, se vacía un poco (5 a 10 ml) del patrón, bien agitado, para proporcionar suficiente espacio para la mezcla completa de los contenidos.

7.2. Se agitan perfectamente tanto la muestra como cada frasco de patrón y se compara la turbiedad, observando horizontalmente a través de los frascos, contra una hoja de papel, rayada o impresa. Se observa la distinción con la que sean visibles, a través de la muestra y de cada patrón, las líneas rayadas o los caracteres impresos. Se dispone la fuente luminosa de tal modo que los rayos no lleguen directamente al ojo del observador pero que, al mismo tiempo, iluminen la muestra y los patrones.

7.3. Por comparación, se hace coincidir la muestra con el patrón de turbiedad más cercano. (Véase sección 9, Registro de los Resultados).

8. ESTIMACION DE BAJOS NIVELES DE TURBIEDAD

Para la determinación de bajos niveles de turbiedad del agua (inferiores a 5 unidades), se dispone de diversos instrumentos comerciales que son adecuados. Se cuenta, entre ellos, con el turbidímetro Baylis, el turbidímetro Hellige y el turbidímetro St. Louis. Estos instrumentos (figura 9) se pueden adquirir de almacenes especializados de reputación. Síganse cuidadosamente las instrucciones proporcionadas por el fabricante para cada instrumento.

9. REGISTRO DE LOS RESULTADOS

Se registra el resultado final de una determinación de turbiedad, de acuerdo con los datos siguientes:

Turbiedad determinada	Regístrese el resultado con aproximación de
1.0 o menos	0.1 unidades
1 a 10	1 "
10 a 100	5 "
100 a 400	10 "
400 a 700	50 "
más de 700	100 "

También debe identificarse el instrumento o el método utilizado para la determinación.

II. EXAMENES BACTERIOLOGICOS

Introducción

Las aguas tratadas impropriadamente, o sin protección sanitaria, pueden contener microorganismos patógenos (capaces de producir una enfermedad). Las bacterias coliformes que, de por sí, no son patógenas; se asocian, a menudo, con los organismos patógenos y son un buen índice del grado de seguridad bacteriológica de una agua. Las bacterias coliformes se encuentran, normalmente, en los intestinos de los humanos y de otros animales de sangre caliente, por lo que se descargan en gran número en las heces humanas o animales. En aguas contaminadas, las bacterias coliformes se encuentran en densidades que son toscamente proporcionales al grado de contaminación fecal. Cuando se tienen presentes miembros del grupo coliforme, también se pueden encontrar otras clases de microorganismos capaces de producir enfermedades.

Las bacterias coliformes son más resistentes que las bacterias patógenas o productoras de enfermedades; por lo tanto, si se encuentran ausentes del agua, hay una indicación de que el agua es bacteriológicamente segura para el consumo humano. Por otra parte, la presencia de bacterias coliformes es una indicación de que se pueden encontrar presentes también bacterias patógenas y de que el agua para bebida es insegura.

El grupo coliforme incluye a todas las bacterias en forma de bastoncillos que son aerobias o anaerobias facultativas, Gram negativas, no esporógenas, que fermentan la lactosa con producción de gas en un medio de cultivo prescrito, dentro de las 48 horas, a 35°C. Los procedimientos bacteriológicos que se describen en este manual se han formulado para demostrar la presencia y el número de bacterias que satisfagan la definición del grupo coliforme.

La calidad bacteriológica de las aguas que suministran los porteadores interestatales, lo mismo que la de otras aguas sujetas al control federal, se gobierna por los Reglamentos para las Cuarentenas Interestatales, que se basan en las "Normas de Agua para Bebida", del Servicio Federal de Salud Pública, de los E. U. A. Estos reglamentos estipulan que los miembros del grupo coli-

forme son los indicadores oficiales de la calidad bacteriológica del agua. Estos reglamentos establecen además, que los procedimientos que se usen para la identificación y enumeración de las bacterias coliformes deben encon-

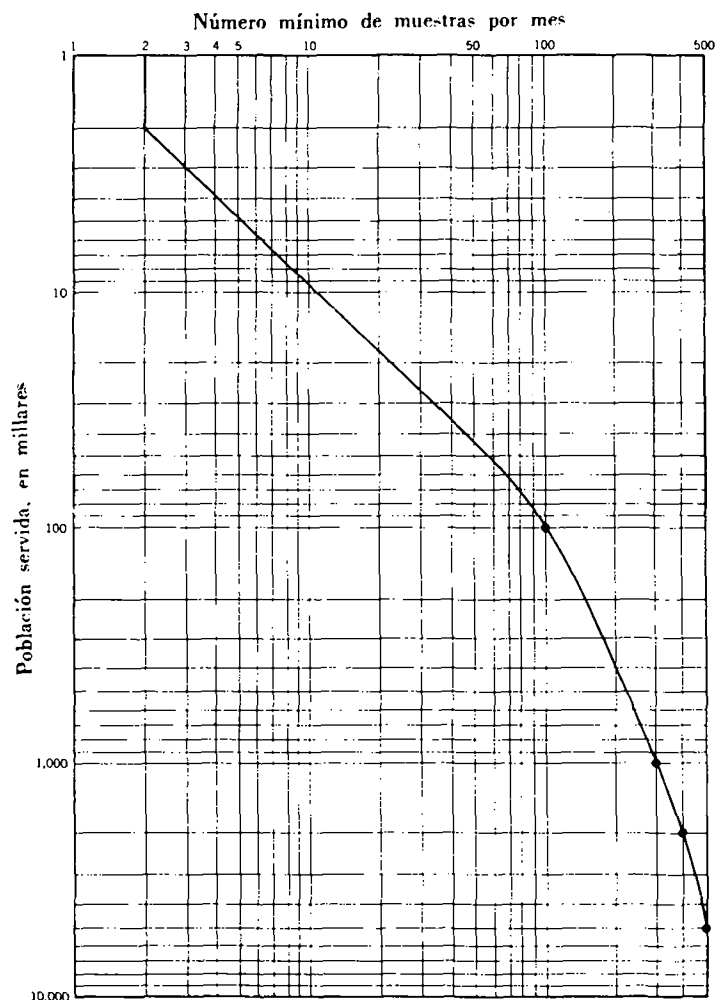


FIG. 9. NUMERO MINIMO DE MUESTRAS, BASADO EN LA POBLACION SERVIDA

trarse de acuerdo con la última edición de los *Métodos Estándar para el Examen de Aguas y Aguas de Desecho*. Muchos de los Estados (de la Unión Americana) exigen, bien sea por leyes o por reglamentos, que se adopten, de modo similar, las disposiciones de los *Métodos Estándar*.

Las muestras rutinarias para los exámenes bacteriológicos deben recolectarse de puntos representativos en el sistema de distribución. El número de muestras que se examine, por mes, debe basarse en el total de la población servida por el abastecimiento de agua. Con base en dicha población servida, el número mínimo de muestras mensuales se presenta gráficamente en la figura 9.

Cuando el agua ensayada no llega a satisfacer las normas bacteriológicas, se exige que se recolecten muestras diarias del mismo punto de muestreo hasta que se demuestre una calidad bacteriológica satisfactoria, cuando menos en dos días consecutivos.

La frecuencia con la que se tomen muestras de la fuente de abastecimiento y de las diversas etapas del proceso de potabilización del agua, depende de las condiciones de operación.

Para los exámenes bacteriológicos de aguas se aceptan dos métodos: el método de los filtros de membrana y el método de los tubos múltiples de fermentación.

A. Método del Filtro de Membrana

1. GENERAL

Al través de un filtro de membrana se filtra, bajo un vacío, un volumen medido de muestra de agua. A continuación, se coloca el filtro en un recipiente estéril y se incuba en contacto con un medio de cultivo, selectivo y diferencial. En cada punto del filtro en el que, durante la filtración, se capta una bacteria coliforme, se desarrolla una colonia de bacterias coliformes. Se enumeran las colonias de bacterias coliformes, practicándose un cálculo simple para determinar el número de colonias de bacterias coliformes en 100 ml de muestra.

En las pruebas que se verifican para determinar la seguridad bacteriológica de una agua potabilizada, el volumen estándar de muestra debe ser, cuando menos, de 50 ml y, de preferencia, de 100 ml si se trata de que satisfaga los requisitos de las Normas de Agua para Bebida, del Servicio Federal de Salud Pública de los E. U. A. Cuando el propósito de la prueba es más bien cuantitativo que cualitativo, como, por ejemplo, cuando se desea conocer el número de bacterias coliformes en un agua cruda o en un agua en proceso de tratamiento, pueden ser adecuados volúmenes menores. Para una enumeración confiable de coliformes, debe seleccionarse un volumen que produzca de 20 a 80 colonias en el filtro de membrana. En los filtros que se usen para enumeración no se deben desarrollar más de 200 colonias de todos los tipos (coliformes y no coliformes).

Se sugieren los siguientes volúmenes de muestras por filtrar, para que correspondan a las enumeraciones esperadas de coliformes:

Colonias de coliformes por 100 ml	Volumen de filtración, ml
1 a 80	100
81 a 320	25
321 a 1,300	6
1,001 a 4,000	2
4,001 a 16,000	0.5

Para enumeraciones más elevadas de bacterias coliformes deben emplearse volúmenes menores.

Si se esperan fluctuaciones en la densidad de las bacterias coliformes, puede ser necesario filtrar dos, o más, volúmenes de muestra, para llegar a resultados confiables. Por ejemplo, si se esperan enumeraciones de bacterias coliformes entre 300 y 16,000 por 100 ml, es mejor filtrar una muestra de cada uno de los volúmenes de 6, 2 y 0.5 ml.

2. ADVERTENCIA

Este manual contiene una versión abreviada del método de filtros de membranas que se presenta en los *Métodos Estándar*. Como estos *Métodos Estándar* permiten una considerable variación en la selección personal de equipo, medios de cultivo y procedimientos de ensayo, debe consultarse la última edición para una relación completa de todas las opciones permisibles.

3. APARATOS

3.1 Equipo para esterilización:

a) Una estufa de esterilización. La estufa debe ser

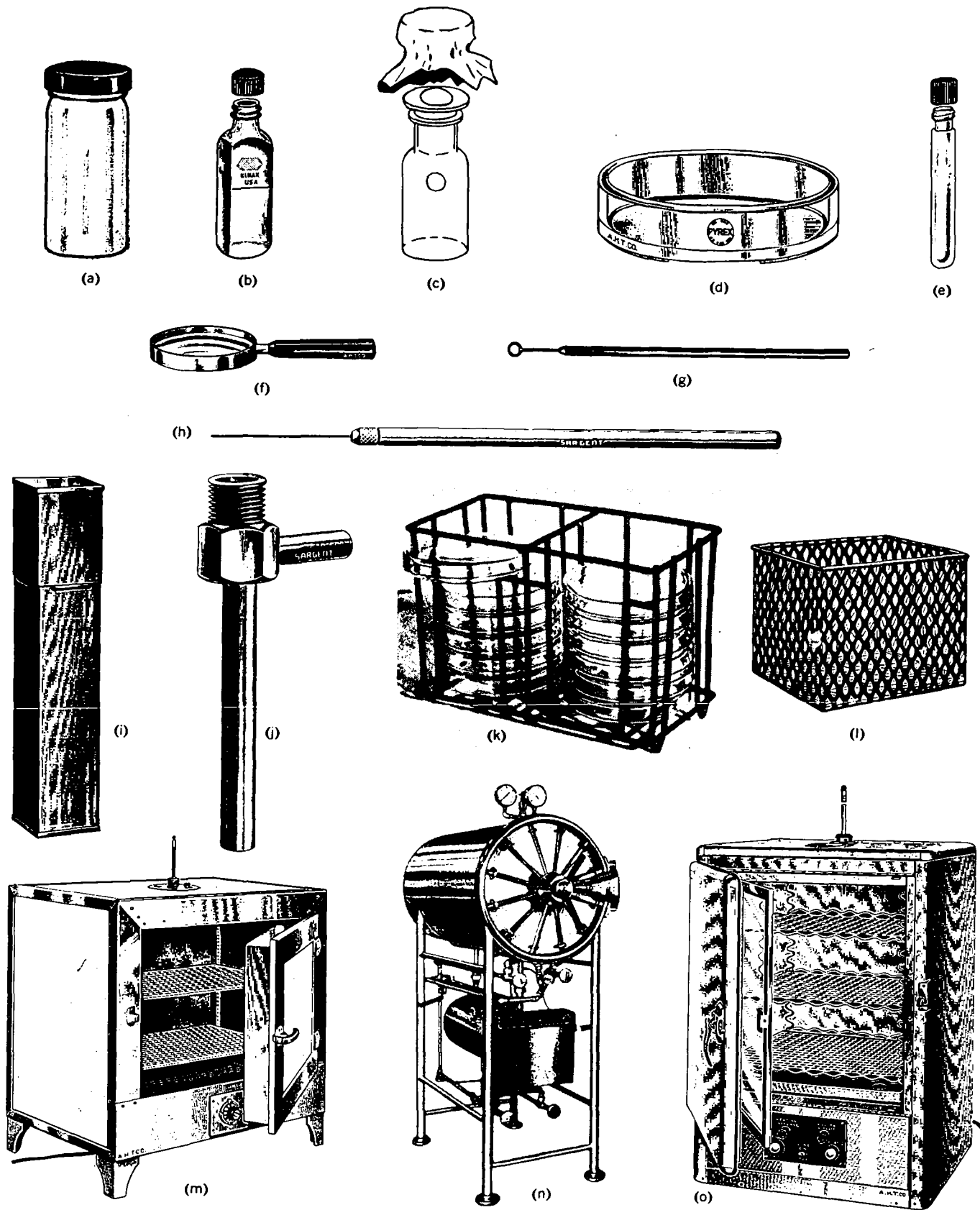


FIG. 10. APARATOS BACTERIOLÓGICOS

suficientemente grande para que permita el almacenamiento, un tanto disperso, de artículos tales como pipetas, cajas de Petri, tubos de ensayo, frascos de muestra y otra cristalería y aparatos secos que se tienen que esterilizar por el procedimiento del calor seco. Es esencial la libre circulación del aire caliente alrededor del equipo; por lo tanto, deben evitarse aglomeraciones. Si es necesario, se esteriliza más de una carga de la estufa. La estufa debe encontrarse provista de un regulador de temperatura y de un termómetro y, normalmente, se debe operar a una temperatura de 170°C. Para la mayor parte de la cristalería, el tiempo necesario de esterilización es de 1 hora, a 170°C.

b) Una autoclave. La autoclave debe ser suficientemente grande para permitir la libre circulación del vapor vivo alrededor de la carga normal que se va a esterilizar por este procedimiento. Debe estar equipada con un manómetro indicador de presión y un termómetro, con el bulbo del termómetro localizado, en forma adecuada en el tubo de escape. La operación de la autoclave debe verificarse estrictamente de acuerdo con las instrucciones del fabricante y en forma tal que todo el aire encerrado en la cámara se sustituya con vapor. Las temperaturas de esterilización deben alcanzarse dentro de los 30 minutos de la iniciación del proceso.

3.2. Una incubadora, equipada con un regulador de temperatura y diseñada en tal forma que la temperatura, en todo el volumen útil del aparato, se mantenga en 35°C \pm 0.5°C. La cámara debe ser suficientemente grande para que permita el libre paso del aire alrededor de los cultivos cuando se cargue la incubadora a su máxima carga de trabajo esperado. Para comprobar la temperatura en una incubadora grande, deben colocarse uno o más termómetros en lugares representativos de la cámara y mantenerse registros periódicos (de preferencia, diarios) de las temperaturas. En la cámara de incubación se debe mantener una humedad saturada o casi saturada. Si la incubadora no se encuentra equipada con un humidificador automático, se debe conservar en todo tiempo, dentro de la cámara, una charola somera con agua.

3.3. Una balanza para pesar los medios pulverizados de cultivo y los reactivos para las soluciones. La mayor parte de las pesadas corresponden a cantidades que va-

rían de 1 a 100. La balanza debe pesar con una exactitud de \pm 2 g, bajo una carga de 150 g.

3.4. Un alambique para agua o un aparato para desionización. Deben producir una agua atóxica, libre de sustancias que prevengan o, en otra forma, interfieran con el desarrollo de las bacterias.

3.5. Frascos para muestra, suficientemente grandes para contener, cuando menos, 100 ml de muestra, con un espacio vacío suficiente para permitir un completo mezclado cuando se agita la muestra. Las tapas de los frascos deben ajustar herméticamente. Si no se usan tapones de cristal, debe comprobarse que se encuentran libres de sustancias solubles que puedan interferir con la proliferación de bacterias. Debe agregarse una pequeña cantidad (20 a 50 mg) de tiosulfato de sodio, en solución o, cristalizado a cada frasco limpio de muestra que se intente usar para la recolección de muestras de aguas cloradas. Los frascos de muestras que se cierran por tapones encajados o insertados en el cuello, necesitan de una atención especial contra la contaminación externa, mientras se toma la muestra. Se debe sujetar en la parte superior del tapón una pieza de papel que, antes de la esterilización, se ata alrededor del cuello del frasco (véase figura 10c). En esta forma se puede esterilizar el frasco en una estufa de esterilización.

3.6. Frascos de dilución, para contener 99 \pm 2 ml de agua de dilución, con un espacio vacío suficiente para mezclarlos por agitación. Son excelentes para este propósito los frascos con tapas de rosca, siempre que éstas se encuentren libres de sustancias tóxicas solubles (figura 10b).

3.7. Pipetas graduadas, de 1 ml y de 10 ml.* La pipeta de 1 ml se debe encontrar graduada en 0.1 ml y sus múltiplos y la pipeta de 10 ml, cuando menos, en 1.0 ml y sus múltiplos. Deben desecharse de inmediato las pipetas con la punta lastimada. Muchos laboratoristas insertan un pequeño tapón de algodón donde comienza la boquilla de la pipeta. Las pipetas se conservan, en forma conveniente, en recipientes metálicos (pipeteros), que se esterilizan cargados con ellas y que se fabrican especialmente para este propósito. Debe utilizarse un pipetero separado para cada tamaño de pipeta. Las pipetas también se pueden envolver separadamente y esterilizarse con calor.

3.8. Equipo para la preparación de medios. Los recipientes de cristal o de metal inoxidable, el equipo de calentamiento y los agitadores que se usen en la preparación de los medios deben estar limpios y libres de sustancias tóxicas solubles.

* Toda la cristalería se debe encontrar absolutamente limpia. Consúltese la introducción a este manual sobre la limpieza de la cristalería (pág. 15). La cristalería de borosilicato, que se vende bajo los nombres comerciales de "Pyrex" y "Kimax", es la mejor para trabajos bacteriológicos debido a que es relativamente inerte a los reactivos y por su estabilidad térmica.

←
Clave: (a) frasco de muestra con tapa rosca; (b) frasco de agua de dilución; (c) frascos para muestra, con tapón de cristal y cubierta protectora; (d) caja de Petri; (e) tubo de ensayo con tapón de rosca; (f) lupa; (g) asa de inoculación; (h) aguja de inoculación; (i) pipetero; (j) trompa de vacío hidroaspiradora; (k) canastilla para cajas de Petri; (l) canastilla para tubos de ensayo; (m) esterilizador de aire caliente; (n) autoclave; (o) incubadora.

3.9. Un mechero de gas, Bunsen o de tipo similar.

3.10. Equipo de filtración:

a) Una trompa de vacío, una bomba eléctrica de vacío o cualquier medio conveniente para producir, cuando menos, una presión diferencial de media atmósfera.

b) Un matraz de filtración al vacío. Es adecuado el de 1 litro de capacidad. Se conecta a la fuente de vacío 3.10 (a) por medio de un tubo de caucho, de suficiente espesor de paredes, para evitar que se aplaste al aplicar el vacío. Es excelente el tubo de látex con orificio de 5 mm y paredes de 2.4 mm de espesor. Con este tipo de tubo se puede mantener el vacío, bastando unas pinzas de mordaza para interrumpirlo cuando sea necesario.

c) Una unidad portafiltro. Esta unidad consiste de dos partes. La parte inferior, o basal, que se monta en el matraz de filtración al vacío por medio de un tapón de caucho número 8, soporta el filtro de membrana en la unidad ya armada. Su superficie porosa permite, durante la operación, el libre paso del agua filtrada hacia el matraz de filtración. La parte superior, que se sujeta o se asegura a la porción basal durante la operación, tiene una forma similar a un embudo para inducir al agua que se va a filtrar hacia la zona apropiada del filtro de membrana. La unidad portafiltro se puede fabricar de cristal o de metal en cualquiera de sus diversos diseños (figura 11). Si es de metal, el cobre no debe ser componente de cualquier parte que se encuentre expuesta a las muestras. Las dos partes de la unidad de filtración se envuelven, separadamente, en papel y se esterilizan en autoclave por no menos de 15 minutos a 121°C. Ninguna unidad, con partes de caucho o de plástico, debe colocarse en la estufa de esterilización.

Un soporte, con un anillo abierto, proporciona un apoyo conveniente para la parte superior de la unidad de filtración, cuando se desmonta (figura 11).

3.11. Cajas de Petri, de cristal o de plástico, de 60 × 15 mm, para contener los cultivos. Por lo general, las cajas de plástico son para una sola aplicación, descartándose sin esterilización. Las cajas de cristal se pueden usar repetidas veces.

3.12. Filtros de membranas, de 47 a 50 mm de diámetro, con poros de un diámetro adecuado para exámenes bacteriológicos en aguas (0.4 a 0.7 micras).

Los filtros de membrana aprobados, se pueden envolver en unidades convenientes, en paquetes de papel y se esterilizan en autoclave por 10 minutos, a 121°C. con secado por el escape rápido del vapor al finalizar el período de esterilización.

3.13. Cojines absorbentes para los nutrientes, que consisten de discos de papel filtro, aproximadamente de 1 mm de espesor, que tienen el mismo diámetro que las membranas con los que se utilizan. Para su preparación y esterilización, debe seguirse el mismo procedimiento que se recomienda para los filtros de membranas (3.12).

3.14. Pinzas. Se utilizan pinzas estériles para la manipulación de los filtros de membrana estériles y para los cojines absorbentes estériles. Las pinzas deben tener puntas redondeadas (nunca agudas) y han de estar convenientemente curvadas en los extremos (figura 11).

3.15. Aparatos para la enumeración de colonias. Se puede usar una lupa simple, con aumentos de 4 a 5 diámetros, para examinar y contar o enumerar las colonias coliformes. Se obtienen mejores resultados con un microscopio binocular de disección, de campo amplio. Como fuente luminosa se recomienda una lámpara fluorescente, con dos bulbos de 4 vatios, montados en una caja reflectora. Tiene la ventaja de su elevada luminosidad y de su poco calor, lo que permite el examen de los resultados cerca de la fuente luminosa.

4. SOLUCIONES Y MEDIOS DE CULTIVO

4.1. Agua amortiguada para dilución. Se usa agua de dilución, amortiguada y estéril, para preparar las diluciones de las muestras, antes de su inoculación a los medios de cultivo, lo mismo que para lavar el aparato de filtración después de la siembra de la muestra. Las soluciones de agua amortiguada de dilución se preparan a partir de una solución madre amortiguadora de fosfatos, en la forma siguiente:

a) Solución madre. Se disuelven 34.0 g de fosfato diácido de potasio (también llamado *fosfato monobásico de potasio*), KH_2PO_4 , en 500 ml de agua. Se comprueba el valor del pH de la solución de fosfato, en la forma que se describe en la página 39. Si es necesario, se agregan pequeñas cantidades de solución de hidróxido de sodio 1 N, hasta que el valor del pH de la solución alcance 7.2 (La solución de hidróxido de sodio se prepara por disolución de 4.0 g de NaOH en 100 ml de agua destilada). Después del ajuste del valor del pH, se agrega suficiente agua destilada para completar un volumen total de 1 litro de solución madre. Cuando no se utiliza, se conserva en un recipiente hermético, a temperaturas de 4° a 10°C, para evitar cambios en la concentración, como resultado de la evaporación. Si se observan indicaciones de mohos o de otras proliferaciones durante el reposo, se desecha y se prepara una nueva solución madre.

b) Solución de trabajo. Se agregan 1.25 ml de la solución madre a 1 litro de agua destilada y se distribuyen en los frascos para agua de dilución, en volúmenes que proporcionen 99 ± 2 ml después de la esterilización en autoclave. Antes de la esterilización, estos frascos con agua de dilución se tapan sin presionar. El agua amortiguada de dilución se esteriliza en autoclave por 20 minutos, a 121°C. Después de la esterilización, se tapan con firmeza los frascos de agua de dilución y se almacenan, hasta que se necesiten, en un lugar limpio.

4.2. Medio MF caldo Endo-M. Se disuelven 2.4 g del medio de cultivo deshidratado, disponible comercialmen-

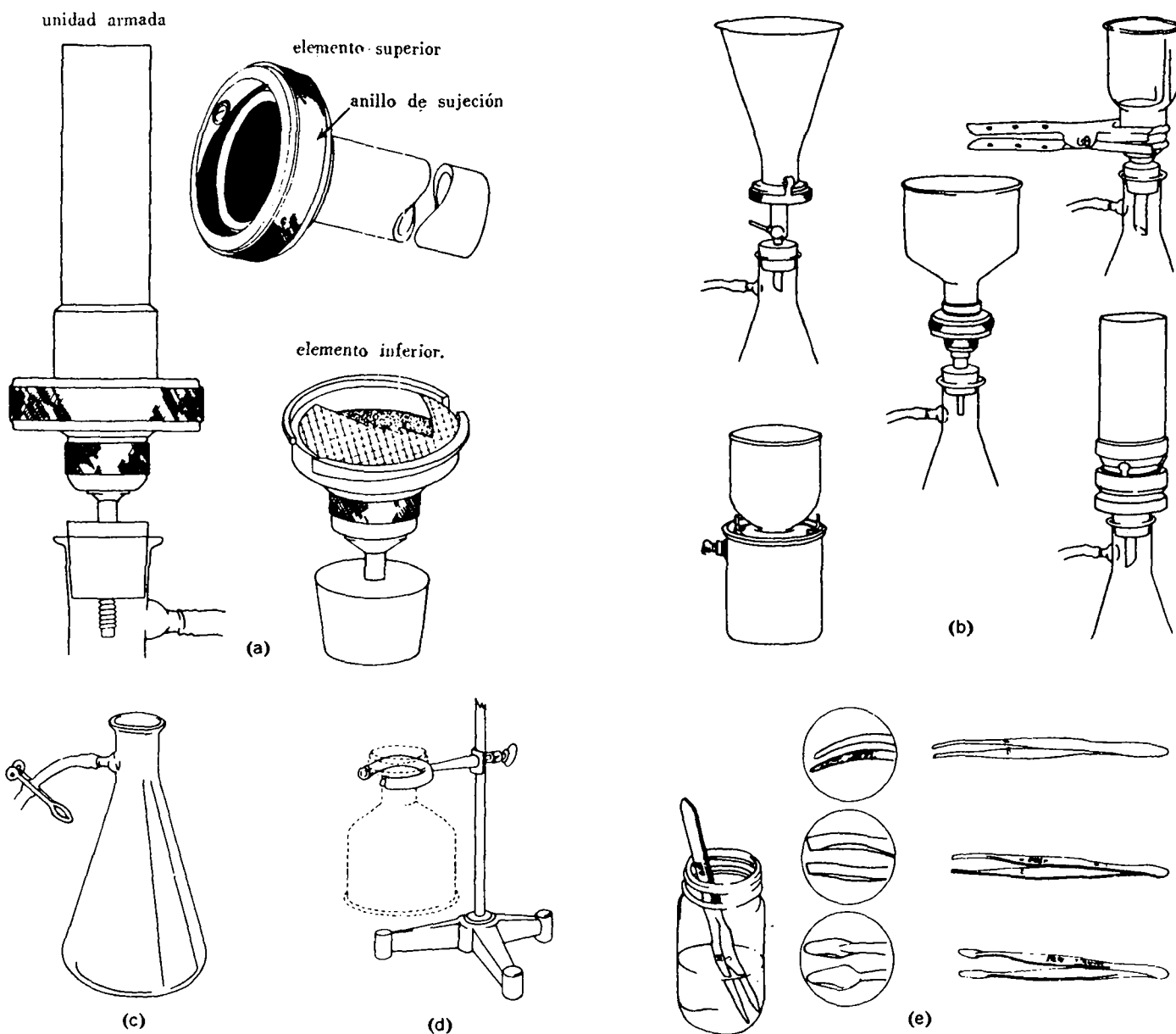


FIG. 11. APARATOS PARA LOS FILTROS DE MEMBRANA

Clave: (a) elementos de la unidad de filtración; (b) unidades de filtración de diversos diseños; (c) matraz de filtración al vacío; (d) soporte con anillo abierto; (e) tipos adecuados de pinzas.

te Difco 0749-02, Difco Laboratories, Detroit, Mich.; o BB1 01-494, Baltimore Biological Laboratories, Baltimore, Md., E. U. A.) en 50 ml de agua destilada; a continuación, se agrega 1 ml de alcohol etílico al 95 por ciento. Se esteriliza por calentamiento suave, justo hasta casi llegar al punto de ebullición. No se debe hervir vi-

gorosamente el medio ni esterilizarse en autoclave. El valor del pH del medio terminado se debe encontrar entre 7.1 y 7.3. El medio se puede mantener hasta por 4 días, en refrigerador, a temperaturas entre 4° y 10°C. Los 50 ml del medio bastan, aproximadamente, para 25 filtraciones.

5. PROCEDIMIENTO DE MUESTREO

Antes de proceder al muestreo, léase cuidadosamente la sección sobre muestreo, en la Introducción de este manual (página 11). Para una discusión más detallada de este tema tan importante, debe consultarse la última edición de los *Métodos Estándar*.

5.1. Las aguas que contengan cloro residual se recolectan en frascos de muestra que contengan tiosulfato de sodio para dechlorarlas.

La omisión de la dechloración hace imposible la interpretación de los resultados porque el cloro continúa aniquilando bacterias mientras se encuentre en el frasco de muestra. En esta forma, los exámenes de laboratorio no pueden apreciar la calidad del agua del abastecimiento en el momento y lugar del muestreo, porque el examen sólo demuestra la condición de la muestra en el momento de iniciación del ensayo.

5.2. El frasco de muestra se mantiene cerrado hasta el instante de recolección de la muestra. Cuando se destapa el frasco, debe evitarse tocar cualquier parte del mismo que vaya a quedar en contacto directo con la muestra de agua. Si se ha colocado una tira de papel entre el tapón y el cuello del frasco, se descarta antes de tomar la muestra.

5.3. Para evitar la pérdida de tiosulfato de sodio contenido en el frasco de muestra, no debe enjuagarse ese frasco con el agua que se vaya a muestrear.

5.4. Cuando se recolecta la muestra se toma cuando menos, un volumen de 100 ml, aunque no debe llenarse el frasco a más de cuatro quintos de su capacidad.

5.5. Cuando se recolecta una muestra de un grifo o de una bomba, debe permitirse que el agua escurra libremente por 4 a 5 minutos antes de colocar el frasco en la corriente de agua. Si la muestra se toma de una fuente superficial, como ríos, lagos o embalses, la muestra se recolecta en un lugar tan cercano como sea posible al sitio de toma hacia la planta potabilizadora. El frasco de muestra se maneja en tal forma que se recolecte una muestra que sea verdaderamente representativa de la fuente. La muestra no debe tener ningún contacto con la persona, la ropa o cualquier objeto usado por el muestreador para acercarse al punto de recolección.

5.6. Se registra inmediatamente la temperatura del agua en la fuente y, hasta donde sea posible, se conserva a la muestra a esta temperatura. La muestra se transporta al laboratorio en el menor tiempo posible.

5.7. Si es posible, se inician los procedimientos de examen de laboratorio dentro de un lapso de una hora siguiente a la recolección de la muestra. Para ser válido, el examen se debe iniciar dentro de las 24 horas siguientes a la recolección de la muestra.

5.8. Registro e identificación de las muestras:

a) Tan pronto como la muestra llegue al laboratorio, se anotan todos los informes pertinentes sobre la misma,

en la forma impresa de registro de laboratorio. (Es adecuada una libreta empastada o de hojas perforadas que contengan las formas impresas; se deben satisfacer los requisitos de la autoridad estatal de salubridad o de cualquiera otro organismo regulador que tenga jurisdicción sobre el abastecimiento).

b) Se registran los siguientes informes iniciales sobre la muestra: el número que se le asigne en el laboratorio, la fuente de la muestra, la fecha y hora de recolección, la temperatura del agua en la fuente, el nombre del muestreador y la fecha y hora en que la muestra se recibe en el laboratorio.

c) Se registran los siguientes informes sobre la prueba: la fecha y hora en que se iniciaron las operaciones de laboratorio, los volúmenes de muestra que se usaron para los exámenes y el nombre del laboratorista encargado del examen. La forma de laboratorio también debe contener espacios para registrar todos los resultados que se obtengan durante las distintas fases de las operaciones de laboratorio, un sumario de los resultados y las determinaciones cuantitativas.

6. PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO

6.1. Se limpia la cubierta de la cómoda de laboratorio con agua o, de preferencia, con una solución desinfectante adecuada. Se permite que la cubierta se seque antes de iniciar el trabajo.

6.2. Se sitúan en una fila o en una serie de filas, todas las cajas de Petri estériles que se deban usar con las muestras.

6.3. Se rotulan las cajas de Petri, para que correspondan al número de la muestra registrado en la hoja de datos.

6.4. Se abren todas las cajas de Petri, se invierten las tapas de ellas y se colocan a un lado de las porciones inferiores de las mismas. Se coloca un cojín absorbente en la porción inferior de cada una de las cajas de Petri. Se usan pinzas estériles para todas las manipulaciones de los cojines absorbentes.

6.5. Por medio de una pipeta estéril se vierte suficiente medio MF Endo-M, para saturar cada cojín absorbente. El volumen del medio de cultivo necesario para cada cojín absorbente, es, aproximadamente, de 2 ml, aunque no se puede indicar con precisión. Se aplica suficiente medio de tal modo que cuando se incline el recipiente, escurra libremente hacia afuera del cojín absorbente una gota de buen tamaño del medio. Se vuelven a colocar las tapas de las cajas de Petri.

6.6. Para una filtración conveniente de la muestra, se disponen los siguientes suministros y equipo en la cubierta de la cómoda de laboratorio:

a) La unidad de filtración (estéril al comenzar las series de filtraciones), con el matraz de filtración al vacío conectado a la fuente de vacío. (Es opcional el so-

porte con el anillo abierto, para sujetar la parte superior de la unidad de filtración).

b) Las cajas de Petri, rotuladas, con los cojines absorbentes saturados con el medio de cultivo.

c) Filtros de membrana, estériles.

d) Un recipiente de alcohol, con las pinzas.

e) Un mechero de gas.

f) Una probeta graduada y pipetas para la medición de la muestra.

g) Porciones de agua de dilución estéril, en volúmenes de 99 ml.

6.7. Se coloca un filtro estéril de membrana, con la retícula hacia arriba, sobre la parte de la base de la unidad de filtración, centrándola sobre la porción porosa de la placa-soporte de la membrana. Los filtros de membrana se dañan con facilidad. Para manipularlos, se utilizan las pinzas estériles y *siempre* se toma el disco del filtro por la parte exterior de la porción del filtro a través de la cual se va a filtrar la muestra. Para conservar estériles las pinzas, *siempre* se mantienen las puntas de trabajo sumergidas en unos 2.5 cm de alcohol etílico o alcohol metílico. Se hace arder el alcohol de las pinzas cuando éstas se vayan a usar. No deben mantenerse las pinzas sobre la llama por más tiempo del necesario para que arda el alcohol.

6.8. Se monta la unidad de filtración, fijando la porción superior (el embudo) sobre la parte de la base. Debe tenerse cuidado para no dañar el filtro de membrana en la unidad de filtración.

6.9. Se agita vigorosamente el frasco de muestra, aproximadamente, 25 veces, con movimientos ascendentes y descendentes.

6.10. Con el vacío cortado, se vierte la muestra medida para el examen en la unidad de filtración. Si la muestra es de menos de 10 ml, se la debe preceder por el vertido de, aproximadamente, 10 ml (no medidos) del agua estéril de dilución. Si la muestra es de 10 ml o más, no se necesita agregar agua de dilución en la unidad de filtración antes de la muestra.

6.11. Se aplica el vacío para acelerar la filtración de la muestra a través de la membrana. Después de que pasa la muestra a través del filtro de membrana, se corta el vacío.

6.12. Se lava el embudo con 20 a 30 ml de agua de dilución estéril. Se repite el lavado después de que el primero haya pasado a través del filtro.

6.13. Se desmonta la unidad de filtración. Se utilizan unas pinzas estériles para retirar el filtro de membrana de la base del portafiltros. Se coloca cuidadosamente el filtro, con la retícula hacia arriba, sobre el cojín absorbente, dentro de la caja de Petri apropiada (figura 12). Se inspecciona el filtro, tratando de encontrar burbujas de aire que se encuentren aprisionadas entre el cojín absorbente y la membrana. Si es necesario, se recoloca el filtro sobre el cojín absorbente. Como las burbujas de aire interfieren con la difusión del medio de



FIG. 12. COLOCACION DE LA MEMBRANA SOBRE EL COJIN ABSORBENTE QUE CONTIENE EL MEDIO DE CULTIVO

cultivo del cojín absorbente a través del filtro de membrana, se reduce la captura de burbujas disponiendo de suficiente medio en el cojín absorbente que sirva de nutriente, así como curvando el filtro de membrana al ser colocado en su posición adecuada sobre el cojín absorbente.

6.14. Después de terminar cada filtración, se procede a la siguiente filtración de la serie, sin reesterilizar la unidad de filtración. Sólo se necesita la reesterilización de la unidad al terminar la filtración de una serie consecutiva. Si transcurren más de 15 minutos entre la filtración de muestras sucesivas, se reesteriliza la unidad sumergiéndola en agua hirviendo por 2 minutos, enfriándola antes de la filtración siguiente.

6.15. A la terminación de las filtraciones, se invierten las cajas de Petri, bien cerradas y se colocan en una incubadora a 35°C, en una atmósfera saturada de humedad, durante 18 a 22 horas. Si toda la incubadora no se encuentra saturada de humedad, se colocan los cultivos en un recipiente herméticamente cerrado, con toallas húmedas de papel u otro material húmedo.

6.16. Después de la incubación, se retiran los cultivos y se enumeran las colonias de bacterias coliformes en la forma siguiente: Se utiliza un microscopio de disección de campo amplio o (lo que es menos conveniente) una lupa simple. Se sitúa una fuente luminosa, de gran superficie, cerca de las colonias de bacterias. La fuente se ajusta en forma tal que la luz se refleja directamente desde las superficies de las colonias hacia el microscopio o la lupa.

Las colonias de bacterias coliformes se observan rojas o rosas, con un lustre verde-oro o metálico en su superficie. Las colonias de bacterias no coliformes varían de incoloras a rosa o rojo, pero carecen del lustre metálico característico.

6.17. Se registra el número de colonias de bacterias coliformes en la hoja respectiva.

7. INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

7.1. Para responder a una pregunta sobre la seguridad bacteriológica del agua, se tiene una buena guía en los límites establecidos en las Normas para Agua de Bebida del Servicio Federal de Salud Pública de los E. U. A. Estos límites se basan en la utilización de una muestra estándar con un volumen mínimo de 50 ml (siendo preferible 100 ml). Las Normas indican que, cuando se aplica la técnica de los filtros de membranas, el promedio (esto es, la medida aritmética) de la densidad de bacterias coliformes de todas las muestras normales que se examinen por mes no debe exceder de 1 colonia por 100 ml. Más aún, con respecto a las muestras estándar individuales, el número de colonias no debe exceder de 3 por 50 ml (ó 4 por 100 ml, ó 7 por 200 ml, ó 13 por 500 ml):

a) En dos muestras consecutivas; o

b) En más de una muestra, si mensualmente se examinan menos de 2 muestras; o

c) En más del 5 por ciento de las muestras, si mensualmente se examinan 20, o más, muestras.

Cuando las colonias de bacterias coliformes en una sola muestra estándar exceden de los números anteriores, se deben tomar muestras diarias de la misma estación de muestreo y someterlas a examen, hasta que los resultados que se obtengan, cuando menos con dos muestras consecutivas, demuestren que el agua es de calidad satisfactoria.

7.2. Cuando se desea una interpretación cuantitativa más que cualitativa, pueden aplicarse los cálculos siguientes para determinar el número de colonias coliformes en una muestra:

a) Si inicialmente se ha filtrado más de un volumen de muestra, se selecciona aquel que haya producido entre 20 y 80 colonias de bacterias coliformes, pero no más de 200 colonias de todos los tipos. Se divide el número de colonias por el número de mililitros de muestra filtrada y el resultado se multiplica por 100. Se obtiene, de este modo, el número de colonias por 100 ml de muestra. El número se redondea a dos cifras significativas.

Ejemplo: Supóngase que se contaron 34 colonias de bacterias coliformes sobre un filtro de membrana, a través del cual se filtraron 25 ml de muestra; por consiguiente, $34 \times 100 \div 25 = 136$. Por lo tanto, el número de bacterias coliformes por 100 ml (aproximando a dos cifras significativas) es 140.

b) Si ninguna muestra, de una serie de volúmenes de muestra, produce entre 20 y 80 colonias de bacterias coliformes sobre un filtro, se selecciona el filtro que más se acerque a tal requisito y se hacen los cálculos como en el caso anterior. En este caso, se anota que la enumeración se realizó en condiciones diferentes de las ideales; muchos laboratoristas denominan estos resultados "enumeraciones estimadas".

c) Si dos filtros de membrana, de una serie de filtraciones de muestra, producen entre 20 y 80 colonias de bacterias coliformes, se divide el número total de colonias contadas en ambos por el número total de mililitros filtrados y se multiplica por 100.

Ejemplo: Se supone que se contaron 22 colonias coliformes en un filtro que representaba 5 ml de muestra y que se enumeraron 75 colonias de bacterias coliformes de una porción de muestra de 15 ml. Por lo tanto,

$$\frac{22 + 75}{5 + 15} \times 100 = \frac{97}{20} \times 100 = \frac{9,700}{20} = 485$$

entonces, el número de colonias de bacterias coliformes por 100 ml (aproximando a dos cifras significativas) es de 490.

B. Método de Fermentación en Tubos Múltiples

1. GENERAL

El método de fermentación en tubos múltiples determina la presencia y el número de bacterias coliformes, mediante la siembra de una serie de porciones de un volumen determinado de muestra en tubos que contengan un medio favorable de cultivo. La prueba progresa a través de tres fases distintas: la Prueba Presuntiva, la Prueba Confirmada y la Prueba Completa. Es posible detener el examen de una muestra de agua al finalizar

cualquiera de estas fases siempre que se haya satisfecho el propósito de la prueba, o el examen se puede continuar directamente de una fase a la otra. La figura 13 muestra la relación de las tres fases. La Prueba Confirmada y la Prueba Completa aumentan la certidumbre de que los resultados positivos que se obtienen en la Prueba Presuntiva se deben, de hecho, a bacterias coliformes y no a la actividad de otras clases de bacterias.

La Prueba Completa es la prueba estándar para la determinación de la inocuidad bacteriológica de un

agua, de acuerdo con las Normas para Agua de Bebida del Servicio Federal de Salud Pública de los E. U. A. Según dichas normas, es permisible la terminación del examen después de la Prueba Confirmada, aunque solamente cuando se ha demostrado, por una serie de exámenes paralelos, que la Prueba Confirmada proporciona resultados equivalentes a la Prueba Completa. En la práctica rutinaria, los exámenes bacteriológicos de las aguas de muchos abastecimientos públicos se terminan al finalizar la Prueba Confirmada. La Prueba Confirmada también es de valor en los exámenes de aguas tanto de la fuente del abastecimiento como de aquella proveniente de los procesos en una planta potabilizadora.

El método de los tubos múltiples se basa en leyes de probabilidades y se utiliza para obtener una estimación del número de bacterias en una muestra, que se expresa como el Número Más Probable (NMP). Por esta razón, generalmente se le llama "método del NMP". Requiere la siembra inicial, en medios de cultivo, de una, o más, porciones de volumen determinado de muestra y, a continuación, la aplicación de ensayos con un cultivo cualitativo adecuado en cada porción. Para cada porción de muestra se busca una respuesta "positiva" o "negativa", en relación con la presencia de bacterias coliformes. Después de terminar los procedimientos de laboratorio, se hace un sumario de todos los resultados positivos y negativos que se relacionan con los volúmenes iniciales de muestra que se sembraron. Por último, se determina el valor NMP, aplicando las tablas de los Números Más Probables, en lugar de hacer un cálculo separado por cada muestra.

En los *Métodos Estándar* se ofrecen diferentes técnicas para inoculación de la muestra. Se describen dos en este manual (la aplicación de laboratorio de las otras técnicas es generalmente similar). La técnica A, que se refiere a la siembra inicial de cinco porciones de 10 ml, se recomienda para los ensayos de aguas de calidad potable. Para una prueba más sensible, esta técnica se puede aplicar a la siembra de cinco porciones de 100 ml de la muestra, lo que se prefiere en varias plantas potabilizadoras. La técnica B comprende la siembra de cinco porciones de 10 ml, cinco porciones de 1 ml y cinco porciones de 0.1 ml y se recomienda para los ensayos de aguas, de calidad inferior a la de agua para bebida. Esta técnica de inoculación se aplica cuando se conoce que se tienen presentes bacterias coliformes y el propósito de la prueba es la determinación de su número.

Cuando se necesitan pruebas de diferentes sensibilidades, se pueden variar los volúmenes de muestra de cualquiera de estas técnicas. Por ejemplo, el plan de inoculación de la técnica B se puede modificar para sembrar cinco porciones de 1 ml, cinco de 0.1 ml y cinco de 0.01 ml.

Sólo se pueden obtener resultados cuantitativos cuando los volúmenes de muestra, que se siembran originalmente, se seleccionan en forma tal que, en una serie de

tubos de cultivo sembrados con volúmenes definidos de muestra, se obtienen resultados positivos de algunas porciones de muestra y resultados negativos de otras. Con cinco porciones de muestra, de cada uno de los volúmenes de 10 ml, 1 ml y 0.1 ml, respectivamente, pueden obtenerse resultados cuantitativos que varían de 2 a 542 bacterias coliformes por 100 ml. Para ampliar la escala a densidades más altas de bacterias coliformes, se pueden agregar fracciones más pequeñas de muestra a la serie. Cuando las densidades coliformes son regularmente elevadas, se pueden omitir uno, o más, de los incrementos más grandes de muestra, como se indica a continuación:

Densidad esperada de coliformes, por 100 ml	Series decimales (5 tubos de cada una)
2 - 542	10, 1 y 0.1 ml
20 - 5,420	1, 0.1 y 0.01 ml
200 - 54,200	0.1, 0.01 y 0.001 ml
2,000 - 542,000	0.01, 0.001 y 0.0001 ml

Con algunas muestras de fuentes de muestras, es engañosa la aparente facilidad de selección de una de las series anteriores de tres incrementos decimales. Las grandes fluctuaciones en la densidad de los coliformes pueden obligar a siembras iniciales de cuatro o aun cinco incrementos decimales, para poder tener la seguridad de resultados de laboratorio en los que algunos tubos den resultados positivos y algunos den resultados negativos. La necesidad de sembrar más de tres incrementos de muestra la proporciona la experiencia con el agua que se está ensayando.

2. ADVERTENCIA

Este manual contiene una versión condensada del método de fermentación en tubos múltiples, que se presenta en los *Métodos Estándar*. Como los *Métodos Estándar* permiten una considerable variación en la selección personal del equipo, medios de cultivo y procedimientos de ensayo, se debe consultar la última edición, para una relación completa de todas las variables permisibles y de su aplicación.

3. APARATOS

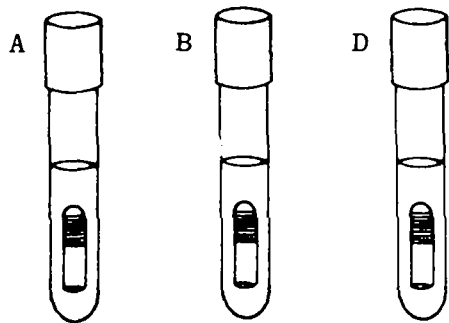
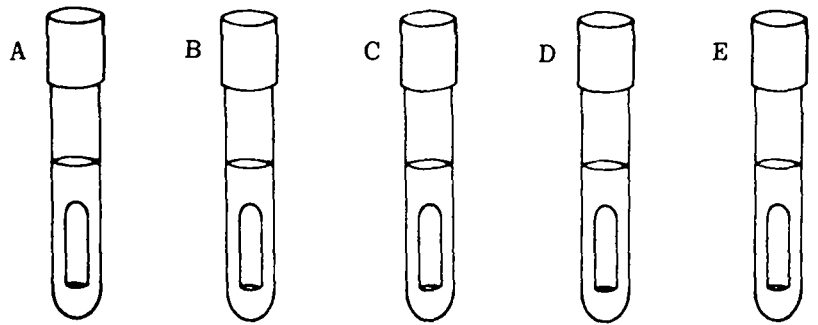
3.1. Equipo para esterilización:

a) Una estufa de esterilización. Véase Método del Filtro de Membranas, sección 3.1 (a).

b) Una autoclave. Véase Método del Filtro de Membrana, sección 3.1 (b). La exposición total del medio

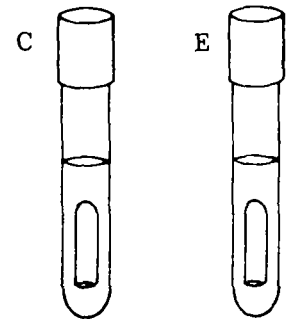
A. PRUEBA PRESUNTIVA

Se inoculan 10 ml de la muestra de agua a cada uno de los 5 tubos del caldo de lauril triptosa, y se incuban por 24 ± 2 horas a $35^\circ \pm 0.5^\circ\text{C}$.



Existe producción de gas
Prueba presuntiva positiva

sin gas o con producción dudosa de gas
Se incuba por 25 horas más.
(Incubación total 48 ± 2 horas)



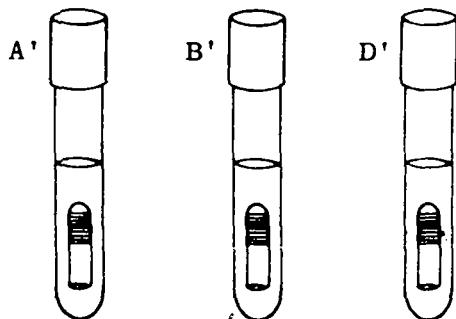
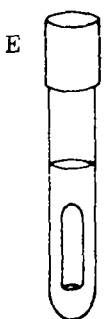
B. PRUEBA CONFIRMADA. Se transfiere con el asa un inóculo a:

Caldo lactosado con bilis y verde brillante. Se incuba por 48 ± 2 horas, a $35^\circ \pm 0.5^\circ\text{C}$.



Existe producción de gas
Prueba positiva

No se produce gas
Grupo coliforme ausente



Se produce gas
Grupo coliforme confirmado

No se produce gas
Prueba negativa
Grupo coliforme ausente

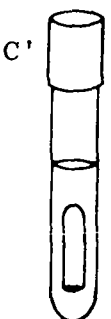
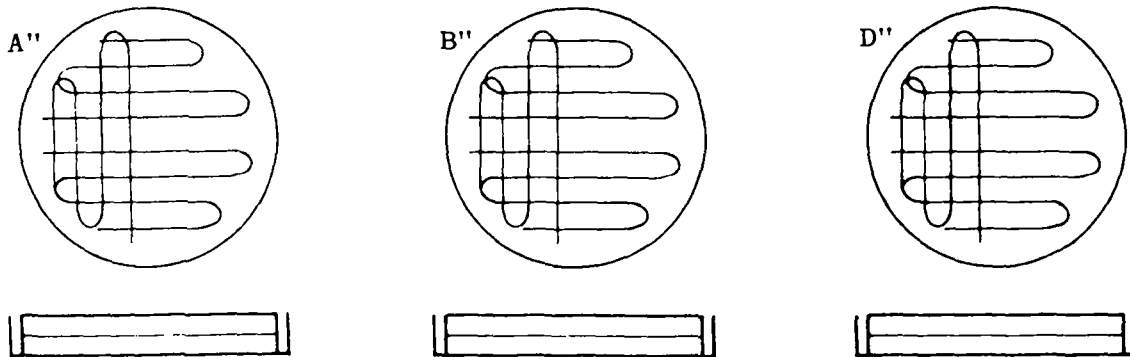
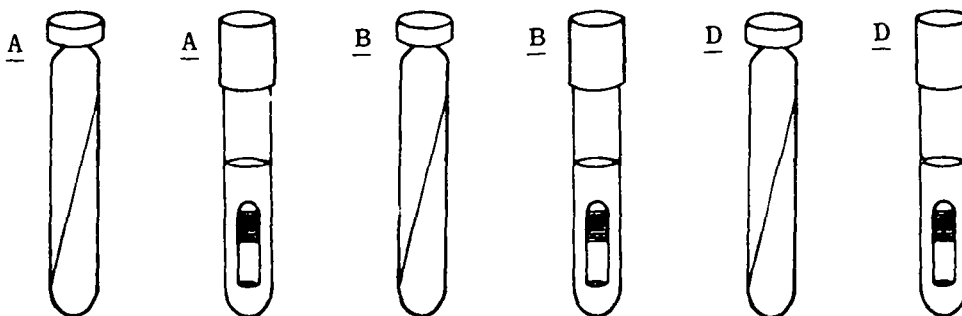


FIG. 13A. DIAGRAMA ESQUEMATICO DE LAS PRUEBAS PRESUNTIVA Y CONFIRMADA

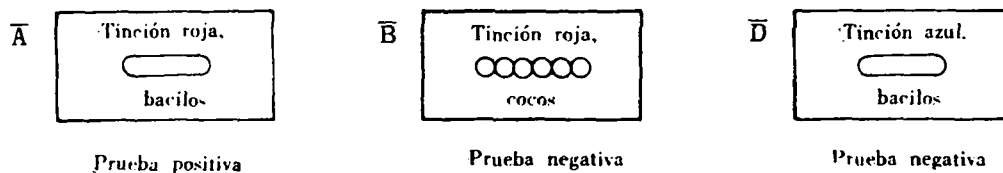
C. PRUEBA COMPLETA. Los inóculos de los tubos A', B' y D' se aplican en estrías sobre las placas de Agar con Eosina y Azul de Metileno. Se incuba por 24 ± 2 horas, a $35^\circ \pm 0.5^\circ\text{C}$.



Se transfiere una pequeña porción del desarrollo de una colonia coliforme típica, que se encuentre en una placa AEAM al Agar Nutriente adoptando un plano Inclinado dentro del tubo de ensayo y al Caldo de Lauril Triptosa. Se incuban los tubos de caldo de Lauril Triptosa por $24 \text{ ó } 48 \pm 2$ horas, a $35^\circ \pm 0.5^\circ\text{C}$.



Se prepara una tinción de Gram con una pequeña porción del desarrollo bacteriano de cada tubo de agar nutriente inclinado.



Prueba completa positiva: Se demuestra la producción de gas, bacilos esporógenos tinción Gram negativa (roja), identificados.

Prueba completa negativa: No se cumple con alguno o con todos los requisitos anteriores de la prueba completa positiva.

FIG. 13B. DIAGRAMA ESQUEMATICO DE LA PRUEBA COMPLETA

de cultivo al calor no debe exceder de 60 minutos, porque si se excede este lapso, se desdobra la lactosa en medios como el caldo de lauril triptosa y el caldo lactosado con bilis y verde brillante.

3.2. Una incubadora. Véase Método del Filtro de Membrana, sección 3.2.

3.3. Una balanza. Véase Método del Filtro de Membrana, sección 3.3.

3.4. Un alambique para agua o un aparato de desionización. Véase Método del Filtro de Membrana, sección 3.4.

3.5. Frascos para muestra. Véase Método del Filtro de Membrana, sección 3.5.

3.6. Frascos de dilución. Véase Método del Filtro de Membrana, sección 3.6.

3.7. Pipetas graduadas. Véase Método del Filtro de Membrana, sección 3.7.

3.8. Equipo para la preparación de medios. Véase Método del Filtro de Membrana, sección 3.8.

3.9. Tubos de cultivo, con pequeños tubos invertidos de fermentación, para utilizarse con el caldo de lauril triptosa y con el caldo lactosado con bilis y verde brillante (figura 15). Muchos laboratoristas prefieren tubos de 20 × 150 mm, con tubitos invertidos de 10 × 75 mm, para contener porciones de 10 ml del medio de cultivo. Para porciones de 20 ml del medio de cultivo, se utilizan tubos de cultivo de 25 × 150 mm con tubitos de fermentación de 10 × 75 mm. Se sugiere que se empleen casquillos de metal para tapar todos los medios de cultivo; estos casquillos cubren unos 25 mm del extremo superior del tubo. Aquéllos deben ser suficientemente holgados para que se puedan retirar con facilidad, aunque no deben desprenderse sin dificultad al agitarlos. No se recomiendan los tubos con casquillos roscados para medios de fermentación.

3.10. Cajas de Petri, de 100 mm de diámetro y 15 mm de profundidad. Se pueden aceptar las cajas de plástico, si se tiene la certeza de que no contienen materiales solubles antibacterianos.

3.11. Microscopio con objetivo de inmersión, para examinar las tinciones Gram.

3.12. Canastillas para tubos de cultivo. Las aberturas deben ser suficientemente amplias para aceptar los

tubos de cultivo de las mayores dimensiones que se utilicen. Uno de los tipos más versátiles es de forma rectangular (diez aberturas por cinco aberturas) para acomodar 50 tubos de cultivo.

3.13. Una asa y una aguja de inoculación, fabricadas en longitudes de 75 ó 100 mm de alambre calibre 24 B & o 26 B & S. El alambre de nicromo es aceptable, aunque es mejor el de platino-iridio. Los tramos de alambre se montan en mangos de metal o de cristal, aproximadamente del diámetro de un lápiz. Para formar una asa, el alambre se dobla en un círculo de 3 a 4 mm de diámetro. Para la aguja de inoculación, el alambre puede ser recto o bien la porción terminal, de unos 3 mm, se puede doblar a un ángulo aproximado de 10°.

3.14. Un mechero de gas, Bunsen o tipo similar.

4. MEDIOS DE CULTIVO Y SOLUCIONES

Los medios deshidratados, de los que se dispone en el comercio, simplifican la preparación de los medios de cultivo y, por lo tanto, son recomendables para trabajos de laboratorio. Difco Laboratories (Detroit, Mich.), Baltimore Biological Laboratories (Baltimore, Md.) y otros proveedores, envasan dichos medios en forma pulverizada, los que se pueden pesar con facilidad, disolver en agua destilada y distribuirse en tubos o en otros recipientes para cultivos, antes de la esterilización.

4.1. Agua amortiguada para dilución. (Véase Método del Filtro de Membrana, sec. 4.1.)

4.2. Caldo de lauril triptosa, para las Pruebas Presuntiva y Completa. Se usa este caldo como el medio de siembra primaria en la Prueba Presuntiva, y para determinar la fermentación de los cultivos puros, aislados, en la Prueba Completa. Este medio se prepara como sigue:

a) Se disuelve en agua destilada cierta cantidad del medio de cultivo deshidratado que produzca un caldo de la concentración apropiada para el volumen de muestra por sembrar. Por ejemplo, para producir un medio de concentración simple (1x), se disuelven 35.6 g del medio deshidratado por litro de agua destilada. Es útil el cuadro siguiente:

Volumen de muestra por tubo, ml	Concentración del medio	Cantidad de medio deshidratado por litro, g	Volumen de medio por tubo, ml	Tamaño del tubo, mm
1	1x	35.6	10	20 × 150
10	1.5 x	53.4	20	25 × 150
100	4 x	142.4	35	frasco de dilución

b) Después de disolver el medio previamente pesado, se distribuye en volúmenes predeterminados en los tubos de cultivo, con el tubito de fermentación invertido, y se esteriliza en autoclave por 15 minutos, a 121°C.

c) El medio esterilizado de cultivo se conserva a la temperatura ambiente (aproximadamente, 25°C) por períodos hasta de una semana. El almacenamiento prolongado, a la temperatura ambiente, da por resultado cambios en la concentración, debidos a la evaporación. No es recomendable el almacenamiento en refrigerador por la probabilidad de que el aire se introduzca en el medio. Este aire disuelto se desprende durante la incubación, dando lugar a tubos falsamente positivos.

4.3. Caldo lactosado con bilis y verde brillante para la Prueba Confirmada:

a) Se disuelven, en un litro de agua destilada, 40 g del medio deshidratado comercialmente disponible, distribuyéndose en porciones aproximadas de 10 ml en tubos de cultivo con tubitos invertidos de fermentación. Se esteriliza por 15 minutos en autoclave, a 121°C. Si es posible, se comprueba el valor del pH del medio, después de la esterilización, con un medidor electrométrico de pH, para comprobar que el valor del pH se encuentra entre 7.1 y 7.4.

b) Se siguen, para la conservación de este medio, las mismas recomendaciones que para el caldo de lauril-triptosa, sec. 4.2 (c). Además, este medio se debe proteger de la luz durante su almacenamiento, para evitar cambios indeseables en el colorante componente.

4.4. Agar con eosina y azul de metileno, para la Prueba Completa. Se prepara como sigue:

a) Se disuelven en un litro de agua destilada, 37.5 g del medio deshidratado comercial. Se calienta hasta la ebullición para fundir y disolver el agar en el medio deshidratado. Mientras está caliente el medio, se distribuye en los tubos o frascos. Muchos laboratoristas prefieren distribuir el medio en porciones de 100 ml en frascos de agua de dilución.

b) Se esteriliza el medio en autoclave por 15 minutos, a 121°C. Después de la esterilización, el valor del pH se debe encontrar entre 7.3 y 7.5. Cuando se desea utilizar el medio, se le derrite, suspendiendo el frasco en agua hirviendo. Se vierte entonces en cajas estériles de Petri, en porciones aproximadas de 15 ml en cada una. Se enfría hasta solidificación; el medio queda listo para su uso.

c) Para períodos prolongados de almacenamiento, el medio estéril se conserva en frascos herméticamente cerrados, a resguardo de la luz. Una vez que se ha vertido el medio en las cajas de Petri, se refrigera y se utiliza dentro de un lapso de uno o dos días siguientes.

4.5. Agar en plano inclinado para el desarrollo de cultivos puros para la preparación de la tinción de Gram cuando se verifica la Prueba Completa:

a) Se disuelven, por litro de agua destilada, 18.5 g del agar nutriente que se encuentra disponible en el co-

mercio. Se calienta lo necesario para derretir y disolver el agar en agua. Se distribuye el medio caliente en porciones de 5 a 10 ml en tubos de cultivo. Se esteriliza a 121°C, por 15 minutos, en autoclave.

b) Al retirarse de la autoclave, mientras el medio se encuentra aún caliente y en un estado fluido, se colocan los tubos en una posición inclinada u oblicua. Se mantienen en esta posición hasta que se haya solidificado el medio. Se recomienda el uso de tubos de ensayo, con tapas roscadas, de cierre hermético, pues se permite así que el medio se almacene casi indefinidamente.

4.6. Solución para la tinción Gram para los frotis de bacterias como una parte de la Prueba Completa:

a) Solución de violeta cristal. Se disuelven 2 g del colorante violeta cristal en 20 ml de alcohol etílico al 95 por ciento, filtrándose a través de un papel filtro grueso o de estopilla de algodón. Se disuelven 0.2 g de oxalato de amonio, $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en 20 ml de agua destilada. Se mezclan estas dos soluciones en porciones iguales. Las dificultades que se tienen con el método de tinción de Gram se pueden resolver, a menudo, reduciendo la cantidad de violeta cristal en esta solución, a cantidades tan bajas como el 10 por ciento de la cantidad antes indicada.

b) Solución de yodo de Lugol. Se disuelven 2 g de yoduro de potasio, KI, en 5 ml de agua destilada. Se agrega 1 g de cristales de yodo a la solución de yoduro de potasio y se agita hasta que se disuelva el yodo. Se agregan 295 ml de agua destilada y se mezcla.

c) Solución de safranina:

1) Solución madre de safranina. Se disuelven 2.5 g del colorante de safranina en 100 ml de alcohol etílico al 95 por ciento.

2) Solución de contraste. Se mezclan 10 ml de la solución madre de safranina por 90 ml de agua destilada.

d) Decolorante. Se usa alcohol etílico de 95 por ciento, solo o mezclado con partes iguales de acetona.

5. PROCEDIMIENTO DE MUESTREO

Véase el Método del Filtro de Membrana, sec. 5.

6. PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO — PRIMER DÍA

Las operaciones del primer día se aplican, en igual forma, para el examen de muestras que se dediquen a la Prueba Presuntiva, a la Confirmada o a la Completa.

6.1. Se preparan los tubos de caldo de lauril triptosa que sean necesarios para la Prueba Presuntiva, disponiéndolos en una canastilla de tubos de cultivo en una forma ordenada. Para la siembra de porciones de muestra de 10 ml, o más, se emplea la concentración especial correcta del caldo de lauril triptosa (véase sec. 4.2).

6.2. Se rotulan los tubos de cultivo señalando el número del examen asignado por el laboratorio, según las hojas de registro y los volúmenes de muestra selecciona-

dos para la siembra. Se ilustra, a continuación, una clave simple de rotulación de series de incrementos decimales, cada uno de los cuales consiste de cinco tubos:

	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5	Explicación
Núm. de laboratorio	471	471	471	471	471	Tubos con 10 ml de muestra
Clave de volumen y tubo	10a	10b	10c	10d	10e	
Núm. de laboratorio	471	471	471	471	471	Tubos con 1 ml de muestra
Clave de volumen y tubo	1a	1b	1c	1d	1e	
Núm. de laboratorio	471	471	471	471	471	Tubos de 0.1 ml de muestra
Clave de volumen y tubo	-1a	-1b	-1c	-1d	-1e	
Núm. de laboratorio	471	471	471	471	471	Tubos de 0.01 ml de muestra
Clave de volumen y tubo	-2a	-2b	-2c	-2d	-2e	

Se puede abreviar el trabajo de identificación de los tubos de cultivo rotulando solamente el primer tubo de cada serie de volúmenes iguales de muestra. Por ejemplo, sólo se rotulan, para la siembra inicial de la muestra aquellos tubos que caigan en la columna "Tubo 1" del cuadro anterior; la identidad de los tubos remanentes queda indicada por sus posiciones relativas en la canastilla. Sin embargo, deben identificarse íntegramente todos los subcultivos posteriores de la muestra original sembrada.

6.3. Se agita vigorosamente la muestra, aproximadamente 25 veces, aplicando movimientos ascendentes y descendentes.

6.4. Se vierten los volúmenes seleccionados de muestra en los tubos rotulados de caldo de lauril triptosa, teniendo cuidado de no introducir cualquier bacteria en el medio de cultivo, excepto aquellas presentes en la muestra misma. Para porciones de muestra de 100 ml se utilizan probetas estériles graduadas de 100 ml, una pipeta estéril de 10 ml para las porciones de 10 ml y una pipeta estéril de 1 ml para porciones de 1 ml, o menos.

La pipeta se maneja sólo cerca de la boquilla; no debe permitirse que la punta de entrega de la pipeta llegue a tocar nada, excepto la muestra misma y el interior del tubo de cultivo. Cuando se utiliza la pipeta para extraer porciones de muestra, no se debe sumergir la pipeta por más de 12 mm en la muestra; de otro modo, la muestra de agua que escurre por el exterior de la pipeta alcanza el medio de cultivo, haciendo imprecisa la medición de la muestra.

Las porciones de muestra de 1 ml, o menos, se entregan, en el interior del tubo de cultivo, cerca de la superficie del medio de cultivo. No se deben entregar pequeños volúmenes en la parte superior del tubo de cultivo o permitir que la muestra escurra por los lados del tubo;

de este modo, una gran porción de la muestra no llega al medio de cultivo.

Los volúmenes de muestra de .01 ml, o menos, se preparan por dilución, en la forma siguiente:

a) Volúmenes de muestra de 0.01 ml y 0.001 ml. Se pipetea 1 ml de la muestra en un frasco que contenga 99 ml de agua de dilución estéril. Se tapa el frasco y se agita vigorosamente. Se pipetean porciones de 1 ml de esta muestra diluida en los tubos de cultivo para obtener 0.01 ml de muestra; se pipetean porciones de 0.1 ml para obtener 0.001 ml de muestra.

b) Volúmenes de muestra de 0.0001 y 0.00001 ml. Se pipetea 1 ml de la primera dilución (0.01 ml de la muestra), que se prepara según el paso 6.4 (a), en un segundo frasco que contenga 99 ml del agua de dilución estéril. Se tapa el frasco y se agita vigorosamente. Se pipetean porciones de 1 ml de esta segunda dilución en los tubos de cultivo para obtener 0.0001 ml de muestra; se pipetean porciones de 0.1 ml para obtener 0.00001 ml de muestra.

Siempre se debe sembrar la muestra diluida en el medio de cultivo dentro de los 30 minutos después de preparar la dilución. Las demoras mayores pueden dar por resultado cambios impredecibles en las densidades bacterianas.

6.5. Después de medir todas las porciones de la muestra en los respectivos tubos de medio de cultivo, se agita suavemente la canastilla con los tubos para tener la seguridad de una buena mezcla de la muestra con el medio de cultivo. Debe evitarse una agitación vigorosa porque se pueden introducir burbujas de aire en los tubos de fermentación invalidando la prueba.

6.6. Los tubos inoculados, de caldo de lauril-triptosa, se incuban a $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 24 horas \pm 2 horas.

7. PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO — SEGUNDO DIA

7.1. Después de la incubación establecida en la sec. 6.6, se retira la canastilla de tubos de cultivo de la incubadora y se agita suavemente. Si el gas está a punto de aparecer en los tubos, la agitación acelera el proceso.

7.2. Se examina cuidadosamente cada tubo. Se registra, como una prueba positiva, cada tubo que muestra gas en el tubito invertido de fermentación. Se registra, como prueba negativa, cada tubo que no muestre gas. Cualquier volumen de gas es una prueba positiva.

7.3. Se registran los resultados en los espacios destinados para tal fin en la hoja de registro de laboratorio, para los resultados de la Prueba Presuntiva a las 24 horas. Si el examen se limita a la Prueba Presuntiva, se sigue con el paso 7.4. Si se van a realizar las Pruebas Confirmada y Completa, se hace caso omiso del paso 7.4 y se continúa con el paso 7.5.



FIG. 14. TUBO DE CULTIVO CON TUBITO INVERTIDO DE FERMENTACION

7.4. Se descartan todos los tubos gas-positivos. Se vuelven a colocar en la canastilla todos los tubos gas-negativos y se regresan a la incubadora a 35°C por otro período de 24 horas \pm 2 horas. Entonces se continúa en la sec. 8.

7.5. Selección de los tubos para la Prueba Confirmada o la Prueba Completa.

a) Si el programa original para la inoculación de la muestra en la Prueba Presuntiva sólo consistió de cinco tubos de caldo de lauril triptosa, cada uno inoculado con 1 ml o 100 ml de la muestra, se aplican las operaciones de la Prueba Confirmada a todos los cultivos que muestran gas.

b) Si el programa original para la inoculación de la muestra consistió de cinco tubos de caldo de lauril-triptosa para cada uno de los tres o más volúmenes de mues-

tra, los procedimientos para la Prueba Confirmada no siempre se aplican a todos los cultivos gas-positivos de la Prueba Presuntiva. Si todos los cinco cultivos de dos, o más, volúmenes consecutivos de muestra son gas-positivos, se selecciona el lote de cinco cultivos que representan el volumen más pequeño de muestra en el cual todos los tubos son gas-positivos. Las operaciones de la Prueba Confirmada se aplican a todos estos cultivos y a todos los otros cultivos gas-positivos que representan menores volúmenes de muestra.

Ejemplo: Supóngase que se sembraron en el medio para la Prueba Presuntiva cinco porciones de 10 ml, cinco porciones de 1 ml, cinco porciones de 0.1 ml y cinco porciones de 0.01 ml de muestra. Se supone también, que después de 24 horas de incubación, se observó gas en todas las cinco porciones de muestra de 10 ml en todas las cinco porciones de 1 ml, en tres de las porciones de 0.1 ml y en una de las porciones de 0.01 ml. Aplicando el plan descrito en el párrafo anterior, se aplican las operaciones de la Prueba Confirmada a todos los cultivos que representan 1 ml de muestra, a los tres tubos gas-positivos de las porciones de 0.1 ml y a un cultivo gas-positivo que representa 0.01 ml de muestra. Este plan supone que todas las porciones de 10 ml de muestra darían resultados positivos si se sujetaran a las operaciones de la Prueba Confirmada.

7.6. Se rotula un tubo de caldo lactosado con bilis y verde brillante para que corresponda a cada uno de los cultivos gas-positivos de la Prueba Presuntiva que se seleccionaron para proseguir con la Prueba Confirmada.

7.7. Se agita suavemente la canastilla de los cultivos de la Prueba Presuntiva. Con una asa de inoculación se pasa una gota de cada uno de los cultivos gas-positivos de la Prueba Presuntiva al tubo correspondiente del caldo lactosado con bilis y verde brillante. El asa de inoculación se esteriliza en la llama de gas, y se enfría justamente antes de proceder a cada inoculación.

7.8. Después de cada inoculación se sitúa el tubo inoculado de caldo lactosado con bilis verde y brillante en la canastilla de cultivo, en la posición que antes ocupaba el cultivo gas-positivo de la Prueba Presuntiva. Se desechan los cultivos originales gas-positivos de la Prueba Presuntiva. Después de todas las inoculaciones, la canastilla debe contener una mezcla de tubos de cultivos gas-negativos a las 24 horas, de la Prueba Presuntiva y los recién inoculados de la Prueba Confirmada.

7.9. Se vuelven a colocar los cultivos en incubadora a 35°C, por otro período de 24 \pm 2 horas.

8. PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO — TERCER DIA

8.1. Se retira la canastilla con tubos de cultivo de la incubadora y se agita suavemente.

8.2. Se examina cada tubo de cultivo y se registran

como prueba positiva los que, en el tubito de fermentación presenten gas en cualquier cantidad se registra como prueba negativa cada cultivo en el que no se pueda apreciar gas. Si el examen se limita a la Prueba Presuntiva, se termina con el paso 8.3. Si se van a desarrollar las Pruebas Confirmada o Completa, se omite el paso 8.3 y se continúa con el paso 8.4.

8.3. Se registran los resultados en el espacio destinado para tal fin en la hoja de laboratorio para los resultados de la Prueba Presuntiva a las 48 horas. Se desechan a continuación todos los cultivos de la Prueba Presuntiva y se continúa con la sec. 12.

8.4. Se registran los resultados de los cultivos de caldo de lauril triptosa en el espacio correspondiente de la hoja de laboratorio para los resultados de la Prueba Presuntiva a las 48 horas. Se registran los resultados de los cultivos en caldo lactosado con bilis y verde brillante en el espacio respectivo de la hoja de laboratorio para los resultados de la Prueba Confirmada a las 24 horas.

8.5. En el caso de que ninguno de los cultivos de la Prueba Presuntiva resulte gas-positivo en el segundo período de incubación de 24 horas y de que todos los cultivos de la Prueba Confirmada sean gas-positivos a las 24 horas, no es necesario ningún otro paso si el examen se limita a la Prueba Confirmada; en este caso, se continúa con la sec. 12. Si no se aplican algunas de las condiciones anteriores, se continúa con el paso 8.6.

8.6. Con los cultivos gas-positivos de la Prueba Presuntiva a las 48 horas, se inoculan tubos de caldo lactosado con bilis y verde brillante, en la forma que se indica en la sec. 7.6 a 7.9. Se desechan todos los cultivos gas-negativos a las 48 horas de la Prueba Presuntiva.

8.7. Se consolidan los cultivos gas-negativos a las 24 horas de la Prueba Confirmada con los cultivos recién inoculados de la Prueba Confirmada, según el paso 8.6. Si el examen de la muestra se limita a la Prueba Confirmada, se desechan todos los cultivos gas-positivos de la Prueba Confirmada. Si se debe continuar el examen con la Prueba Completa, se conservan los cultivos gas-positivos de la Prueba Confirmada y se continúa el proceso, como se indica en la sec. 8.9.

8.8. Se incuban los cultivos gas-negativos a las 24 horas y los cultivos recién inoculados de la Prueba Confirmada por 24 horas \pm 2 horas, a 35°C. Si el examen se limita a la Prueba Confirmada, se continúa con la sec. 9. Si se lleva hasta la Prueba Completa, se sigue con el paso 8.9.

8.9. Inoculación por estrias para la Prueba Completa (las siguientes operaciones se aplican a todos los cultivos positivos de la Prueba Confirmada):

a) Se rotula la caja de Petri con una preparación de agar con eosina y azul metileno (AEAM), para que corresponda con cada tubo gas-positivo de la Prueba Confirmada. Se divide el fondo de la caja de Petri en cuatro cuadrantes, considerándolos numerados del 1 al 4 para identificación al proceder a la inoculación.

b) Se esteriliza a la llama y se enfría una aguja de inoculación, cuyo extremo se ha doblado ligeramente unos 3 mm. Se sumerge la aguja unos 12 mm en el cultivo gas-positivo de la Prueba Confirmada, del que se va a hacer la inoculación. Al estriar la placa, evítase rasgar la superficie del medio de cultivo con la aguja. La inoculación se hace tocando ligeramente con el extremo de 3 mm. de la aguja con la superficie del medio, teniendo cuidado de no ranurarla con la punta. Se desplaza suavemente la aguja, en uno y otro sentido sobre toda la superficie de dos cuadrantes adyacentes de la superficie del agar con eosina y azul de metileno. Se vuelve a esterilizar y se enfría la aguja de inoculación. Se continúa la inoculación, a ángulo recto, sobre uno de los cuadrantes inoculados de la superficie del medio y sobre un tercer cuadrante, no inoculado. Finalmente, de nuevo se vuelve a esterilizar y enfría la aguja y se continúa la inoculación en uno y otro sentido entre el tercero y el cuarto cuadrantes de la superficie del medio. Con este procedimiento se aíslan algunas de las células particulares sobre el tercero o el cuarto cuadrante. Se han de desarrollar colonias individuales, una por cada una de las células aisladas durante la inoculación.

c) Se tapa la caja de Petri y se incuba por 24 horas \pm 2 horas, a 35°C, en posición invertida (la superficie inoculada del medio directamente hacia abajo).

9. PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO — CUARTO DIA

9.1. Se retira la canastilla de cultivos de la incubadora, agitándose suavemente la canastilla.

9.2. Se examinan todos los tubos de cultivo y se registra como una prueba positiva a cada uno que muestre gas, en cualquier cantidad, en el tubito de fermentación; se registra como prueba negativa a cualquier tubo que no muestre gas. Como algunos de los cultivos de la Prueba Confirmada tienen 24 horas de edad y otros 48 horas, debe tenerse la seguridad de identificar cada cultivo y registrar el resultado en el espacio apropiado (Prueba Confirmada a las 24 horas o a las 48 horas) en la hoja de registro del laboratorio.

9.3. Si cualquiera de los cultivos de 24 horas de la Prueba Confirmada son negativos, se incuban por un segundo período de 24 horas \pm 2 horas, a 35°C. Si el examen se limita a la Prueba Confirmada, se continúa con el paso 9.4. Si se va a desarrollar la Prueba Completa, se omite el paso 9.4 y se continúa con los pasos 9.5 al 9.8.

9.4. Se descartan todos los cultivos, de 48 horas, de la Prueba Confirmada. Se omiten los pasos 9.5 al 9.8 y se continúa con la sec. 10, después de la incubación de los cultivos del paso 9.3. Si todos los cultivos de 24 horas de la Prueba Confirmada fueron gas-positivos, se descartan los tubos, porque no es necesaria nueva incubación para la Prueba Confirmada; se continúa directamente con la sec. 12.

9.5. Se descartan todos los cultivos, de 48 horas, gas-negativos, de la Prueba Confirmada.

9.6. Se preparan inoculaciones de estrías en placas, para el aislamiento de colonias, en agar eosina azul de metileno, con todos los cultivos gas-positivos de la Prueba Confirmada, en la forma que se describe en la sec. 8.9.

9.7. Se retiran de la incubadora las placas de agar con eosina y azul de metileno, que se prepararon en la sec. 8.9. y se les inspecciona para definir colonias coliformes típicas, bien aisladas, unas de otras. Las colonias típicas de bacterias coliformes (denominadas *colonias nucleadas*) tienen un centro oscuro, cuando se observan a través del fondo de la caja de Petri. Cuando se observan por la parte superior, las colonias pueden, o no, tener lustre verde-dorado, que no es la base para el reconocimiento de las colonias de bacterias coliformes.

9.8. De cada placa de agar con eosina y azul de metileno que presente colonias coliformes típicas, se selecciona una colonia que se encuentre separada, cuando menos, 0.5 cm de cualquiera otra colonia. Con la aguja de inoculación esterilizada a la llama, se pasa una pequeña porción de la colonia a una inoculación en estría sobre la superficie de un tubo con agar en plano inclinado (sec. 4.5) y también se inocula un tubo de caldo de lauril triptosa. Si no se encuentran presentes colonias coliformes típicas, se seleccionan dos de las colonias coliformes atípicas (rosa) y se inoculan tanto en un tubo de caldo de lauril triptosa como en agar plano inclinado. Si no se observan colonias coliformes típicas (nucleadas) o atípicas (rosas) se seleccionan dos de los tipos más representativos de colonias que se encuentren y se inoculan, cada una, en tubos de caldo de lauril triptosa y en tubos de agar en plano inclinado. Se procede con esta prueba como si fueran colonias típicas.

9.9. Después de las inoculaciones se descartan los cultivos de placas de agar con eosina y azul de metileno. Se incuban los tubos recién inoculados de lauril triptosa por 24 horas \pm 2 horas, a 35°C. Se incuban los cultivos de agar en plano inclinado por no menos de 18 horas pero por no más de 24 horas; una incubación más prolongada puede dar por resultado reacciones irregulares de tinción cuando se aplica la prueba de Gram (Sec. 10.5 a 10.7).

10. PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO — QUINTO DIA

10.1. Se retiran de la incubadora los cultivos remanentes de la Prueba Confirmada, registrándose los resultados como se describe en la sec. 9.2 después de examinar los tubos. Si el examen se limita a la Prueba Confirmada, se descartan los cultivos remanentes y se procede con la sec. 12. Si se continúa con la Prueba Completa, se procede como sigue.

10.2. Para todos los cultivos gas-positivos de la Prueba Confirmada se preparan inoculaciones en placas, para

estriar, con el objeto de aislar las colonias sobre agar con eosina y azul de metileno, en la forma que se describe en la sec. 8.9.

Cuadro 7

NMP para Siembras de Cinco Tubos de 10 ml*

Número de tubos con reacción positiva, de los cinco tubos de 10 ml	NMP por 100 ml
0	0
1	2.2
2	5.1
3	9.2
4	16.0
5	indeterminado

* Si se inoculan volúmenes diferentes de 10 ml, se aplican las correcciones que se describen en la sec. 12.2 (c).

10.3. Se retiran de la incubadora las placas de agar con eosina y azul de metileno, que se prepararon en la sec. 9.6, se examinan con el objeto de apreciar colonias típicas de bacterias coliformes y se procede a las inoculaciones en caldo de lauril triptosa y en agar en plano inclinado, como se describe en la sec. 9.7 a 9.9.

10.4. Se inspeccionan los cultivos de 24 horas en el caldo de lauril triptosa, que se prepararon en la sec. 9.8 y se registra la presencia o la ausencia de gas visible en el tubito de fermentación. Los cultivos gas-negativos se regresan a la incubadora a 35°C, por otras 24 horas. Se desechan los cultivos gas-positivos.

10.5. Se retiran de la incubadora, no después de 24 horas de incubación, los cultivos de agar en plano inclinado, que se prepararon en la sec. 9.8. De cada cultivo de agar en plano inclinado se prepara un frotis de bacterias en la forma siguiente:

a) Se limpia perfectamente un portaobjetos, para eliminar cualquier huella de películas oleaginosas.

b) Se coloca una gota de agua destilada sobre el portaobjetos.

c) Con una aguja de inoculación se suspende una muy pequeña cantidad de la proliferación de agar nutriente en plano inclinado en una gota de agua.

d) Se mezcla la suspensión con la punta de la aguja de inoculación. A continuación, se permite que se evapore el agua.

e) Se fija el frotis, calentando suavemente el portaobjetos sobre la llama.

10.6. Se tiñe cada frotis que corresponda a un cultivo gas-positivo en el paso 10.4. (Se separan los frotis que representan los cultivos en caldo de lauril triptosa que fue-

ron gas-negativos después de las 24 horas y sólo se tiñen si se presenta gas en el segundo período de incubación de 24 horas.) El procedimiento de tinción es el siguiente:

a) Se sumerge el frotis, por 1 minuto, en la solución de violeta cristal.

b) Se expulsa el exceso de cristal violeta, lavándolo suavemente en agua corriente.

c) Se sumerge el frotis en la solución de yodo de Lugol, durante 1 minuto.

d) Se lava el frotis en agua corriente y se seca con papel filtro o con otro papel absorbente.

e) Se decolora el frotis con alcohol al 95 por ciento, con agitación suave, durante 30 segundos, y se seca entre papeles filtro.

f) Se tiñe, en contraste, durante 10 segundos, con la solución de safranina. A continuación se lava en agua corriente y se seca del mismo modo anterior.

10.7. Se examina el frotis al microscopio, utilizando el objetivo de inmersión en aceite. Las bacterias coliformes son celdas en forma de bastoncillos, no esporógenas, que se presentan aisladas, en pares o, en raras ocasiones, en cadenas cortas; son Gram negativas, esto es, que se deben teñir en rojo por el procedimiento de tinción. Si se encuentran células Gram positivas, se deben teñir de azul. Si se encuentran bacterias esporógenas, se necesita realizar ensayos posteriores para definir si las bacterias coliformes se encuentran mezcladas en el cultivo; sobre las instrucciones para la repurificación de cultivos, así como para la aplicación de pruebas adicionales diferenciales, debe consultarse la última edición de los *Métodos Estándar*.

10.8. Cada cultivo se registra como Prueba Completa positiva si se demuestra que es gas-positivo y si, por examen microscópico el frotis teñido, demuestra la presencia de bacterias en forma de bastoncillo, Gram negativas y no esporógenas.

11. PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO — SEXTO DÍA Y SIGUIENTES

Para la mayor parte de los exámenes, en este tiempo sólo se conservan unos cuantos cultivos "dispersos". Ya se ha establecido la rutina para el examen de todos los tipos de subcultivos de la muestra original. Por lo tanto, el método para concluir con el trabajo de laboratorio, en las escasas colonias remanentes, se presenta en forma muy condensada.

11.1. Se examinan los cultivos en la placa de agar con eosina y azul de metileno y se inoculan, con colonias representativas bien separadas, los tubos de agar con plano inclinado y los de caldo de lauril triptosa, como se describe en las sec. 9.7 a 9.9. Se incuban a 35°C y se inspeccionan los tubos con los caldos, para identificar la producción de gas después de 24 horas y, si es necesario, después de 48 horas. Se tiñen y se examinan los frotis de

Gram, preparados de los cultivos en agar de plano inclinado, que representen los cultivos gas-negativos de 24 horas y gas-positivos de 48 horas, como se describe en la sec. 10.6 y 10.7. Se continúa con la sec. 12 para el cálculo e interpretación de los resultados de los NMP.

11.2. Examinense los cultivos en caldo de lauril-triptosa para identificar la producción de gas. Si se produce gas después de un lapso de 24 ó 48 horas, se prepara y se examina un frotis con tinción de Gram, preparado de un cultivo en agar de plano inclinado de 24 horas. Se concluyen las operaciones de laboratorio si no se presenta evidencia de gas después de 48 horas de incubación, calculando e interpretando los resultados de NMP, mediante lo que establece la sec. 12.

12. INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

12.1. Para responder sobre alguna duda en relación a la seguridad bacteriológica de una agua, se tiene una buena guía en los límites establecidos en las Normas de Agua de Bebida, del Servicio Federal de Salud Pública de los E. U. de A. Estos límites se basan en la siembra inicial de cinco porciones de 10 ml o de cinco porciones de 100 ml de una muestra estándar.

a) Cuando se examinan porciones de 10 ml, no más del 10 por ciento pueden mostrar, en cualquier mes, la presencia del grupo coliforme. No debe presentarse el grupo coliforme en tres, o más, porciones de 10 ml de una muestra normal:

1) en dos muestras consecutivas; o

2) en más de una muestra mensual, cuando se examinan mensualmente menos de 20 muestras; o

3) en más del 5 por ciento de las muestras, cuando mensualmente se examinan 20 o más muestras.

b) Cuando se examinan porciones estándar de 100 ml, no más del 60 por ciento pueden mostrar, en cualquier mes, la presencia del grupo coliforme. No debe presentarse el grupo coliforme en las cinco porciones de 100 ml de una muestra normal:

1) en dos muestras consecutivas;

2) en más de una muestra por mes, cuando mensualmente se examinan menos de cinco muestras;

3) en más del 20 por ciento de las muestras, cuando se examinan mensualmente cinco o más muestras.

c) Cuando se presentan organismos coliformes en tres, o más, de las porciones de 10 ml (o en todas las cinco de las porciones de 100 ml) de una muestra estándar aislada, deben tomarse diariamente a la brevedad posible, muestras del mismo punto de muestreo para proceder a su examen, hasta que los resultados de dos muestras consecutivas, muestren, cuando menos, aguas de una calidad satisfactoria.

d) Los resultados deben registrarse con indicación de la fase hasta la que se desarrolló la prueba. Por ejemplo, se registra "Prueba Completa: Coliforme-positivos en 3 de las 5 porciones de 100 ml."

CUADRO 9

EJEMPLOS DE LOS PROCEDIMIENTOS DE CODIFICACION PARA SIEMBRAS DE CUATRO A CINCO VOLUMENES

Núm. de tubos de reacciones positivas de:

Cinco porciones de 10 ml	Cinco porciones de 1 ml	Cinco porciones de 0.1 ml	Cinco porciones de 0.01 ml	Cinco porciones de 0.001 ml	Clave	Véase nota explicativa
5	4	1	0	0	5-4-1	
5	5	4	0	0	5-4-0	a)
5	4	1	1	0	5-4-2	b)
5	5	5	2		5-5-2	c)
5	5	5	5		5-5-5	d)
0	0	0	0		0-0-0	e)
0	1	0	0		0-1-0	f)

Explicación:

a) Cuando todos los tubos inoculados, de más de una de las series decimales, dan resultados positivos, se selecciona el volumen menor de muestra (en este caso, 1 ml) en el cual todos los tubos hayan dado resultados positivos y se toma a éste como el primer número de la clave, siempre que se hubieran sembrado suficientes volúmenes, para dar el total de los tres números para la clave. En este ejemplo, si no se hubieran sembrado las porciones de 0.01, la clave habríase escrito 5-5-4.

b) En este ejemplo, se tienen resultados positivos en cuatro diferentes volúmenes de muestra, cuando el primer número de la clave se considera, apropiadamente, que es 5. El cuadro núm. 8 se ha calculado para aplicarse solamente con tres números de clave. En este caso, el número de tubos positivos del volumen más pequeño de muestra se agrega al número de tubos positivos del siguiente volumen más pequeño, de modo tal, que el último número de la clave es 2.

c) Si originalmente se hubieran sembrado porciones de

0.001 ml, con cero de resultados positivos, la clave habría sido 5-2-0. Sin embargo, no es permisible suponer los resultados que se pudieran haber presentado, en el caso que se hubieran sembrado otros tubos.

d) Este es un resultado indeterminado de una prueba. La mayoría de los cuadros del NMP no establecen un valor para tales condiciones. Si el cuadro no muestra un NMP para una secuencia particular de la clave, se encuentra la clave para el siguiente número anterior más alto de tubos positivos, para los cuales se muestre un NMP (5-5-2, en este caso) y se registra el resultado como "mayor que" el NMP que se obtenga para tal clave.

e) Como en la anterior explicación (d), este es un resultado indeterminado. Como la clave no aparece en el cuadro, se busca el NMP para la clave 1-0-0 y se registra el resultado como "menor que" el valor que se muestre para 1-0-0.

f) Se sigue la clave indicada cuando se presentan estos resultados de laboratorio poco frecuentes.

12.2. Cuando se desea una interpretación cuantitativa, más que cualitativa, el Número Más Probable (NMP) de bacterias coliformes se puede calcular por el procedimiento que se bosqueja a continuación. Se supone en el procedimiento que se sembraron, inicialmente, cinco porciones de cada uno de los tres volúmenes de muestra (por ejemplo, 10 ml, 1 ml y 0.1 ml). Si sólo se hubiera usado un volumen de muestra (por ejemplo, si se hubieran sembrado inicialmente sólo cinco porciones de 10 ml), el NMP se podría encontrar a partir del cuadro nº 7, pero la cifra obtenida sería mucho menos precisa que con la siembra de tres volúmenes. Con la siembra de tres volúmenes, el NMP se puede encontrar en el cuadro núm. 8, en la forma siguiente:

a) Se forma la clave de los resultados. Por ejemplo, si inicialmente se sembraron cinco porciones de 10 ml, cinco

porciones de 1 ml y cinco porciones de 0.1 ml, y se obtuvieron pruebas positivas en todas las cinco porciones de 10 ml, en tres de las porciones de 1 ml y en ninguna de las porciones de 0.1 ml, la clave de la prueba es 5-3-0.

Nota: Si se utilizan otras series de tres volúmenes, el procedimiento será el mismo para la formación de la clave, aunque posteriormente se debe introducir una corrección; véase más adelante el paso (c). Si se utilizan series de cuatro o cinco volúmenes, es más difícil plantear la clave, aunque deben estudiarse los ejemplos del cuadro núm. 9; es posible que sea o no sea necesaria una corrección posterior, como se explica en el paso (c).

b) En el cuadro núm. 8 se encuentra el NMP asociado con los resultados expresados por la clave, en el paso (a). Por ejemplo, para una clave de 5-3-0, se localiza siguiendo una línea horizontal virtual en la que apa-

rezca 5 en la columna encabezada por "cinco porciones de 10 ml", 3 en la columna encabezada por "cinco porciones de 1 ml" y 0 en la columna encabezada "cinco porciones de 0.1 ml". Se sigue la línea hacia la derecha y se lee 79 en la columna encabezada por "Índice NMP". Se aplica el mismo principio para la determinación del Índice NMP de cualquiera otra clave. Se ha de notar, en forma particular, que hasta este punto no importa si los volúmenes de muestra representados por los resultados son los mismos de aquellos de los encabezados de las columnas.

c) Se calcula cualquiera corrección necesaria del valor del NMP que se defina en el paso (b). El cuadro núm. 8 se basa en la suposición de que el primer número de la clave representa cinco porciones de muestra de 10 ml y que el segundo y tercer número de la clave representan, respectivamente, porciones de 1 ml y porciones de 0.1 ml. Cuando este es el caso, no es necesaria ninguna corrección del valor encontrado del NMP, ya que será el NMP de organismos coliformes por 100 ml de muestra. Cuando el primer número de la clave representa un

volumen distinto de 10 ml de muestra, se aplica la siguiente corrección para obtener el NMP por 100 ml: se multiplica el Índice NMP encontrado en el paso (b), por 10, y el resultado se divide por el volumen de muestra representado por el primer número de la clave.

Ejemplo: Supóngase que la clave 5-3-0 representa una muestra en la cual la clave 5 corresponde a 0.01 ml de muestra (representando el 3 y el 0, respectivamente, 0.001 y 0.0001 ml de muestra). Se tiene entonces:

$$\text{NMP por 100 ml} = 79 \times 10 \div 0.01 = 79,000.$$

12.3. Los resultados del NMP se deben registrar en términos de la etapa hasta la que se llevó la prueba. Por ejemplo, se registran "Bacterias coliformes, 79,000 por 100 ml, de acuerdo al NMP en la Prueba Confirmada".

Es importante recordar que el valor NMP es únicamente el número "más probable". El número real de organismos coliformes de la muestra puede ser inferior o superior a esta cifra. Los cuadros de la última edición de los *Métodos Estándar* establecen las variaciones que se pueden esperar para cada NMP.

III. EXAMENES BIOLÓGICOS

Introducción

El plancton se compone de pequeños animales y plantas (algas) que flotan, o van a la deriva, en forma dispersa, en las aguas superficiales. Cuando abundan en las aguas, pueden ser causa de apariencia turbia o pueden flotar como natas. Tales desarrollos intensos se denominan "proliferaciones". Estas proliferaciones del plancton pueden conducir a serios problemas para el operador de un servicio público de agua, dando lugar a olores y sabores, a ciclos más cortos de filtración o a cambios en el valor del pH. Como estas dificultades también pueden deberse a causas distintas del plancton, es importante averiguar su verdadero origen, antes de intentar cualquier corrección. Si se siguen cuidadosamente los procedimientos descritos en esta parte del manual, se obtendrán conclusiones en cuanto a si existe o no existe plancton y, si está presente, en qué cantidades y en cuáles especies. Algunas especies en pequeñas cantidades, pueden tener escasa importancia, mientras que otras especies en las mismas cantidades pequeñas, pueden ocasionar dificultades.

La enumeración e identificación del plancton puede verificarse en forma muy simple o se pueden desarrollar con operaciones de alta técnica, dependiendo esto de la habilidad particular y del tiempo disponible. El principiante debe actuar con especial precaución al aplicar los resultados de sus identificaciones, hasta que haya alcanzado suficiente experiencia. Para la clasificación de los organismos se recomienda particularmente el estudio, bajo la guía de un especialista. Como en muchos campos de actividades semejantes, mientras más habilidad se tenga, mayores serán las recompensas.

En esta parte del manual sólo se trata de presentar una introducción básica a la microscopía del plancton. Cuando se deseen mayores datos, se debe consultar la última edición de los *Métodos Estándar para el Examen de Aguas y Aguas de Desecho*. Al final de esta Introducción se presentan otras referencias bibliográficas.

En esta parte del manual, algunas secciones se marcan con asterisco (*). En ellas se describen los procedimientos fundamentales y el equipo. Las secciones que no se marcan en esta forma describen equipos adicionales y técnicas e informes más avanzados, que se pueden con-

siderar como opcionales. Algunos de los procedimientos más avanzados sólo los deben usar personas con experiencia y con adiestramiento adecuados.

No se estudia aquí el manejo del microscopio. Las personas que no se encuentren familiarizadas con este instrumento, deben consultar el manual sobre instrucciones que recibe la mayoría de los microscopios o deben procurar la ayuda de una persona informada, como un profesor o un laboratorista en hospitales o laboratorios. Aunque se pueden encontrar muy buenos libros sobre microscopía en las librerías técnicas, la mayor parte de ellos son para individuos con adiestramiento avanzado, o para especialistas. Se encuentra disponible, libre de cargo, una excelente película sonora de 16 mm, editada por Bausch & Lomb, Rochester, N. Y. (E. U. de A.) que se denomina "The Compound Microscope" ("El Microscopio Compuesto"). También se presenta una buena descripción sobre las técnicas del microscopio en el capítulo V de la referencia 3, que se describe enseguida.

REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFIA

Incluidas con las explicaciones, se hace mención a menudo, de algunas de las publicaciones que se enumeran a continuación. Otras de esas publicaciones se incluyen para quienes desean más detalles o requieran informes sobre tópicos que no se consideran en este manual. Merecen especial atención los escritos que se ofrecen en la Ref. 1, 2 y 3 y la lista de otras publicaciones de la Ref. 4. Las referencias 5 al 10 constituyen un grupo de monografías que discuten los problemas del plancton en zonas específicas de los E. U. de A. La Ref. 11 es una buena referencia general que se ocupa de la naturaleza básica de las relaciones entre los aspectos físicos, químicos y biológicos de las aguas embalsadas y de otros orígenes.

1. Water Quality and Treatment. American Water Works Association, New York (1950). Dibujos de líneas.
2. Palmer, C. M. Algae in Water Supplies. Pub. 657. U. S. Public Health Service, Washington, D.C. (1959). Planchas

- a colores, dibujos de líneas y claves detalladas para la identificación. (Disponible en: U. S. Government Printing Office, Washington, D. C. E.U. de A.: Dlls. 1.00).
3. Whipple, G. C.; Fair, G. M.; & Whipple, M. C. *The Microscopy of Drinking Water*. John Wiley & Sons, New York (1947). Placas a colores y dibujos delineados.
 4. Ingram, W. M. *Handbook of Selected Biological References on Water Pollution, Sewage Treatment, Water Treatment*. Pub. 214, U.S. Public Health Service (1957). (Disponible en: U.S. Government Printing Office, Washington, D.C., E. U. de A.: Dlls. 0.45).
 5. Palmer, C. M. "Algae and Other Organisms in the Chesapeake Bay Area". *Jour. Am. Wtr. Wks. Assn.*, Vol. 50 N° 7 (julio 1958).
 6. Palmer, C. M. "Algae and Other Interference Organisms in New England Water Supplies." *Jour. New Eng. Wtr. Wks. Assn.*, Vol. 71, N° 1 (1958).
 7. Palmer, C. M. "Algae and Other Interference Organisms in the Waters of the South Central United States." *Jour. Am. Wtr. Wks. Assn.*, Vol. 52, N° 7 (1960).
 8. Palmer, C. M. "Interference Organisms in Water Supplies". *Proc. Oklahoma Water, Sewage, and Industrial Wastes Assn. for 1960*. (1960), pág. 157.
 9. Palmer, C. M. "Algae and Other Interference Organisms in Water Supplies of California" *Jour. Am. Wtr. Wks. Assn.*, Vol. 53, N° 10 (Oct. 1961).
 10. Palmer, C. M. & Poston H. W. "Algae and Other Interference Organisms in Indiana Water Supplies." *Jour. Am. Wtr. Wks. Assn.* Vol. 48, N° 10 (Oct. 1956).
 11. Reid, G. K. *Ecology of Island Waters and Estuaries*. Reinhold Pub. Co., New York (1961).
 12. Palmer, C. & Maloney, T. E. A. *New Counting Slide for Nannoplankton*. Special Pub. 21. American Soc. of Limnology and Oceanography. Ann Arbor, Mich. (1964.)
 13. Williams, L. C. *Plankton Population Dynamics*. National Water Quality Network Supplement 2. Pub. 663, U. S. Public Health Service (1952).
 14. Welch, P. S. *Limnological Methods*. McGraw-Hill Book Co., New York (1948).
 15. Palmer, C. M. & Ingram, W. M. "Suggested Classification of Algae and Protozoa in Sanitary Science". *Jour. Wtr. Poln. Control Fed.*, Vol. 27, N° 10 (1955). Dibujos de líneas.
 16. Edmondson, W. T., ed., *Ward and Whipple's Fresh Water Biology*. John Wiley & Sons. New York (1959). Claves detalladas para identificación; bibliografía complementaria.
 17. Gainey, P. L. & Lord, T. H. *Microbiology of Water and Sewage for Engineering Students*. Burgess Pub. Co., Minneapolis. Minn. (1952). Bibliografía complementaria.
 18. Ingram, W. M. & Palmer, C. M. "Simplified Procedures for Collecting, Examining, and Recording Plankton in Water." *Jour. Am. Wtr. Wks. Assn.*, Vol. 44, N° 7 (julio 1952).
 19. Jackson, H. W. & Williams, L. G. "The Calibration and Use of Certain Plankton Counting-Equipment". *Trans. Am. Microscopical Sec.*, Vol. 81. N° 1 (1962).
 20. Prescott, G. W. *How to Know the Fresh-Water Algae*. W. C. Brown Co., Dubuque, Iowa (1954). Dibujos de líneas y claves detalladas para identificación.
 21. Smith, G. M. *The Fresh-Water Algae of the United States*. McGraw-Hill Book Co., New York (1950). Dibujos de líneas y claves detalladas para identificación.
 22. McNabb, C.D. "Enumeration of Fresh-Water Phytoplankton Concentrated on the Membrane Filter". *Jour. Limnology and Oceanography*, Vol. 5, N° 1 (1960).

A. Aparatos y Reactivos

*1. EQUIPO FUNDAMENTAL

1.1. Microscopio compuesto (fig. 15), con ocular 10x y objetivo 10x (denominado también "bajo aumento", "16 mm" o "lupa"). Son convenientes los instrumentos binoculares, aunque para estos trabajos es adecuado cualquier instrumento con un buen sistema de lentes y con el mecanismo de trabajo en buen estado.

1.2. Portaobjetos comunes para microscopio, 25 × 76 mm, con cubreobjetos (fig. 16). Los cubreobjetos de calibre núm. 1 son muy delgados y de manejo delicado. Aquellos del núm. 2 son más fuertes y se recomiendan para usos generales. Los cubreobjetos pueden tener la forma cuadrada (se sugieren los de 22 mm) o la forma circular, según se prefiera.

1.3. Goteros medicinales comunes, con bulbos, para extraer poco más de 1 ml, o bien, pipetas de 1 ml, con bocas amplias de descarga. Son mejores los artículos de polietileno, pues algo del plancton tiende a adherirse al cristal.

1.4. Papel especial para la limpieza de los lentes del microscopio. Para eliminar las huellas del aceite de inmersión, o polvos resistentes, es excelente el papel para lentes, u otro tejido suave, humedecido con un disolvente como el xileno.

1.5. Toallas suaves, libres de fibras, para limpiar los portaobjetos, cubreobjetos y otros artículos.

1.6. Frascos para recolectar muestras en el campo. Se recomiendan frascos de reactivos, de 500 ml limpios (aunque no necesariamente esterilizados). Se deben evitar frascos de menor capacidad, por el interés de obtener una muestra tan representativa como sea posible. Son perfectamente aceptables los recipientes mayores, como los garrafones de 4 litros. Es excelente el polietileno o un material similar, pues el plancton no tiende a adherirse en ellos.

Es necesario el siguiente equipo para enumerar el plancton:

1.7. Celda Sedgwick-Rafter para la enumeración del plancton, con su cubreobjetos (fig. 16b).

1.8. Micrómetro ocular de Whipple (fig. 17). Debe instalarse en el ocular del microscopio (por lo general, al lado derecho de un aparato binocular, pues el ocular izquierdo es ajustable y, por lo tanto, no tiene un aumento constante). Se desenrosca con todo cuidado la porción superior del ocular y se coloca el ocular de Whipple en la saliente o plataforma que debe observarse, aproximadamente, a la mitad de la longitud del ocular (fig. 18). Se vuelve a colocar el lente superior. Se dirige el ocular hacia una hoja de papel blanco y se observa si las líneas sobre el disco aparecen precisas y claras. Si esto no sucede, se vuelve a desenroscar el lente superior y se voltea el disco. Si no se observa una mejoría, esto es lo único que procede. Es de importancia secundaria la precisión de estas líneas porque, en realidad, el ojo se afoca sobre el campo inferior del microscopio y el ocular de Whipple es, fundamentalmente, una guía.

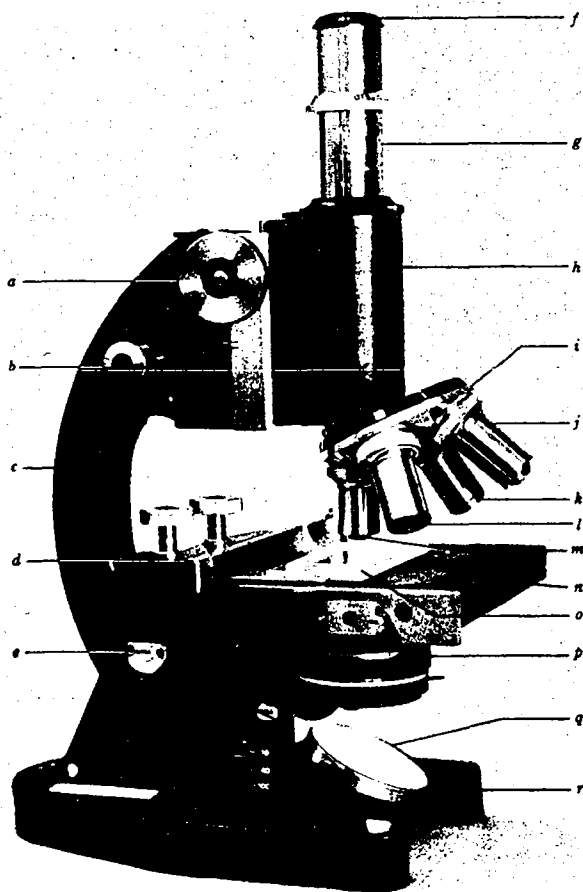


FIG. 15. MICROSCOPIO COMPUESTO

Clave: (a) ajuste tosco; (b) ajuste fino; (c) brazo; (d) platina mecánica (movible); (e) pivote; (f) ocular; (g) tubo telescópico; (h) cuerpo del tubo; (i) porta objetivos revólver; (j, k, l, m) objetivos (40x, 100x, 20x, 10x); (n) platina fija; (o) celda Sedgwick-Rafter en su posición; (p) condensador de subplatina; (q) espejo; (r) base.

2. EQUIPO OPCIONAL

El siguiente equipo adicional puede ser de calidad:

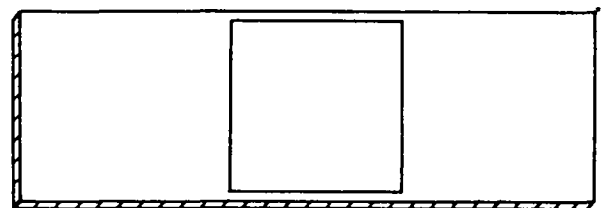
2.1. Accesorios del microscopio:

a) Objetivos (los aumentos son aproximados); 20x (8 mm, de potencia intermedia); 40x (4 mm de alta potencia en seco), 90 x (1.8 mm u objetivo de inmersión en aceite).

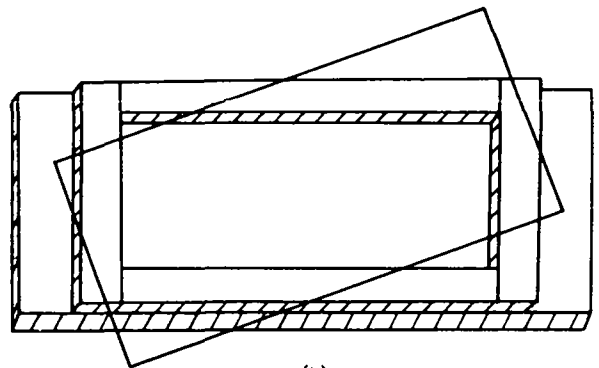
b) Platina mecánica. Puede ser del tipo más simple, sin graduación, aunque, a menudo, las graduaciones auxiliares para volver a localizar una zona determinada en un portaobjetos.

c) Condensador subplatina con diafragma, para regular la iluminación.

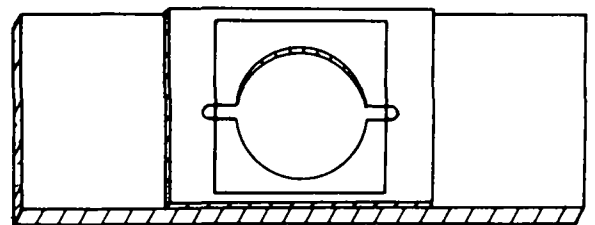
d) Lámpara para microscopio. Se puede decir mucho sobre las fuentes luminosas para trabajos de micros-



(a)



(b)



(c)

FIG. 16. PORTAOBJETOS Y CELDAS PARA MICROSCOPIO

Clave: (a) portaobjetos común (tamaño natural), con cubreobjetos; (b) celda Sedgwick-Rafter, con cubreobjetos en posición para llenado; (c) celda para nannoplancton o de Palmer-Maloney.

copía pero, en general, se puede ajustar, para dar buenos resultados, casi cualquier fuente de luz que se pueda reflejar en el espejo, aun la luz del local, si es suficientemente brillante.

e) Micrómetro de campo, para la calibración del disco de Whipple (fig. 19).

2.2. Microscopio para disección, de campo amplio. No son muy precisas las especificaciones para las combinaciones de lentes en este instrumento. Deben tomarse las medidas necesarias para lograr aumentos que varíen de aproximadamente de 5x o 10x a 50x, o más. Este instrumento es útil para observar los organismos más grandes y para enumerar las formas mayores de plancton, cuando se necesita reconocer rápidamente la celda completa.

2.3. Portaobjetos para nannoplancton (fig. 16c), llamado también *celda o portaobjetos* Palmer, o Palmer-Maloney. Este portaobjetos se diseñó para el estudio de especies muy pequeñas que necesitan aumentos mayores de 200x, pero en las cuales no es práctico el uso del aceite de inmersión. El portaobjetos para nannoplancton tiene una profundidad de 0.4 mm y, por lo tanto, permite el uso de un objetivo 40x.

2.4. Termómetro para trabajos de campo, aproximadamente de 0°C a 50°C, ó 32°F a 100°F. Se pueden adquirir termómetros de campo específicamente fabricados para tal propósito, o bien, un termómetro de laboratorio protegido por un cilindro de tela de alambre, dentro del cual se monta el termómetro entre secciones de un tapón de caucho de un orificio.

2.5. Muestreador de agua tipo Kemmerer (fig. 20). Es adecuado el tamaño de 1 litro. Si se desea, a menudo se puede obtener con termómetro integral. (Se dispone de una variedad de dispositivos de recolección. Uno menos costoso, que está teniendo amplia aceptación, es el frasco Froutschy, distribuido por Hytech Corporation, "G" Street Pier, San Diego, Calif., E. U. de A.)

El muestreador Kemmerer debe estar equipado con un cable de 5 a 6 mm, con longitud suficiente para que se pueda alcanzar el fondo de la masa de agua en estudio. Otras partes que lo constituyen son el "mensajero" (un cilindro hueco de latón que se desliza por el cable), un tramo de tubo de caucho de 15 cm, que se ajusta a la válvula de descarga en el fondo del muestreador y, algún dispositivo para conocer la profundidad del muestreo. Se pueden usar pinturas o anilinas para marcar los cables de fibras; con cables metálicos se necesitan dispositivos especiales de medición. Cuando se anticipa un amplio programa de muestreo está indicado adquirir ca-

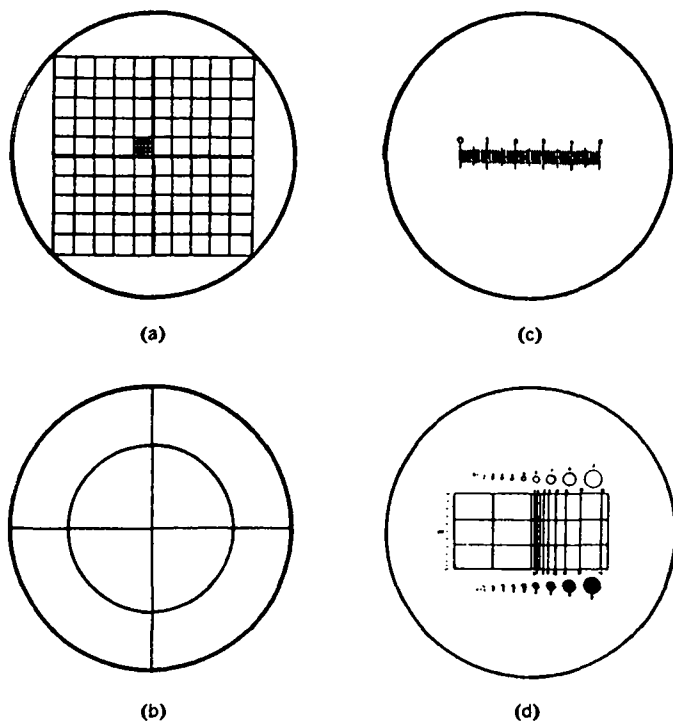


FIG. 17. MICROMETROS OCULARES

Clave: (a) retícula de Whipple; (b) retícula en cuadrantes; (c) escala lineal o calibrada; (d) retícula de Porton para estimar el tamaño de las partículas.



FIG. 18. METODO PARA EL MONTAJE DEL OCULAR DE WHIPPLE

bles metálicos, devanaderas o carretes y montacargas. Las cadenas de latón, con pequeños discos de metal para indicar la profundidad, aunque útiles, son costosas y de manejo pesado y están expuestas a roturas cuando se debilita un solo eslabón. Si se dispone de cable torcido, del tipo para persianas de ventanas, se cuenta con mate-

rial excelente para el muestreo manual, pues la rugosidad de los hilos hace posible su fácil manejo, aun cuando esté húmedo. El cable trenzado generalmente es muy resbaloso.

2.6. Dispositivos comunes y corrientes de concentración. No se plantea en este manual la utilización de redes de plancton, centrífugas y embudos de sedimentación. Deben consultarse al respecto los *Métodos Estándar* sobre las técnicas aplicables para el examen de aguas pobres en plancton y ricas en plancton, que exijan concentración, dilución u otros procedimientos especiales.

2.7. Equipo de filtros de membrana. Muchos laboratorios ya están equipados con equipo de filtros de membrana para el examen bacteriológico de aguas. Si se dispone del mismo, este equipo puede ser muy útil para el examen de ciertos tipos de plancton.

Nota: En la publicación (*Sources of Limnological and Oceanographic Apparatus and Supplies*), *Proveedores de Aparatos y Suministros Limnológicos y Oceanográficos*, editado por la American Society of Limnology, se enumeran los fabricantes o distribuidores de muestreadores Kemmerer y de otros equipos de recolección. La Publicación Especial núm. 1 se puede adquirir de la Sociedad en Ann Arbor, Mich., E. U. de A.

3. REACTIVOS

*3.1. Formol comercial. Aunque el formol comercial sólo contiene alrededor del 40 por ciento del formaldehído gaseoso, es costumbre considerarlo como un reactivo puro en la preparación de las soluciones que se indican.

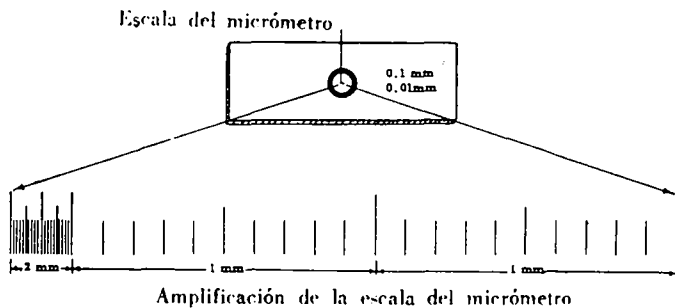


FIG. 19. MICROMETRO DE CAMPO

Por ejemplo, cuando se indica una solución del 5 por ciento, se mezclan 5 ml del formol comercial con 95 ml de agua. La concentración del formol no se altera apreciablemente por la formación de hojuelas blancas sólidas, debidas al reposo o a la congelación.

3.2. Estabilizador de timerosal. Este preservativo a breve término, recientemente desarrollado, ha demostrado su gran utilidad en la estabilización temporal de plan-

ton, con un mínimo de distorsión y de descomposición. Se prepara como sigue:

a) Solución madre de timerosal. Se disuelve, aproximadamente, 1 g de borato de sodio ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) y, aproximadamente también, un gramo de timerosal (también conocido como Merthiolate) en 1 litro de agua destilada. Se agita y se disuelve con todo cuidado antes de usarla. Se conserva en refrigerador. Por el enfriamiento se puede formar un precipitado. Las cantidades de borato de sodio y de timerosal se pueden variar para ajustarse a diferentes condiciones. Las proporciones anteriormente indicadas son para aplicarse en climas calientes, con las aguas potables de los abastecimientos. En climas muy fríos pueden utilizarse cantidades más pequeñas.

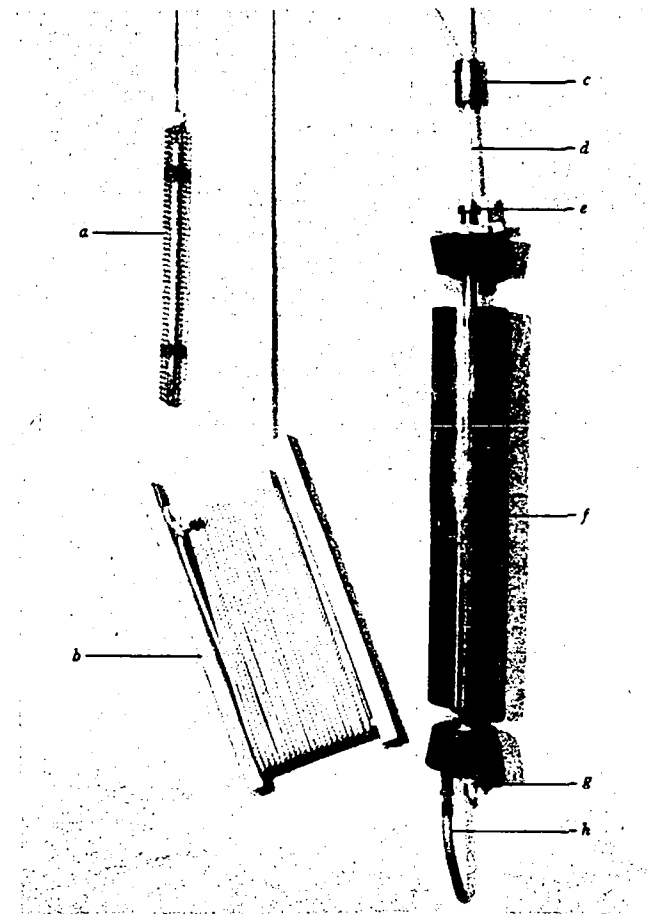


FIG. 20. MUESTREADOR KEMMERER

Clave: (a) termómetro montado en un cilindro de tela de alambre, conservado en su lugar por secciones obtenidas de un tapón de caucho de una perforación; (b) devanadera de cable torcido de 6 mm; (c) "mensajero" suspendido de una cuerda, para seguridad; (d) cable de suspensión; (e) pestillo; (f) cuerpo del muestreador; (g) nudo en el extremo del cable; (h) tubo de caucho en la válvula de descarga de la muestra.

b) Solución madre de lugol. Se prepara una solución saturada de yoduro de potasio, KI (aproximadamente, 12 g), en etanol al 95 por ciento (100 ml), dejando un precipitado en el fondo. Como lo probable es que sea un proceso lento, debe utilizarse un frasco bien tapado. A esta solución se agregan cristales de yodo hasta saturación (aproximadamente, 1 g), manteniendo un exceso de cristales en el fondo.

c) Preparación del preservativo. Se agregan lentamente 1.7 ml de la solución madre de lugol a 1 litro de

la solución madre de timerosal, manteniendo disueltos todos los precipitados. A las temperaturas que se observan normalmente, esta mezcla es estable por cinco semanas en verano o por seis semanas en invierno.

3.3. Solución de metil-celulosa. Se disuelve 1 g de metil-celulosa (clasificación de viscosidad de 15 centipoises) en 9 ml de agua destilada. Se evita la ebullición. Se descarta y se prepara fresca cuando es evidente la contaminación por mohos o bacterias.

B. Recolección de Muestras

*1. PROGRAMA DE MUESTREO

1.1. El muestreo del plancton debe verificarse de acuerdo con un programa cuidadosamente planeado que se desarrolle con ajuste al mismo, en el que deben tenerse en cuenta, tanto la frecuencia como la localización de los muestreos. Como la mayor parte de los organismos del plancton son pequeños y tienen corta vida, relativamente, su número puede variar de día en día y de lugar a lugar, en respuesta a cambios en las condiciones del ambiente y estacionales.

La amplitud del programa de muestreo de plancton debe determinarse atendiendo a la economía y a las necesidades de la planta. Puede variar desde una muestra diaria, o aun más seguido, obtenida de cada zona principal del embalse, hasta una muestra mensual que se recolecte en la obra de toma de la planta. Se sugiere un programa mínimo de 1 muestra semanal, aumentando la frecuencia cuando las necesidades lo requieran.

Una vez que se haya iniciado el programa, se deben hacer todos los esfuerzos para conservar una serie congruente de observaciones idénticas. Hasta donde sea posible, deben estandarizarse las unidades, las técnicas y las estaciones de muestreo, para que las observaciones de un año se puedan comparar directamente con las de los años precedentes. Por otra parte, no se deben ignorar las nuevas observaciones que puedan beneficiar al programa, aunque tampoco se debe continuar con estaciones de muestreo o procedimientos que, en forma obvia, no representen ninguna ventaja. Antes de proceder a la adopción de un programa propuesto, debe discutirse con alguna persona que haya tenido experiencia con las operaciones de enumeración del plancton.

1.2. Si únicamente se toma una muestra al día, siempre debe tomarse a la misma hora, pues muchos organismos del plancton se sumergen o ascienden durante el día, a diferentes horas. Si es posible, deben tomarse muestras diurnas y nocturnas, en especial si se trata de muestras superficiales.

1.3. Las estaciones o puntos de muestreo deben dis-

tribuirse tan ampliamente como sea posible. En un programa mínimo se incluirían únicamente muestras tomadas en la conducción de agua cruda al llegar a la planta. Se pueden establecer otras estaciones de muestreo; por ejemplo, justo frente a la obra de toma; en el centro de una amplia zona enfrente de la obra de toma; en el lindero más alejado del embalse; en la boca de las bahías principales y de las zonas someras; en la planta antes de la coagulación, entre la coagulación y la filtración y después de la filtración; y en cualquiera otra parte, dependiendo de las condiciones locales.

1.4. Las muestras de plancton pueden ser de dos tipos, "superficiales" o "profundas". Las muestras superficiales se toman generalmente a una profundidad de 15 a 30 cm de la superficie. Desde el principio de un programa de muestreo debe establecerse claramente la forma exacta de recolección de las muestras puesto que, si todas las muestras se toman en la misma estación pero no en la misma forma, no pueden compararse los resultados de una ocasión con los de otra y se pierde gran parte del valor del programa. No se debe incluir la película superficial, a no ser que siempre se muestree en la misma forma en cada ocasión.

Algunas clases de organismos del plancton se encuentran regularmente, a cierta profundidad y no cerca de la superficie. Las profundidades específicas de muestreo dependen de la profundidad total del embalse y de otros factores. Si la profundidad total es de 9 metros, las muestras se pueden tomar en la superficie y a 3 metros y a 7.50 metros de profundidad. Si la profundidad total es de 30 m, las muestras se pueden tomar en la superficie, y a 4.5, 15 y 24 metros. Serían mejores las muestras cada 3 metros.

2. MUESTREO SUPERFICIAL

Para tomar una muestra superficial, simplemente se introduce el frasco abajo de la superficie y se permite que se llene a la profundidad de la mano. Si anticipada-

mente se agrega un preservativo al frasco de muestra, se toma la muestra en un segundo recipiente y transfiere inmediatamente al primer frasco.

3. MUESTREO PROFUNDO

Para muestras profundas se utiliza el muestreador de Kemmerer en la forma siguiente:

3.1. Alárguese el cable, en metros o en medios metros, en una forma que no interfiera con el descenso del mensajero. Con cables de fibras se pueden usar marcas de pinturas o anilinas.

3.2. Se pasa una cuerda al través del orificio en el mensajero.

3.3. Se ensarta el cable al través del mensajero y del muestreador, anudándolo abajo del mismo.

3.4. Se desliza la manguerita de caucho de 15 cm sobre la válvula de descarga, en el fondo del muestreador.

3.5. Se sujeta el mensajero con un nudo simple o algún objeto sobre la lancha o el muelle.

3.6. Se hace pasar suficiente longitud de cable al través del mensajero, para que el muestreador quede suspendido.

3.7. Se separan los dos taponés de caucho y se monta la trampa.

3.8. Se hace descender el muestreador hasta la profundidad deseada, haciendo pasar el cable a través del mensajero (se pueden obtener mensajeros acoplados en par, que se pueden desacoplar durante esta operación de descenso).

3.9. Se une el mensajero y se le suelta para que descienda por el cable. Se ha de sentir una pequeña sacudida al llegar el mensajero a la trampa y al cerrar el muestreador.

3.10. Se iza el muestreador a la superficie y se llena el frasco de muestra al través del tubo de caucho fijado a la válvula inferior. Debe cuidarse de no acostar al muestreador hasta que se hayan obtenido todas las muestras necesarias.

3.11. Si se procede rápidamente, se puede tomar una lectura aproximada de la temperatura en la muestra del agua. Estas muestras se pueden emplear también para algunas determinaciones químicas.

4. PRESERVACION DE LA MUESTRA

Cuando se tienen formas activas, no es práctico enumerar muestras de plancton vivo. Sin embargo, muchas de las formas del plancton, como algunos protozoarios, rotíferos y flagelados, se pueden identificar con mayor facilidad mientras están vivos. Por lo tanto, es mejor preservar cuando es posible una porción de la muestra inme-

diatamente después de la recolección y llevar al laboratorio otra porción fresca o viva.

4.1. Las muestras no preservadas deben llevarse tan rápidamente como sea posible al laboratorio, para su estudio. En climas cálidos, no se debe permitir que transcurran más de 30 a 60 minutos; en climas fríos no deben pasar más de 2 ó 3 horas. En ambientes cálidos, deben enfriarse las muestras y evitarse su congelación en climas fríos. Para enfriar las muestras de plancton, el frasco de muestreo se debe tapar perfectamente y se empaqueta en hielo o en cualquier otro refrigerante; bajo ninguna circunstancia se debe poner hielo en el agua de la muestra.

4.2. Los procedimientos de preservación que se indican a continuación no aniquilan absolutamente a todos los organismos, aunque las muestras quedan suficientemente estabilizadas para la enumeración del plancton. El formol es irritante a los ojos y a la nariz y tiende a enjutar y a decolorar especímenes, pero es relativamente de fácil obtención, permanente y económico. El timerosal es mucho menos molesto para el operador y también produce mucho mejores especímenes. Sin embargo, no se debe confiar en este preservativo por más de un mes en clima cálido, o por más de seis semanas en invierno, a no ser que se conserve en la oscuridad.

Es conveniente, por lo general, cargar de preservativo el frasco de muestra antes de salir del laboratorio. En el campo, el frasco se llena hasta un nivel predeterminado; por ejemplo, 1 litro. Es común que no se introduzca en la enumeración ninguna corrección por el volumen del preservativo, pues no es de consecuencia esta pequeña cantidad. Para preservar muestras de 1 litro, se agregan al frasco de muestra 50 ml de formol o 35 ml de solución de timerosal antes de salir del laboratorio.

5. MUESTRAS COMPUESTAS

Las muestras de plancton se pueden obtener combinadas o compuestas, como con otras clases de muestras pero, desde luego, quedan sujetas a las mismas restricciones en su interpretación.

*6. NOTAS DE CAMPO

Los especímenes no son el único producto útil de las recolecciones de campo. Casi igualmente importantes son las notas que el muestreador haga sobre las condiciones en el momento del muestreo. Estos informes contribuyen particularmente en la interpretación final de los datos. Son importantes todos los datos físicos y químicos disponibles, lo mismo que la fecha, la hora del día, la nubosidad relativa, las temperaturas del aire y del agua, vientos, color del agua y aquellos otros factores que se puedan considerar de significación.

C. Examen de Muestras

1. GENERAL

*1.1. Las aguas potables rara vez necesitan de un tratamiento o preparación amplios antes de la observación microscópica. Los organismos se pueden enumerar con una precisión razonable en una celda Sedgwick-Rafter, cuando se encuentran presentes en cantidades que varían de 100 a varios miles por mililitro. Tiene ventajas la simplicidad de este tratamiento, puesto que las manipulaciones introducen errores. Si se pueden eliminar los procedimientos de concentración, o cualquier otro paso, es probable que los datos resultantes sean de mayor confianza. Por lo tanto, se recomienda que, siempre que sea practicable, la celda Sedgwick-Rafter se llene directamente con el agua cruda, sin tratar (o, simplemente, preservada).

Si en toda la celda no se pueden encontrar más de 100 formas pequeñas, se tiene un indicio casi seguro de la ausencia de una causa biológica en el taponamiento de los filtros o en otros problemas. Sin embargo, aunque sean unas cuantas formas grandes, pueden llegar a ser de gran significación.

1.2. Si la cantidad de algunos de los organismos más grandes, como las pulgas de agua o colonias de *Synura*, es tan baja que no se llegan a encontrar en algunas de las preparaciones en la celda Sedgwick-Rafter, puede ser necesario concentrar un gran volumen de agua para obtener suficientes organismos que enumerar. En los *Métodos Estándar* se describe la concentración común y corriente por la técnica de Sedgwick-Rafter. Véase la sec. 2, más adelante, sobre el procedimiento de concentración utilizando el filtro de membrana.

1.3. Se está concediendo una importancia creciente a las formas más pequeñas, especialmente diatomeas, muchas de las cuales pasan al través de la filtración Sedgwick-Rafter. Estas formas sólo se pueden identificar al microscopio con el objetivo de inmersión y se concentran mejor por los procedimientos de sedimentación (Ref. 13).

2. PROCEDIMIENTOS DEL FILTRO DE MEMBRANA

Al utilizar el filtro de membrana, se pueden aplicar cualquiera de los dos procedimientos siguientes: El filtrado se puede coleccionar lavando con agua la membrana, para examinarse posteriormente en un portaobjetos de microscopio; o la membrana se puede hacer transparente y el plancton se examina directamente sobre la membrana.

La técnica del filtro de membrana es más útil con aguas claras o terminadas de procesar. Como sólo se puede pasar por la membrana, antes de que se obture,

un pequeño volumen de aguas turbias o ricas en microorganismos, es mejor examinar las muestras frescas, sin tratar, en una celda Sedgwick-Rafter.

2.1. Método de deslavado del filtrado:

a) Se pasa un volumen conocido de agua, un litro o más, según sea apropiado, al través del mismo tipo de filtro que se usa para propósitos bacteriológicos (véase la parte II de este manual).

b) Se retira el filtro del aparato y, manteniéndolo cuidadosamente por una orilla, se lava el filtrado hacia un vidrio de reloj, usando un gotero medicinal de polietileno y una pequeña cantidad de agua. Para un lavado más completo, se succiona algo del agua del vidrio de reloj y se reusa varias veces.

c) Se diluye el volumen con agua destilada, hasta una unidad conveniente, tal como 5 ml.

d) Se examina y se enumera de acuerdo con los procedimientos que posteriormente se describen en este manual. Cuando se ha determinado la cuenta por ml de concentrado, se calcula el número por ml de la muestra original en la forma siguiente: se multiplica la cuenta por ml de concentrado por el volumen del concentrado y se divide por el volumen filtrado de muestra.

Nota: Este procedimiento se sugiere sólo para formas raras; en consecuencia, es más conveniente registrar los datos en términos del número por litro. En ese caso, se multiplica el número por ml de muestra, obtenido en la forma anterior, por 1,000.

2.2. Método de la membrana transparente:

a) Se filtra una cantidad conocida de agua. El volumen que se seleccione debe proporcionar un número suficiente de organismos visibles en un campo del microscopio, aunque este número no debe ser excesivo para que llegue a producir un amontonamiento de los organismos.

El volumen se debe determinar separadamente para cada muestra de agua por examinar y puede variar desde 2 a 3 ml hasta 100 ml, o más.

b) El volumen seleccionado de muestra se diluye, con agua destilada, hasta unos 50 ml por lo menos, antes de filtrarlo, para que se logre una distribución uniforme sobre la membrana.

c) Se retira el filtro del aparato y se coloca entero (o, cuando menos, una porción de tamaño adecuado), sobre un portaobjetos de microscopio, de 25 × 76 mm.

d) Se cubre con una o dos gotas del aceite de inmersión para microscopio.

e) Se almacena en la obscuridad, a la temperatura ambiente, aproximadamente por 24 horas, o hasta que el filtro llegue a quedar transparente. Si se conserva en la obscuridad, esta preparación se puede almacenar, sin decoloración, si así se desea, hasta por varios meses.

f) Se tapa la preparación con un cubreobjetos núm. 1, o núm. 2, y se coloca en la platina del microscopio.

Se examina y se enumera según los procedimientos que posteriormente se plantean en este manual. (Para mayores informes sobre la enumeración y el registro, deben consultarse la Ref. 22 y los *Métodos Estándar*).

Para calcular el número por mililitro de muestra, se procede como sigue: se divide la cantidad enumerada de organismos por el volumen filtrado de muestra. A continuación se multiplica este resultado por la superficie total de filtro y se divide por la superficie del filtro que se enumeró. Algunos filtros están reticulados en cuadrados, cada uno de los cuales se supone que es igual a 1/100 de la superficie total útil del filtro. Si se enumeran los organismos en uno de estos cuadrados, entonces el número por mililitro de muestra es igual a 100 veces los organismos enumerados, dividido por el volumen filtrado de muestra.

*3. MONTAJES EN GOTA Y CON CUBREOBJETOS

3.1. El montaje en gota es el tipo más simple de preparación de portaobjetos. Se coloca una gota de agua en un portaobjetos limpio y se observa con baja potencia (objetivo 10x y ocular 10x). Aunque es imposible afocar claramente tal montaje, de arriba a abajo, se puede obtener una idea preliminar con respecto a si existe algo que se puede observar en el agua. (Si el agua no se mantiene en una gota, el portaobjetos está sucio o hay demasiada agua.)

3.2. Para mayor claridad, se puede necesitar un cubreobjetos con la preparación de gota de la sec. 3.1. Se hace descender cuidadosamente el cubreobjetos sobre el montaje en gota. Si el cubreobjetos se encuentra limpio y exento de huellas digitales, no es inevitable que quedarán necesariamente aprisionadas burbujas. Sin embargo, unas cuantas burbujas no dañan en las observaciones preliminares.

En el montaje con cubreobjetos, el agua, con los mismos organismos que débilmente se perciben en el montaje de gota se encuentra ahora dispersa en una lámina muy delgada sobre una superficie del tamaño del cubreobjetos. Los organismos se observan con mayor claridad, aunque en un número mucho menor por campo. A no ser que sean bastante numerosos, se necesita más tiempo para localizarlos. Este montaje es ideal para utilizarse con el objetivo de alta potencia en seco, cuando los organismos son pequeños pero abundantes.

*4. CELDA O PORTAOBJETOS SEDGWICK-RAFTER

Como la celda Sedgwick-Rafter se utiliza para estimaciones cuantitativas y no es posible observarla en todas sus partes, los organismos se tienen que distribuir tan uniformemente como sea posible en toda la superficie de la celda, para lo cual se llena rápidamente, antes

de que cualquiera partícula haya tenido oportunidad de sedimentarse en algún lugar. Se procede como sigue:

4.1. Se comprueba que el portaobjetos y el cubreobjetos se encuentran perfectamente limpios. Se coloca el cubreobjetos sobre el portaobjetos, de modo que las esquinas opuestas queden ligramente abiertas (fig. 17b).

4.2. Se selecciona una pipeta de 1 ml, de boca ancha en su punta, para que el agua se descargue rápidamente y para que el material suspendido no la obture. Se puede ampliar fácilmente una boca pequeña esmerilando la punta, con particular cuidado, en una rueda de esmeril, manteniendo la pipeta a un ángulo con la cara del esmeril, el cual se hace girar lentamente.

4.3. Se agita la muestra en forma completa, aunque no violenta. Se debe evitar una agitación ruda, pues se pueden desligar las colonias de formas delicadas y aumentar, de este modo, la enumeración.

4.4. Se llena rápidamente la pipeta, hasta un poco más del aforo de 1 ml; se aplica la punta sobre una esquina abierta de la celda, y se descarga el agua tan rápidamente como sea posible, sin perder el control del escurrimiento. El agua ha de pasar por abajo del cubreobjetos por atracción capilar, expulsando el aire al través de la abertura opuesta a la pipeta.

4.5. Cuando la celda se encuentra llena, encuádrese el cubreobjetos en su posición debida sobre la celda.

4.6. Si se forman burbujas en las aristas después de una observación prolongada, se vacía la celda, se limpia y se rellena, teniendo cuidado de mezclar perfectamente la muestra. Los cubreobjetos más delgados se ajustan, con mayor exactitud, a las superficies de las paredes de la celda y, por lo tanto, reducen las pérdidas por evaporación.

5. CELDA PARA NANNOPLANCTON

La celda para nannoplancton, o de Palmer-Maloney, sólo puede contener 0.1 ml. Su único propósito es la enumeración de las formas más pequeñas, que exigen el uso de objetivos secos de gran potencia, las que se pueden muestrear, en forma adecuada, en volúmenes de 0.1 ml. (El objetivo de alta potencia en seco no se puede usar con la celda Sedgwick-Rafter.)

6. PROCEDIMIENTOS PRELIMINARES ESPECIALES

El procedimiento de rutina debe comenzar con la observación de una muestra fresca, sin preservar, en una celda Sedgwick-Rafter. Cuando se han identificado los organismos existentes, la enumeración o análisis se debe terminar tan rápidamente como sea posible. Si existen organismos que se mueven con demasiada rapidez, o que sean demasiado pequeños para una identificación y enumeración precisa, se pueden requerir procedimientos es-

peciales, como el que se describe a continuación. Después de que se han aplicado estos procedimientos y se han identificado todos los tipos de organismos, la muestra preservada (véase parte B, sec. 4) se puede usar para la enumeración.

6.1. Si son pequeños y abundantes los organismos de rápido desplazamiento, se puede disponer un montaje con cubreobjetos o con una celda para nannoplancton, para que se tenga suficiente aproximación y se puedan identificar.

6.2. Si los organismos aún se mueven con demasiada rapidez, para observarlos con claridad, se les hace más lentos con metilcelulosa, en la siguiente forma:

a) En un portaobjetos común se esparce una gota de metilcelulosa sobre una superficie similar a la de un cubreobjetos.

b) Sobre la metilcelulosa, se vierte una gota de agua que contenga los organismos activos.

c) Se aplica un cubreobjetos y se observa. Al principio, se puede notar muy poca diferencia, excepto por la presencia de grandes cristales de metilcelulosa. Sin

embargo, en unos cuantos minutos, los organismos en lo individual, se hacen más lentos, siendo posible observarlos con facilidad, aun con aumentos de 40x. Con un poco de experiencia se puede ajustar, en mejor forma, el uso y la aplicación de la metilcelulosa.

6.3. También con metilcelulosa se pueden hacer más lentos a los grandes organismos activos, o bien, se pueden identificar en la forma preservada. Los más difíciles de manejar son los rotíferos y algunas otras formas que, por lo general, se pliegan o se enjutan por la preservación. Algunas veces, es posible lograr la distensión de estas formas manteniendo la preparación de metilcelulosa por una hora, o más, con agua abundante, para que no se sequen.

Si se encuentran presentes algunas formas grandes (pulgas de agua, por ejemplo), en un número escaso, menos de dos o tres por mililitro, se puede concentrar una porción de la muestra y registrarse la enumeración por litro de agua. También puede ser útil una inspección rápida de todo el portaobjetos con un microscopio de disección de campo amplio.

D. Identificación del Placton

*1. GENERAL

Las partículas visibles al microscopio son una mezcla de sustancias minerales, fragmentos de vegetales muertos, materia animal muerta y organismos vivientes, vegetales y animales. El plancton abarca ambas clases de tipos de organismos, que se deben diferenciar de los desperdicios que los rodean. La materia mineral comprende partículas de forma irregular y opaca, como arcilla, arena, yeso y óxidos de hierro.

Las sustancias vegetales o animales muertas pueden presentar algunos problemas y demandar cierta experiencia para reconocerlas. En el caso de materia vegetal, se pueden tener ciertos indicios de identidad con alguna célula o fibra que haya escapado a la desintegración total. Es más difícil de reconocer la estructura de la materia animal muerta. El hecho de que sea posible, bajo el microscopio, ver tanto el interior como al través de los cuerpos de muchos organismos, ayuda a distinguir el plancton del material sin vida.

Aunque no hay una forma simple y fácil para aprender la identificación del plancton y, a pesar de que la primera observación pueda ser la causa de una decepción (por el minúsculo tamaño de los organismos, aún bajo el microscopio), no es necesario ser un taxonomista profesional para obtener beneficios limitados del examen microscópico de las aguas. La práctica pronto permite distinguir las partículas vivientes de las no vivientes y, al-

canzado este punto, se puede comenzar la enumeración del plancton.

Como la identificación exacta del plancton exige un criterio hábil, se recomienda particularmente alguna clase de adiestramiento en la materia. El adiestramiento formal se puede adquirir en las facultades o universidades, o en las escuelas de adiestramiento del Servicio Federal de Salud Pública de los E. U. de A. o de alguna otra entidad; la autoeducación respectiva se puede lograr por la lectura de publicaciones, como las que se enlistan en las pp. 98 a 99.

*2. TECNICA DE OBSERVACION

2.1. Se debe leer el registro del muestreador de campo. ¿Muestra el agua del embalse algún color particular? ¿Cuando se observa contra la luz el frasco con la muestra, acusa esta agua algún tono verdoso, parduzco, grisáceo o de algún otro color?

2.2. Se monta el microscopio y se ajusta la luz o el espejo hasta un nivel apropiado de iluminación, con un ocular 10x y un objetivo 10x.

2.3. Se agita perfectamente la muestra de agua, aunque no en forma violenta, y se prepara un montaje en gota. Se coloca en la platina y se observa. Como una gota de agua es relativamente gruesa, ha de ser necesario afocar desde la cima hasta el fondo, con el ajuste tosco, para observar todas las partes de la gota.

2.4. Si se observa que la gota está pletórica de un gran número de objetos, bien sean inmóviles o en movimiento, se detiene esta observación preliminar de inmediato, se coloca un cubreobjetos sobre la gota y se hacen preparativos para un estudio más amplio.

2.5. Si los objetos flotantes son escasos o nulos, inmóviles o con movimiento, se descarta la gota, se limpia cuidadosamente el portaobjeto para alguna observación posterior y se prepara el montaje de una celda Sedgwick-Rafter. Debe tenerse presente la necesidad de una cuidadosa agitación del frasco de muestra, antes de extraer la muestra para el examen.

2.6. A continuación, se examina la preparación bajo el microscopio. ¿Hay partículas, vivientes o no, que se asemejen al color del agua en el vaso? Como el color de los organismos microscópicos se juzga con mayor precisión a la luz del día, para la iluminación del microscopio se debe usar luz de día o una luz que más se le aproxime. El color en los organismos transparentes o casi transparentes visto por el microscopio puede ser muy débil. No se necesitan muchas partículas coloridas en un campo aislado del microscopio para impartirle un color distinto al de la masa de agua.

El color puede deberse a partículas no vivientes de materias minerales o vegetales. La distinción entre las partículas vivientes y no vivientes es una de las más sutiles, aunque una de las más básicas, en todo el campo de los análisis de plancton. Sólo con práctica se puede apreciar, en forma debida, la regularidad de formas y la apariencia de la textura en las células vivientes.

Cuando no se encuentran partículas que se asemejen al color del agua, ello se puede deber a las substancias disueltas, tales como materia vegetal en putrefacción en un pantano o a desechos industriales, como anilinas. Ciertas especies de bacterias ocasionan colores rojos o de otros matices en el agua pero, por ser tan pequeñas, no resultan visibles en la celda de Sedgwick-Rafter.

*3. COLORES DEL AGUA Y TIPOS DE PLANCTON

3.1. El verde, en especial en tonalidades de pasto o verde amarillento se debe a las algas verdes.

3.2. Los colores azuloso, azul-verde y gris-verde son, por lo general, el resultado de algas azul-verdes.

3.3. Son muy raros los colores grisáceos o blanquecinos, excepto en aguas poluídas, los que se pueden deber a bacterias o a protozoarios.

3.4. Los colores rojizos, especialmente las "nubes rojas" precisas en el agua, pueden deberse a microcrustáceos como la pulga de agua (por ejemplo, *Daphnia*).

3.5. Los colores pardos o cafés, especialmente en los tonos más oscuros, se pueden deber a algunas algas flageladas, como *Trachelomonas*. Por lo regular, son bastante grandes y fáciles de reconocer.

3.6. Los colores café-dorados pueden deberse a diatomeas o a dinoflagelados.

3.7. Los colores lodosos indistintos o indefinidos, a menudo débense a mezclas de tipos, o a plancton disperso entre materia suspendida, no viviente.

*4. DISTINCION ENTRE PLANTAS Y ANIMALES

4.1. Es de importancia básica la capacidad para distinguir entre plantas y animales. Son relativamente fáciles de reconocer e identificar las formas más grandes de plantas o animales. Las formas grandes semejantes a plantas, flotantes o suspendidas, son, por lo general, de color verde y se componen de muchas unidades o "células", fácilmente visibles a la simple vista. Pueden semejar masas de hilos enmarañados o filamentos (algas) o pueden tener hojas y tallos (aunque, en este caso, no se pueden considerar como verdaderos elementos del plancton). Desde luego, estas formas no se pueden mover por su propio esfuerzo. Algunas "plantas superiores" (no algas), sólo consisten de pequeñas planchas u hojas, de color verde, de 1.5 a 3.0 mm de sección, con pequeñas raíces colgantes, o de gránulos ovalados verdes pequeños, de 0.8 a 1.5 mm de longitud.

Los animales más grandes del plancton exhiben, obviamente, características animales. Pueden tener ojos y miembros y mostrar mayor actividad que las plantas. Pueden variar de incoloros, al través de varios tonos de rojo, amarillo, café o negro. Algunos tienen forma de gusanos y otros se asemejan a pequeñas almejas con miembros. Aunque pequeños, a menudo se pueden apreciar sin el microscopio.

4.2. Las formas más pequeñas, a menudo minúsculas, puede consistir de una sola unidad o celda. En este grupo, la distinción entre plantas y animales es, por lo general, muy simple: las células de plantas tienen color mientras que las células animales por lo general no lo presentan. No es una buena base el movimiento para distinguir, en las formas más pequeñas, las plantas de los animales. Tampoco lo es el tono de color. Bien sea pardas, amarillas, rojas, azul-verdes o verdes, se consideran como "plantas" si contienen la sustancia química denominada clorofila. Sin embargo, en las células extremadamente pequeñas es muy difícil precisar el color.

*5. CLAVE DE CLASIFICACION

Mucho de lo publicado sobre la identificación de organismos acuáticos es altamente técnico. Para permitir que el principiante decida el grupo general al que pertenece su plancton, se presenta como una sugerencia la clave del cuadro núm. 10. La clave es estrictamente un juego de "seguir instrucciones". Se han de presentar muchos casos en los que no sea posible hacer indicaciones con-

cretas sin recurrir a la terminología técnica o bien aquellas donde las descripciones se hacen únicamente en términos relativos. En tales casos, hasta que no se adquiriera mayor destreza, los organismos deben registrarse como "Indeterminados núm. 1", "Indeterminados núm. 2", etc., para continuar con el siguiente tipo.

La clave consiste de una serie de indicaciones dispuestas en "parejas" (grupos de dos), para ayudar al observador a verificar una serie de decisiones sobre el espécimen o muestra particular. Se comienza con la pareja núm. 1 y se decide cuál indicación (la o 1b) se aplica al espécimen en estudio. Se continúa con la pareja mencionada por el número impreso a la derecha de la indicación. Por ejemplo, si la muestra es microscópica, esto es, demasiado pequeña para que se vea a simple vista, se sigue con la pareja núm. 3, aunque si la muestra es suficientemente grande para que se vea (no para que se estudie) sin un microscopio, se sigue con la pareja núm. 2. Se continúa en esta forma, observando con frecuencia a la muestra para refrescar la memoria, hasta que se llega a una indicación concreta, que se continúa con un nombre, en lugar de hacer referencia a otra pareja. Este es el nombre del grupo al que pertenece el espécimen.

Los grupos generales y amplios que se mencionan en la clave pueden ser aceptables para reconocimientos preliminares o como indicaciones generales de ciertas condiciones. Para trabajos más concluyentes se requiere una identificación más detallada. Para esta clase de trabajo se usa una clave más técnica y completa. Sin embargo, hasta que no se haya adquirido mayor habilidad en una identificación más detallada, debe procurarse que un especialista compruebe las conclusiones.

Si se observa que la clave no es aplicable para un espécimen determinado, se supone que es una forma excepcional, que necesita de un tratamiento más técnico. Se hace a un lado como no determinada y se procede con el siguiente espécimen. No se incluyen en la clave aquellas formas que, normalmente, se desarrollan adheridas al fondo de los cuerpos de agua o seres que crecen sobre tierra o en la vegetación emergente, los granos de polen y los huevecillos o larvas de diversos animales.

Para ilustraciones de los organismos que se describen en la clave, véanse los *Métodos Estándar* y las referencias enumeradas en las pp. 98 a 99 de este manual, en especial la Ref. 2.

CUADRO 10

CLAVE PARA LA IDENTIFICACION TIPOS DE PLANCTON

	Siguiete pareja
1a. Organismos microscópicos, sólo visibles al microscopio (de menos de 1 mm, aproximadamente, de longitud).	3

	Siguiete pareja
1b. Organismos más grandes, de más de 1 mm de longitud.	2
2a. Color verde, por lo general, de estructura filamentosa, o en sartas.	6
2b. Estructura en forma de insecto o de gusano, o con dos valvas semejantes a las de almejas. A menudo, son visibles ojos, miembros y cabellos.	9
3a. Pigmentados o coloridos (el color tiende a desvanecerse con el tiempo, en muestras preservadas). Las descripciones a continuación se refieren a materias vivas o recientemente preservadas.	4
3b. Incoloras o transparentes (algunas veces, se pueden observar, en el interior del cuerpo, partículas en su color de alimentos).	8
4a. Células que contienen estructuras internas, tales como cuerpos especiales coloridos (cloroplastos), núcleo, etc.	5
4b. Células sin estructura interna evidente. Pigmentos en completa dispersión. Por lo general, de color azulado o azul-verde. El color se puede observar muy débil al microscopio. Las células aisladas pueden ser muy pequeñas. Algunas formas filamentosas capaces de exhibir movimiento espontáneo: <i>Algas azul-verde (Cianofitas)</i> .	
5a. Plantas que consisten de células aisladas o de grupos de células, libres para moverse como una unidad. Hállanse presentes las manchas rojas de los ojos. Uno, o más, flagelos como cabellos por células, análogos a cabellos, que imparten una intensa movilidad, con movimiento de rotación masiva. Algunos tipos pueden cambiar de forma mientras nadan; algunos tipos tiene púas largas: <i>Flagelados</i> .	
5b. Sin las características descritas en 5ª.	6
6a. Plantas verdes, de cualquier forma o tamaño, pero que carecen de flagelos.	7
6b. Plantas de un color dorado o café dorado, con tendencia a márgenes angulares agudas. Celdas de paredes rígidas, a menudo con diseños regulares. Pueden ser redondas, en forma de barca o filamentosas. Los tipos en forma de barca o alargados pueden presentar movimientos espasmódicos, en sentido longitudinal o transversal. Algunas se adhieren, por sus lados, para formar listones, otras se adhieren por sus extremos, para dar lugar a distintas formas de agrupamiento: <i>Diatomeas</i> .	
7a. Las plantas consisten de filamentos o de masas de filamentos o de estructuras filamentosas: <i>Algas verdes filamentosas</i> .	

	Siguiete pareja		Siguiete pareja
7b. Las plantas consisten de unidades de una célula, o de varias células agrupadas en forma compacta, sin formar masas o grupos filamentosos: <i>Algas verdes cocoides. (Coocomonas)</i> .		articulados se extienden de las valvas para nadar. Generalmente, las valvas son opacas. Microcrustáceos: <i>Ostrácodos</i> .	
8a. Cuerpo se compone de una sola unidad o célula. Se puede encontrar encerrado en vainas o cápsulas protectoras. Cuando se encuentran vivas pueden mostrar palpaciones de pequeños cilios como cabellos. Se tienden a deformar y a quedar irreconocibles cuando se preservan, excepto en el caso de cubiertas o cápsulas: <i>Protozoarios</i> .		10a. Un solo ojo oscuro, a menudo con varias lentes adheridas	11
8b. El cuerpo compuesto de una estructura multicelular, relativamente compleja (pero sin miembros). Coronas de cilios, semejantes a cabellos, que cuando están vivos palpitan activamente en la región de la cabeza; por la preservación se alargan y pierden su forma: <i>Rotíferos</i> .		10b. Dos ojos; cuerpo alargado, segmentado y transparente, hasta de 12 mm de longitud. Larvas de moscos: <i>Chaoborus</i> .	
9a. Ojo(s) y miembros visibles, u ojos y cuerpo transparente alargado.	10	11a. Dos cubiertas semejantes a valvas que caen a cualquier lado del cuerpo. Los miembros se extienden entre las valvas. A menudo, se presentan huevecillos en un gran saco, dentro de la porción trasera superior de las valvas. Abajo del ojo se presenta un pico. Microcrustáceos: <i>Branquiópodos o Pulga de Agua</i> .	
9b. El cuerpo encerrado en dos diminutas valvas, como de almejas, dentro de las cuales se pueden extraer todos los miembros. Los miembros		11b. El cuerpo relativamente transparente, más cilíndrico, sin valvas cubriendo a las extremidades. Dos grandes apéndices o miembros frontales (en realidad, antenas) que se usan para locomoción, con los miembros restantes cortos. Los jóvenes de menor tamaño, cuerpo más redondeado, tres pares de apéndices conspicuos: Larva de Nauplius. Dos masas de huevecillos, rojizas o anaranjadas, que generalmente arrastra la hembra; microcrustáceos: <i>Copéodos</i> .	

E. Procedimientos de Enumeración

La denominada enumeración del plancton comprende dos aspectos: la enumeración de las diversas clases (cualitativa) y la enumeración del número de individuos (cuantitativa).

1. PROCEDIMIENTO PARA EL ESTUDIO CUALITATIVO

El estudio cualitativo debe realizarse siempre con aumentos de alta potencia antes de iniciar la enumeración por el procedimiento Sedgwick-Rafter, a no ser que el operador se encuentre bien familiarizado con el plancton local. En un estudio cualitativo se procede como sigue:

1.1. Se prepara un montaje con cubreobjetos.

1.2. Se explora el portaobjetos con un aumento de 10 x (o menos, si se encuentra disponible), para identificar las formas grandes o aquellas que ya sean familiares.

1.3. Se usa el objetivo seco de alta potencia (400x) para identificar las pequeñas especies, que no se pueden reconocer con bajos aumentos.

1.4. Se usa el objetivo de inmersión en aceite para identificar las formas muy pequeñas, especialmente diatomeas. Cuando se aplica la inmersión en aceite con preparaciones frescas, debe tenerse muy poca agua abajo del cubreobjetos. Las diatomeas se observan mejor en preparaciones de tipo permanente (Ref. 13). El principiante no debe intentar la clasificación de las diatomeas en géneros y especies, excepto para unas cuantas formas muy reconocidas.

Nota: La celda para nannoplancton también se puede usar para estudios cualitativos, con aumentos de 400x (véase la sec. 10, más adelante).

1.5. Se forma una lista con todos los organismos identificados. Se les agrupa según los tipos principales. Se enlistan las formas no identificadas, anexando a la lista unos esbozos de ellas, por si posteriormente se pueden identificar, con lo que se completaría la lista. La lista es útil por sí misma, aunque se puede aumentar mucho su utilidad en conexión con los procedimientos que se presentan más adelante.

2. ENUMERACIONES PROPORCIONALES

Si, además de enlistar las especies o clases, se hace un registro del número relativo de ellas, como, por ejemplo, "60% especies A, 25% especies B, 10% especies C, etc.", el estudio llega a ser una enumeración proporcional. Este tipo muy útil de enumeración aumenta, materialmente, el valor del estudio.

3. ENUMERACIONES DIFERENCIALES

Una enumeración diferencial es una enumeración proporcional que se ha ampliado por las técnicas que se describen más adelante, a enumeraciones por mililitro. Tiene la mayor utilidad potencial que cualquiera otro tipo de enumeración, puesto que no solo indica al operador las clases existentes de organismos sino que, al mismo tiempo, su número y su proporción en el total. También es la más difícil de realizar, porque exige habilidad para reconocer, a la vista, en la celda Sedgwick-Rafter, cada especie o clase.

*4. ENUMERACIONES CUANTITATIVAS

Por lo general, las cantidades de plancton se registran en unidades por mililitro. Las unidades pueden ser células u organismos individuales, "unidades de aglomeración" o "unidades estándar". La distinción entre células u organismos y unidades de aglomeración se basa en el concepto de si las células individuales de colonias, filamentos u otras asociaciones se cuentan separadamente o, si las aglomeraciones completas de células, las colonias o filamentos se cuentan como una unidad de aglomeración. Las siguientes secciones se aplican a la enumeración de unidades de aglomeración. (Para una discusión de las unidades estándar o de otros métodos, consúltense los *Métodos Estándar* y las Referencias 3 ó 14.)

Aunque algunos de los procedimientos siguientes se pueden verificar sin el ocular de Whipple, éste ayuda singularmente al trabajo; por lo tanto, se supone que se encuentra instalado tal ocular.

*5. CALIBRACION DEL MICROSCOPIO

Para las estimaciones preliminares o en las fases iniciales de un programa de análisis de plancton, se supone que los aumentos se conocen exactamente. Por ejemplo, un ocular 10x con un objetivo 10x, dan un aumento teórico de 100x. Sin embargo, ligeras variaciones en el pulimento y montaje de las lentes, o bien, diferencias en los procesos de manufactura pueden conducir a variaciones de significación en el aumento real. También se modifican los aumentos por cambios en el ajuste interpupilar

de los microscopios binoculares, o en el ajuste del tubo de un microscopio monocular. En el ámbito de aumentos de 200x, algunos fabricantes proporcionan objetivos 20x para usarse con oculares 10x, mientras que otros proporcionan objetivos 21x. Para un trabajo preciso, debe calibrarse cada microscopio contra una norma absoluta (un micrómetro de campo), para cada combinación de lentes y para cada ajuste interpupilar o de longitud del tubo. (Para instrucciones, deben consultarse los *Métodos Estándar*, o la Ref. 19; también véase la sec. 8.3, más adelante).

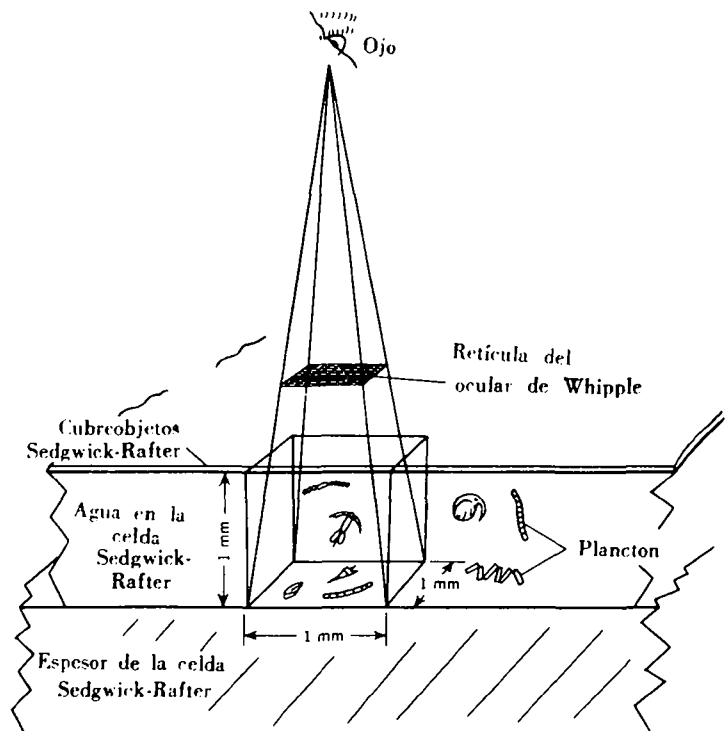


FIG. 21. UN CUBO DE AGUA VISTO A TRAVÉS DE LA RETÍCULA DE WHIPPLE

Sólo se encuentran enfocados los organismos que se encuentran en el fondo de la celda Sedgwick-Rafter; debe cambiarse el foco para estudiar todo el cubo.

*6. USO DE LA CELDA SEDGWICK-RAFTER

La celda Sedgwick-Rafter tiene 1 mm de profundidad, 20 mm de anchura y 50 mm de largo. Por lo tanto, contiene 1,000 milímetros cúbicos, o 1 ml. Debido a su profundidad, es necesario mover el foco de la parte alta hacia el fondo, para localizar los tipos de plancton que se hunden y los que flotan (véase fig. 21).

*7. ENUMERACION TOTAL

La enumeración total es una enumeración de todos los individuos de una clase particular en todo el volumen de la celda. Por lo general, únicamente se usa para los organismos más grandes, tales como las pulgas de agua o los *cyclops*, que no se pueden muestrear en forma adecuada en volúmenes más pequeños. Se utiliza, por lo general, un microscopio estereoscópico o un ocular 5x en un microscopio compuesto.

*8. ENUMERACION EN FRANJAS

La enumeración en franjas (véase fig. 23) es la enumeración más fácil que se puede hacer con la celda Sedgwick-Rafter, utilizando un aumento 100x (objetivo 10x y ocular 10x) o 200x (objetivo 20x y ocular 10x). El (objetivo 20x es el de mayor poder que se puede utilizar con la celda Sedgwick-Rafter; siempre que sea posible, debe contarse con él). Se necesita una platina mecánica. Se procede como sigue:

8.1. Se enumera una franja completa de la anchura de la retícula de Whipple y de toda la longitud de la celda Sedgwick-Rafter.

8.2. Se multiplica el número de células contadas por 20 cuando se usa un aumento de 100x, o por 40, cuando se usa un aumento de 20x. El resultado proporciona una estimación del número de células por mililitro.

8.3. Para obtener un multiplicador más preciso, se observa cuántas veces la anchura de la retícula de Whipple corresponde a la anchura de la celda de Sedgwick-Rafter (véase Ref. 19).

*9. ENUMERACION EN CAMPOS SEPARADOS

La enumeración de campos separados se puede hacer con platina mecánica. Si no se dispone de platina mecánica, es el único método aplicable para una estimación cuantitativa con la celda de Sedgwick-Rafter. Se procede como sigue:

9.1. Se cuentan o enumeran los organismos en diez campos de la retícula de Whipple, ampliamente separados. Se debe evitar la enumeración de campos cerca de los extremos o de los lados de la celda; se considera como más indicada una distancia de un tercio de los lados. Para los organismos que caen dentro del límite de la

retícula, uno de los métodos es contar aquellos que tienen más de la mitad dentro del límite e ignorar los que tienen menos de la mitad dentro del límite. Otro método es enumerar todos los organismos que toquen los lados superior y derecho del cuadrado de la retícula desde cualquier dirección e ignorar aquellos que tocan el lado izquierdo y el inferior.

9.2. Para obtener la enumeración por mililitro, se multiplica el número obtenido por 100 si se trabaja con 100x; o por 400, si se trabaja con un aumento de 200x.

*10. UTILIZACION DE LA CELDA DE NANNOPLANCTON

Para obtener aumentos mayores de 200x, cuando se verifican conteos cuantitativos, se puede usar el objetivo 40x con la celda de nannoplancton. Esta celda tiene sólo una profundidad de 0.4 mm, lo que, por lo general, permite su uso, aun con un cubreobjetos núm. 2. Sin embargo, debido a las diferentes dimensiones de la celda, se necesita particular atención para la calibración e interpretación (consúltense los *Métodos Estándar* o Ref. 19). Esta celda puede ser muy útil para situaciones especiales. Por ejemplo, como el volumen de la celda sólo es de 0.1 ml, se puede explorar toda la celda buscando formas grandes o raras, multiplicando el resultado por 10 para obtener la cuenta por mililitro. También se pueden estimar cuantitativamente con esa celda las grandes concentraciones de plancton, como las que existen en lagunas de estabilización de aguas de desecho o en tanques de lodos activados. La celda Sedgwick-Rafter presentaría una capa demasiado gruesa, para que se pudiera ver a través de ella.

*11. REGISTROS Y FORMAS

Ningún formato aislado, para llevar los registros del plancton, puede satisfacer todas las necesidades. Se presentan excelentes planes en las Ref. 2 y 18. Se encuentran disponibles otros planes en las Ref. 3 y 14 y en los *Métodos Estándar*, así como en plantas potabilizadoras que realizan análisis de plancton. Lo que es más importante es el establecimiento de un programa bien planeado de anotación de registros, que permita evaluaciones comparativas.

F. Significación y aplicación de los resultados

Las algas son habitantes normales y constantes de casi todas las aguas superficiales naturales. Dondequiera que se desarrollen algas, se tienen que encontrar también bac-

terias, hongos y diversos animales. Estos diferentes organismos se interrelacionan en aguas a cielo abierto para llevar a cabo la cadena vital. Las algas, como plantas ver-

des, utilizan los sólidos disueltos (minerales nutrientes), el agua y el bióxido de carbono para su desarrollo. Las bacterias y los animales se alimentan con la materia orgánica muerta de las algas. A su vez, las bacterias mueren y sus cuerpos se desdoblán por otras bacterias regresando así los elementos, a la condición mineral. Si se eliminara alguna parte de este ciclo, el agua resultante podría contener sustancias que producirían sabores y olores o que, en otra forma, la harían indeseable. Los seres vivientes sirven para estabilizar el agua y para degradar o descomponer los materiales extraños, que pudieran ser acarreados en caso de polución. Por lo tanto, no siempre se puede considerar mala la presencia del plancton. (Se encuentra una discusión más completa de los diversos efectos del plancton en la Ref. 2.)

Mientras más frecuentemente se verifiquen las observaciones, mayor es la probabilidad de precisar el comienzo de un brote en el desarrollo del plancton. Las enumeraciones pueden variar alrededor de unos cuantos cientos por mililitros, durante largos períodos para a continuación, en dos o tres días, saltar súbitamente a miles. Este incremento puede ser el resultado de un crecimiento puro de la población de plancton, estimulado por un cambio en las condiciones ambientales o por la reversión primaveral o estival de un embalse estratificado, o como resultado de una masa de plancton que se desplaza con aguas provenientes o aportadas de alguna zona de aguas fértiles. Tales casos hacen resaltar nuevamente la importancia de las mediciones de campo para determinar las temperaturas del agua y de otros factores asociados a distintas profundidades, así como la distribución del plancton, día con día, en las diferentes partes del embalse.

*1. EFECTO SOBRE LA OPERACION DE LA PLANTA

Los números excesivos de uno u otro de los tipos de plancton pueden dar margen a dificultades sin fin en las plantas potabilizadoras de agua, con ciclos más cortos de filtración, presencia de olores y sabores y dificultades con la floculación y la sedimentación. Por lo tanto, es importante para el operador de la planta que conozca lo que hay en el agua.

No se pueden fijar reglas específicas, en este manual, que puedan tomar en cuenta todas las circunstancias locales. Sería enteramente erróneo citar una serie de enumeraciones de plancton y deducir que las consecuencias de cada una serán siempre las mismas. En general, se ha observado que las enumeraciones de unos cuantos cientos de organismos por mililitro rara vez se asocian con graves dificultades en la planta, mientras que enumeraciones y proliferaciones de más de 2.000 o 3.000 por mililitro son, a menudo, de importancia. Sin embargo, aún en números relativamente pequeños, pueden producir molestias ciertos tipos de plancton. Por ejemplo, se

ha informado que el flagelado *Synura* es capaz de producir olores perceptibles, en números de 20 a 30 colonias o aún menos, por mililitro y que concentraciones mayores de 100 pueden dar lugar a serias dificultades. En concentraciones de unos cuantos cientos por mililitro, las diatomeas como *Synedra*, *Tabellaria* o *Melosira* pueden reducir apreciablemente los ciclos de filtración.

*2. DIAGNOSTICO DE LA CALIDAD DEL AGUA

El examen microscópico de una agua permite la determinación de la naturaleza real de la turbiedad y del color del agua. Es importante conocer si una condición turbia se debe al material inerte suspendido, que se puede esperar que se sedimente en unos cuantos días, o al plancton, que puede llegar a crear dificultades.

Se puede aprender mucho sobre la calidad de una agua por un examen del plancton que contiene. Aunque los informes se encuentran muy lejos de ser completos en esta discusión, se pueden hacer ciertas generalizaciones.

Las aguas en grave estado de polución, tibias o duras tienden a estimular a las algas azul-verde (cianofíceas).

Las aguas frías y limpias favorecen, por lo general, a las diatomeas.

Las algas verdes tienden a ser más abundantes en la primavera y a finales del otoño.

Las proliferaciones de plancton animal se asocian, a menudo, con una polución parcialmente estabilizada.

Aunque se encuentran excepciones en casi cada grupo de plancton, los datos de este tipo pueden, sin embargo, ser muy útiles en la administración de los embalses de agua. Para una discusión más amplia sobre este tópico, véase Ref. 2.

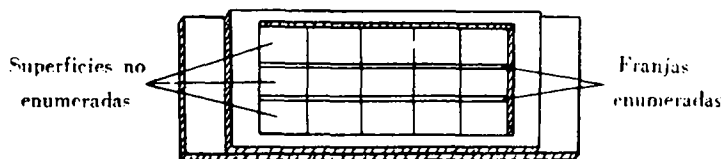


FIG. 22. ENUMERACION EN FRANJAS

Las "franjas" no se marcan en la celda, sólo representan la zona enumerada.

*3. IMPORTANCIA DE LAS OBSERVACIONES DE CAMPO

Siempre se deben estudiar las notas de campo para conocer de la existencia de vientos intensos, días nublados, temperaturas impropias de la estación o algún otro factor que pudo haber afectado la recolección. Asimismo,

deben tomarse en cuenta estos factores en la aplicación de las medidas correctivas que se puedan considerar adecuadas.

*4. PREDICCIÓN DE LAS PROLIFERACIONES

Como queda anteriormente explícito, el uso específico de las enumeraciones de plancton varía de planta a planta potabilizadora. Sin embargo, se debe poner de relieve que los desarrollos súbitos, o proliferaciones de plancton tienden a presentarse, año con año, aproximadamente, por el mismo tiempo. Es así que uno de los grandes beneficios que puedan resultar de un programa sistemático de enumeraciones de plancton es la habilidad para prever las proliferaciones que son de esperarse. Estas predicciones permiten abastecerse oportunamente de carbón activado, cloro o cualquiera otro material crítico, en anticipación de una demanda súbita. Si el abastecimiento de agua cruda permite la aplicación de medidas restrictivas, la primera aparición de un organismo, que se conoce que provoca dificultades en determinada época del año, puede ser la señal para la aplicación de sulfato de cobre, previniendo de esta manera que llegue a constituirse en un problema.

*5. RESTRICCIÓN DEL PLANCTON

Se dispone de dos procedimientos generales para la restricción del plancton en las aguas superficiales: la reducción de la fertilidad (restricción de la polución) o la restricción química.

5.1. La restricción de la polución es, a menudo, un problema de una zona muy amplia que, con frecuencia, se encuentra fuera de la jurisdicción del personal de la planta potabilizadora. Sin embargo, a menudo, los informes sobre la presencia de plancton provocado por la polución puede auxiliar a las autoridades locales dedicadas al control de la polución. La restricción de la polución y la regulación del gasto se encuentran entre las pocas técnicas disponibles para restringir el plancton en los ríos.

5.2. Hasta donde se conoce, no se ha encontrado un sustituto satisfactorio del sulfato de cobre para el control químico del plancton en lagos o embalses. En muchos lugares, se encuentran bien establecidas las dosis de sulfato de cobre para el control del plancton. (En la Ref. 2 se presenta un cuadro que muestra la toxicidad relativa del sulfato de cobre a las diferentes especies de algas; esto puede capacitar al operador para ahorrar cantidades im-

portantes del reactivo, al tener conocimiento de las especies existentes de algas).

*6. SELECCIÓN DEL NIVEL ADECUADO PARA LA TOMA

Si la planta se encuentra capacitada para regular la profundidad de la toma de agua en el embalse, el conocimiento del plancton y de otras características del agua a varias profundidades permite al operador seleccionar el nivel más favorable para la toma. Este no es siempre un nivel profundo, pues algunas formas de plancton se pueden concentrar entre 4.5 y 6.0 m y estar virtualmente ausentes en la superficie. Esta situación puede cambiar de la noche del día, pues las formas animales se pueden desplazar hacia la superficie durante la noche y algunas algas pueden tender a sumergirse. Hay una tendencia general del plancton a distribuirse verticalmente, en forma más uniforme, durante la noche que durante el día.

*7. REGULACIÓN DEL TRATAMIENTO EN EL INTERIOR DE LA PLANTA

Muchos operadores aprovechan los exámenes de plancton dentro de la planta para determinar la efectividad del tratamiento. Las muestras, que se analizan antes y después de uno, o más, de los distintos procesos del tratamiento, muestran la eficiencia de tales procesos en la eliminación física del plancton y de cualquiera otra sustancia en forma de partículas.

*8. ADMINISTRACIÓN DE LOS SISTEMAS DE EMBALSES

Por la simplicidad de los exámenes de plancton, lo mismo que por su importancia, los exámenes de plancton y observaciones relacionadas con los mismos son útiles, a menudo, en la administración de los sistemas de abastecimiento de agua, que comprenden dos, o más, embalses u otros cuerpos de agua. Tales observaciones pueden servir como señal de la aproximación de una reversión o como advertencia de un estancamiento indeseable de agua u otra condición peligrosa. Estos datos pueden permitir que se pongan fuera de servicio los embalses afectados, antes de que el agua inconveniente contamine el sistema. Los exámenes de plancton auxilian también en la determinación del momento en que tal embalse vuelve a quedar útil para el servicio.

Índice

<p>Ablandamiento, prueba de jarras para 52</p> <p>Agua destilada, preparación de 8, 22</p> <p>Alcalinidad, determinación de 13</p> <p>Aluminio, determinación de 15</p> <p>Aparatos de filtros de membrana 78</p> <p>Bacteria coliforme; descripción y significado de 74, 82, 91, 92 descripción esquemática de ensayo para 84</p> <p>Bióxido de carbono, determinación del 22</p> <p>Bióxido de cloro, determinación del 36</p> <p>Botellas para toma de muestras 11, 77, 97</p> <p>Buretas 5</p> <p>Calcio, determinación de 19</p> <p>Carbonato de calcio, prueba de estabilidad 21</p> <p>Celdas Sedgwick-Rafter 98, 104, 109</p> <p>Cilindros graduados 5</p> <p>Cloro, determinación de 26</p> <p>Cloruro, determinación de 24</p> <p>Coagulación, pruebas de jarras para 48</p> <p>Cobre, determinación de 40</p> <p>Color, determinación de 39</p> <p>Color, plancton como la causa de 106</p> <p>Comparadores 9, 30</p> <p>Cristalería, ácido crómico para la limpieza de 7 tipos y uso de 3</p> <p>Demanda de cloro, determinación de la 34</p> <p>Desecadores 7</p> <p>Diapositivas, microscopio 98, 104</p> <p>Diapositivas nannoplancton 98, 104, 110</p> <p>Diapositivas Palmer-Maloney 98, 104, 110</p> <p>Discos Whipple 98, 110</p> <p>Dureza, determinación de 44</p> <p>Ensayo, juegos de 9, 30</p> <p>Equipo de calentamiento 7</p> <p>Equipo de esterilización 75, 83</p> <p>Equipo de pesado 1</p> <p>Equipos para determinaciones colorimétricas 9, 30</p> <p>Factores de conversión 12</p> <p>Floculación, pruebas de jarras para 48</p> <p>Fluoruro, determinación de 42</p> <p>Fosfato, determinación de 61</p> <p>Fotómetros 10</p> <p>Frascos volumétricos 3</p> <p>Generador de agua inodora 67</p>	<p>Hierro, determinación de 46</p> <p>Intercambiador de iones para destilación de agua 8</p> <p>Línea de muestreo para agua con gases disueltos 23</p> <p>Manganeso, determinación de 55</p> <p>Máquina de batir 49</p> <p>Medios de cultivo 78, 86</p> <p>Método de dilución por gotas para determinación del cloro 30</p> <p>Método de fermentación de tubo múltiple 82</p> <p>Métodos colorimétricos 9</p> <p>Método Winkler para la determinación de oxígeno disuelto 57</p> <p>Micrómetros 98, 99</p> <p>Microscopios 97, 109</p> <p>Muestreador Kemmerer 99, 102</p> <p>Muestreo: para exámenes bacteriológicos 75, 80 para exámenes biológicos 101 discusión general de 11</p> <p>Nitrógeno amoniacal, determinación de 16</p> <p>Nitrógeno, amoníaco, determinación de 16</p> <p>NMP (Número Más Probable) Método, discusión del 83 tablas para 91, 93</p> <p>Normas bacteriológicas 82, 92</p> <p>Normas de agua de bebida 74, 82, 92</p> <p>Normas del servicio de salud pública para el agua de bebida 74, 82, 92</p> <p>Olor, determinación de 67</p> <p>Ortofosfato, determinación de 63</p> <p>Oxígeno, determinación de 57</p> <p>Oxígeno disuelto, determinación de 57</p> <p>Partes por millón, definición de 112</p> <p>Pipetas 5</p> <p>Plancton, descripción de 96, 105 claves de identificación para 107</p> <p>Preservación de especímenes biológicos 100, 102</p> <p>Probetas graduadas 5</p> <p>Procedimientos de filtro de membrana equipo de filtración 78 para exámenes bacteriológicos 75 exámenes biológicos 103</p> <p>Procedimiento de inoculación por estrías para la prueba completa 90</p>
---	--

Procedimiento Gram stain	92	Solución de carbonato de sodio (0.0454N).....	23
soluciones para	87	Solución de hidróxido de sodio (1N)	19
Pruebas de jarras	48	Solución de nitrato de plata (0.014N).....	24
aplicaciones prácticas de	54	Solución de tiosulfato de sodio	
Pruebas de jarras para ablandamiento con cal-soda	52	(0.0375N).....	58
Registros		(0.1N).....	13
examen bacteriológico.....	80, 82, 95	Soluciones estándares.....	10
examen biológico.....	102, 110	Soluciones normales	10
discusión general de	10	Soluciones titulantes.....	10
Residuo, determinación de.....	64	Temperatura, determinación de	68
Residuo filtrable, determinación de.....	64	Termómetros.....	69
Residuos de cloro, discusión de	26	Tubos Nessler	33
Sabor y olor, determinaciones de.....	67	Turbidímetros.....	70
Sílice, determinación de	65	Turbiedad, determinación de.....	70
Solución de ácido sulfúrico		Valor del pH, determinación del	59
(0.01N).....	13	Volúmenes de muestras para análisis	
(1N)	65	bacteriológicos.....	75, 83

ANEXO

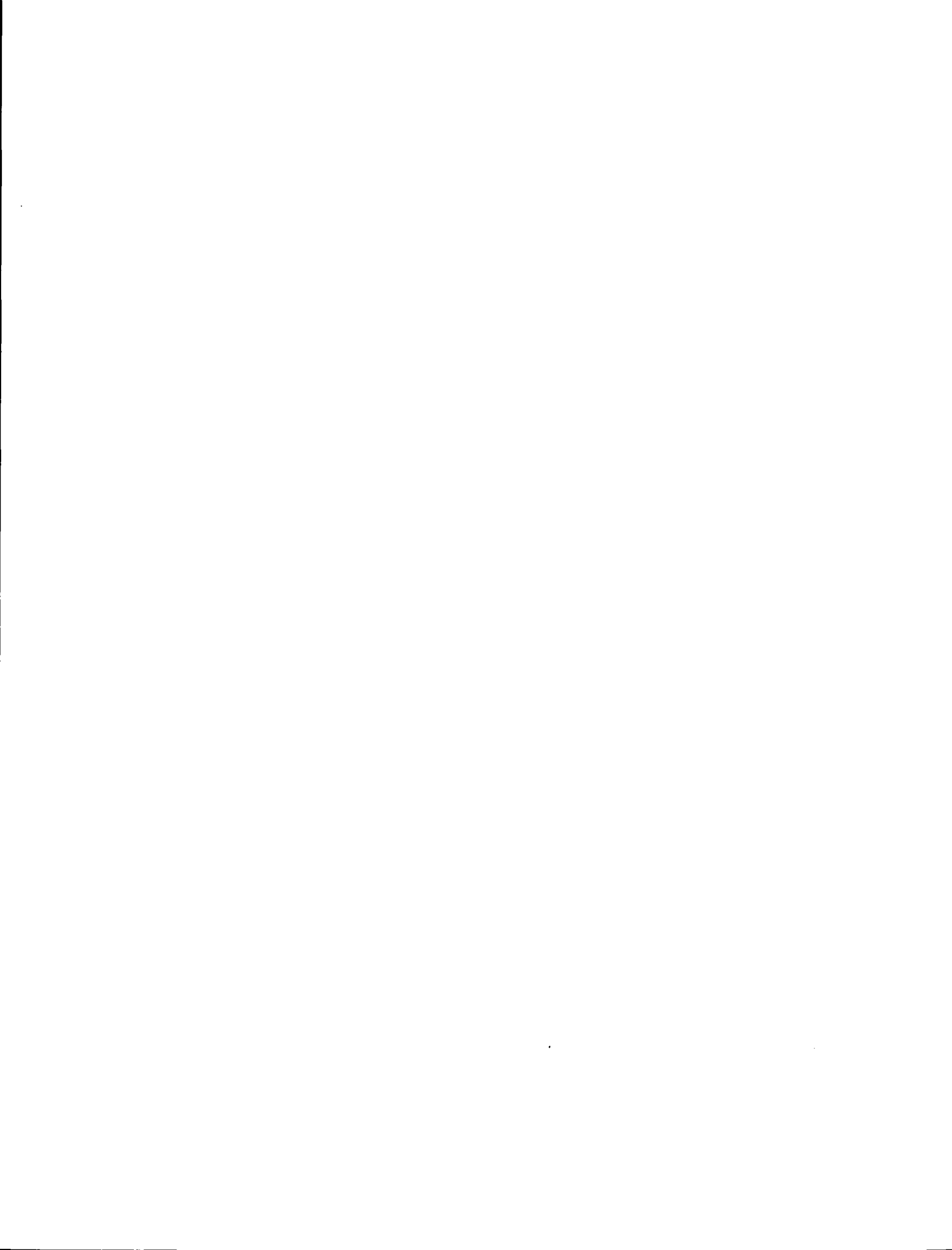
**SUPLEMENTO AL MANUAL DE LABORATORIO:
PROCEDIMIENTOS SIMPLIFICADOS
PARA EL EXAMEN DE AGUAS**

Texto original en inglés:
*Supplement to Simplified Procedures
for Water Examination—Laboratory Manual*
(Publicación AWWA No. M12, 1977)

© Copyright, 1977
American Water Works Association, Inc.
Traducción al español por la
Organización Panamericana de la Salud,
con permiso de la Asociación

CONTENIDO

Métodos fotométricos	121
Conductividad	127
Método electrométrico para pH	129
Método del electrodo para fluoruros	132
Método amperométrico para cloro residual	134
Turbiedad	136



Introducción

Los instrumentos están siendo utilizados en muchas fases de la actividad diaria y el laboratorio de una planta de tratamiento de aguas no es una excepción. Cursos de adiestramiento cortos y largos están poniendo énfasis en la importancia de los instrumentos para efectuar análisis precisos y exactos. Este suplemento a los *Procedimientos simplificados para el examen de aguas* corresponde a un reconocimiento y promoción de esta tendencia. Se ha puesto énfasis en los instrumentos comunes que pueden beneficiar al operador de la planta más que al analista especializado o sofisticado. En relación con el objetivo del manual original, M-12, los procedimientos tienen por objeto ayudar a mejorar la operación de una planta de tratamiento de aguas.

Las siguientes personas colaboraron en la preparación de este anexo:

Michael J. Taras, Presidente

E. Robert Baumann
Robert J. Becker
Joseph J. Connors
Paul D. Foley
Robert E. Hansen
E. James Hornung
Kenneth F. Knowlton

Thomas W. Knowlton
Thurston E. Larson
Earl F. McFarren
J. Robert Popalisky
J. Kevin Reilly
Kenneth E. Shull
John E. Vogt



I-a METODOS INSTRUMENTALES

En la mayoría de las plantas de tratamiento de aguas se utilizan comúnmente instrumentos para el análisis químico. Hay varias razones para esto. Se economiza tiempo de análisis con una mejora en la sensibilidad y precisión de las determinaciones. Los instrumentos pueden eliminar las predisposiciones humanas, evitan a menudo las interferencias por color y turbiedad que afectan a las estimaciones visuales, y minimizan en muchos casos el número de patrones que deben ser preparados para el trabajo colorimétrico.

Los instrumentos no son una panacea. Deben ser utilizados en forma adecuada y revisados con frecuencia para evitar posibles valores falsos que pueden ser ocasionados por un equipo defectuoso y/o una operación inapropiada.

La mayor parte de los métodos colorimétricos descritos en el capítulo "Exámenes químicos" se puede completar tanto mediante instrumentación como por comparación visual. Además de los métodos fotométricos, este suplemento se referirá brevemente a las determinaciones instrumentales comunes para cloro residual, turbiedad, pH, fluoruros y conductividad—todas las cuales están en el programa de rutina de laboratorios calificados de plantas de tratamiento de aguas. Se ha puesto énfasis en los instrumentos de bajo precio, de menos de EUA\$1,000 y no en los modelos digitales y automáticos sofisticados.

Cifras Significativas. El informe de un resultado analí-

tico debería contener solo los números garantizados por el método. Con excepción de la última cifra, todos los dígitos que se indiquen deberían ser conocidos con certidumbre.

Las mediciones de laboratorio se desarrollan con un grado variable de cuidado y precisión. Las muestras pueden medirse con tubos de Nessler, probetas graduadas o pipetas, dependiendo del propósito del análisis y de los resultados esperados. Las pipetas volumétricas se reservan normalmente para las operaciones más exactas. Los reactivos químicos sólidos pueden ser pesados hasta menos de un miligramo en muchas balanzas analíticas. Las titulaciones pueden ser realizadas con buretas marcadas con divisiones de 0.1 ó 0.05 ml. Las soluciones para análisis químicos pueden ser preparadas con el grado de exactitud deseado de acuerdo con las necesidades.

En general, los instrumentos descritos en este suplemento pueden ser leídos con precisión hasta dos cifras, y se puede estimar una tercera; por lo tanto, el resultado se informará normalmente con tres o menos cifras. Sin embargo, debe prestarse atención constante al hecho de que el resultado final quedará determinado por la medición hecha con la menor precisión—el eslabón más débil de la cadena. El valor que finalmente se informe debería ser redondeado para reflejar la medición menos precisa (peor) y no la más precisa (mejor).

Métodos fotométricos

1. PROPOSITO DEL ENSAYO

El fotómetro ha llegado a ser una pieza valiosa en los laboratorios modernos debido a su precisión y exactitud, así como por el ahorro del tiempo de trabajo. El instrumento puede medir pequeñas diferencias de intensidades de color que no son vistas fácilmente por el ojo humano, eliminando por lo tanto el factor humano variable en la estimación visual del color. Otras ventajas incluyen la eliminación de las cambiantes condiciones de la luz natural, variaciones en el espectro de las lámparas y ceguera al color del analista—todo lo cual puede afectar adversamente las estimaciones visuales.

La mejora de la precisión y exactitud que puede obtenerse con la fotometría permite un método simple para evaluar la aplicabilidad de una técnica analítica a una muestra de agua de composición desconocida. El procedimiento denominado de adición estándar o de agregado involucra la introducción de cantidades conocidas del constituyente que se va a medir en porciones separadas pero iguales de la muestra, observando luego cuánto del total es recuperado. Se debe agregar una cantidad suficiente del constituyente para sobrepasar los límites del error experimental.

2. ADVERTENCIA

Los fotómetros producen los mejores resultados en la parte central de su escala operativa, representada por una transmitancia de 20% o una absorbancia de 0.70 en la parte baja de la escala, y un 80% de transmitancia o 0.10 de absorbancia en el extremo más alto. A bajas transmitancias o altas absorbancias, 10% o 1.0 respectivamente, el instrumento responde con poca sensibilidad a cambios apreciables de color y concentración. A altas transmitancias o bajas absorbancias, 95-100% o 0.02 respectivamente, pequeñas diferencias en la construcción de las cubetas (recipientes para la muestra o celdas) y su colocación en el compartimento de la muestra pueden afectar en forma importante las lecturas. Pueden producirse también errores por la presencia de humedad condensada, polvo, o huellas dactilares en las superficies de la cubeta, o burbujas en la solución. En estas circunstancias la comparación visual de colores muy débiles en tubos Nessler puede ser mejor que la medición fotométrica en la zona de 90-100% de transmitancia o 0.04 de absorbancia.

El analista debe estar continuamente alerta ante la posible aparición de colores débiles y de turbiedad en las muestras y patrones, que pueden fácilmente pasar sin ser notados durante las mediciones fotométricas. Dado que el instrumento entrega una lectura, aunque esta sea discutible, *todo* valor no usual debe ser verificado para eliminar sospechas con respecto a su validez.

Desde el punto de vista físico debe prestarse atención a la posibilidad de fatiga y pérdida de sensibilidad de las fotocélulas, a fluctuaciones en el voltaje de la línea y a fallas eléctricas y mecánicas del instrumento.

Una práctica adecuada requiere la preparación de un testigo de los reactivos junto con cada conjunto de muestras, y por lo menos un patrón en el extremo superior de la escala de concentración óptima a fin de confirmar la confiabilidad de la curva de calibración, reactivos, instrumentos y técnica del analista. Cuando se utilizan instrumentos para lecturas horarias, deben ser revisados una o dos veces durante cada turno.

3. APARATOS

3.1 Un fotómetro consiste de 5 componentes básicos: (1) una fuente de luz, (2) una unidad de control de longitud de onda, (3) un detector, (4) un medidor, (5) un compartimento para la muestra. Un foco produce una luz blanca que es una mezcla de varios colores. Cuando se hace pasar la luz blanca a través de un filtro de color, rejilla de difracción, o prisma, se puede aislar el color deseado. El color seleccionado es generalmente complementario del que se produce en la muestra. La luz seleccionada pasa a través de la muestra tratada y la magnitud de la absorción (obscuridad) es registrada en un detector conectado a un medidor graduado

en % de transmitancia o unidades logarítmicas de absorbancia. El compartimento de la muestra puede aceptar una variedad más o menos amplia de frascos, desde tubos de ensayo de 10 mm de diámetro hasta celdas especiales de 100 mm de paso de luz o más. Los pasos de luz más extensos permiten la estimación de concentraciones más bajas. En la mayor parte de los casos las dimensiones de los frascos para muestra denominados cubetas caen en el grupo de 25 mm o menos. Del precio final de venta dependen los refinamientos que se incluyen en un instrumento determinado.

3.2 Precauciones para la operación:

Se recomiendan varias precauciones en la operación de todos los instrumentos. Cada instrumento debe ser llevado a cero y estandarizado de acuerdo a las instrucciones del fabricante. La cubierta del compartimento de la celda debe mantenerse herméticamente cerrada durante las mediciones instrumentales a fin de minimizar las fugas de luz. El compartimento de la muestra debe mantenerse en todo momento limpio y seco para evitar daño y corrosión de las unidades vitales. Las superficies externas de la cubeta deben ser limpiadas con un paño o papel suave para eliminar el polvo, líquido y marcas de suciedad que pueden ocasionar lecturas incorrectas. Las cubetas deben enjuagarse para eliminar los restos de ensayos anteriores con el objeto de asegurar lecturas confiables de los patrones y muestras que se están examinando. Puede ser necesario enjuagar con agua destilada para lograr la remoción deseada. Dado que los sistemas de lectura de los instrumentos varían, la posición adecuada del ojo es importante para hacer una lectura precisa.

3.3 Verificación de los accesorios:

A su recepción, se debe examinar la idoneidad y condiciones de operación del instrumento y aparato suministrado. Se deben inspeccionar las cubetas para revisar si existen picaduras o rayaduras superficiales que pueden afectar adversamente a las lecturas instrumentales.

La colocación de las cubetas en el compartimento de la muestra merece atención especial, y la evaluación puede realizarse como sigue:

a. Después que el instrumento ha sido encendido y calentado durante varios minutos, ponga el control de longitud de onda a 510 nanómetros o inserte un filtro de color azul en la abertura apropiada.

b. Llene cada cubeta limpia hasta el mismo nivel con agua destilada y limpie huellas dactilares, polvo y manchas de las superficies exteriores con un paño o papel suave, sin pelusas.

c. Introduzca la primera cubeta en el compartimento de la celda y ajuste el medidor a una lectura de 95% de transmitancia o 0.020 de absorbancia.

d. Retire la primera cubeta y rémplacela por las otras, una por una, anotando la lectura de transmitancia o absorbancia de cada cubeta individual.

e. Si es necesario, haga girar los tubos o frascos en el compartimento de la muestra para que todas las lecturas

sean iguales (95.0% de transmitancia o 0.020 de absorbancia), utilizando el resto de los tubos o frascos que se han adquirido. (Se puede tolerar una diferencia de 0.5% en transmitancia o 0.002 de absorbancia entre las lecturas de tubos individuales).

f. Marque permanentemente cada tubo para indicar la posición adecuada de introducción en el portatubos a fin de lograr la tolerancia de 0.5% de transmitancia o 0.002 de absorbancia.

g. Repita este procedimiento remplazando el agua destilada con la solución de cromato de potasio descrita en el párrafo 3.4b a fin de identificar las cubetas y tubos que tienen longitudes de paso internas que hacen juego y producen por lo tanto resultados idénticos. En este último caso, haga las lecturas de transmitancia o absorbancia al 60% o a 0.222 en la escala del medidor, en vez del 95% o 0.020 utilizado con el agua destilada.

3.4 Revisión del funcionamiento del instrumento:

a. Aunque hay varias revisiones instrumentales posibles, haga por lo menos una verificación operacional de rutina cuando el instrumento se utiliza solo ocasionalmente. Cuando se le utiliza en forma horaria haga una o dos revisiones por turno.

b. Disuelva suficientes cristales de cromato de potasio

(K_2CrO_4) en agua destilada para preparar una solución que produzca una transmitancia entre 35-60% o 0.450-0.220 de absorbancia.

c. Anote para referencia futura la lectura exacta de transmitancia o absorbancia de la solución de cromato de potasio cuando el instrumento está funcionando en forma adecuada. Adopte medidas de corrección inmediatas cuando las lecturas de las revisiones de rutina se aparten de esta cifra.

d. Dado que la solución de cromato de potasio es relativamente estable prepare por lo menos un litro de solución para utilizarla durante un período prolongado. Bote la pequeña cantidad que necesita para una revisión de rutina, para no arriesgar la contaminación que podría producirse al devolver la solución de cromato de potasio de prueba a la botella original de almacenamiento.

4. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA PREPARAR LA CURVA DE CALIBRACION

4.1 Prepare curvas de calibración para los métodos colorimétricos descritos en este manual siguiendo las guías para longitud de onda, filtro de color, paso de luz, y concentraciones que se presentan en la tabla que sigue:

Constitu- yente	Método colori- métrico	Longitud de onda nanómetros	Filtro de color	Paso de luz cm	Concentración mg/l
Aluminio	Aluminon	525	Verde	1	0.05-1
Nitrógeno amoniacal	Nessler	400-425	Violeta	5 1	0.05-1 0.4 -5
Cloro residual	N, N-dietil-p- fenilendiamina (DPD) Ortotolidina- arsenito	515	Verde	1	0.05-4
		400-450	Violeta	5 1	0.02-0.3
		490	Azul-verde	1	0.5 -7
Dióxido de cloro	N, N-dietil-p- fenilendiamina (DPD)	515	Verde	1	0.05-4 como cloro 0.03-1.5 como dióxido de cloro
Cobre	Cupretol	435	Violeta	1	0.05-1
Hierro	Fenantrolina	510	Verde	5	0.01-0.08 0.10-0.4
Manganeso	Persulfato	525	Verde	5 1	0.02-0.4 0.10-1.5
Fosfato	Azul de molibdeno	650-690	Rojo	5 1	0.04-0.5 0.3 -2
Sílice	Molibdosilicato	410	Violeta	5 1	0.08-5 4 -25

4.2 Dado que cada método colorimétrico tiene límites de concentración bien definidos, estreche o extienda estos límites en cierta medida variando la longitud de onda o el filtro de color y las dimensiones del paso de luz. Tenga cuidado con colores interferentes que podrían anular este procedimiento. Use de preferencia una longitud de onda o un filtro de color que produzca una línea de calibración recta más bien que una curva. Se puede utilizar una línea curva si la curvatura no es muy severa.

4.3 Utilizando agua destilada* y una solución patrón del constituyente que se está examinando, prepare por lo menos cinco patrones que vayan desde el límite de concentración más bajo al más alto, incluyendo otras tres concentraciones espaciadas uniformemente, y además un testigo de los reactivos.

4.4 Agregue los reactivos en la secuencia requerida para desarrollar el color en cada patrón.

4.5 Siga exactamente los mismos pasos necesarios para el análisis de las muestras. Preste especial atención al espaciamiento adecuado de los patrones y muestras y al tiempo necesario cuando este último es importante en el desarrollo del color para obtener resultados correctos.

4.6 Agregue un volumen adecuado de cada patrón desarrollado a tubos, frascos o cubetas pareados, separados y limpios, que calcen en el instrumento fotométrico disponible.

4.7 Ajuste el instrumento a la longitud de onda correcta o inserte el filtro de color más adecuado en la abertura especificada.

4.8 Después de un tiempo suficiente de calentamiento, lleve el instrumento a cero con agua destilada o con un testigo de los reactivos preparado como se especifica para el componente de interés. En el caso de modelos de laboratorio operados con la red eléctrica, caliente el instrumento antes de esta etapa y manténgalo preparado hasta que esté listo para hacer las mediciones.

4.9 Anote la absorbancia o el % de transmitancia de la lectura del medidor para cada uno de los patrones. Adopte la posición visual correcta cuando esté haciendo las lecturas.

4.10 Asegúrese de que las lecturas se hagan con el compartimento de la muestra herméticamente cerrado.

4.11 Grafique las lecturas del instrumento contra la concentración de una de las dos maneras siguientes para obtener la curva de calibración:

a. Grafique la absorbancia contra la concentración en papel milimetrado ordinario o

b. Grafique el % de transmitancia en la escala logarítmica contra la concentración en la escala lineal de un papel semilogarítmico.

* Filtre el agua destilada a través de un filtro de membrana de 0.45 μm cuando existan niveles de turbiedad que puedan interferir (0.5–3.0 o más unidades de turbiedad nefelométricas).

c. Dibuje una línea suave que una los puntos. Una línea recta que parte del punto cero del gráfico indica un sistema de color ideal para uso fotométrico (que está de acuerdo con la ley de Beer). Una curva de este tipo aparece en la figura de la página 10. Si bien las curvas de calibración tienden a desviarse de la línea recta a altas concentraciones del componente buscado, otras causas de desviación pueden tener su origen en factores instrumentales tales como una banda demasiado ancha del filtro de color, luz que penetra debido a fugas, imperfecciones ópticas, o alineamiento óptico o mantención inadecuados. La tabla de la página 12 permite la conversión del % de transmitancia a lecturas de absorbancia en el caso de que no se disponga de papel semilogarítmico.

5. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA MUESTRAS DE AGUA DESCONOCIDAS

5.1 Manipule las muestras de agua desconocidas llevando el instrumento a cero, de acuerdo a las circunstancias, con uno de los dos testigos siguientes:

a. Use agua destilada como testigo cuando la muestra de agua es clara e incolora.

b. Tome como testigo una porción de la muestra original no tratada que contiene color o turbiedad natural. Un testigo semejante a menudo anula la falsa lectura fotométrica dada por el color o turbiedad natural.

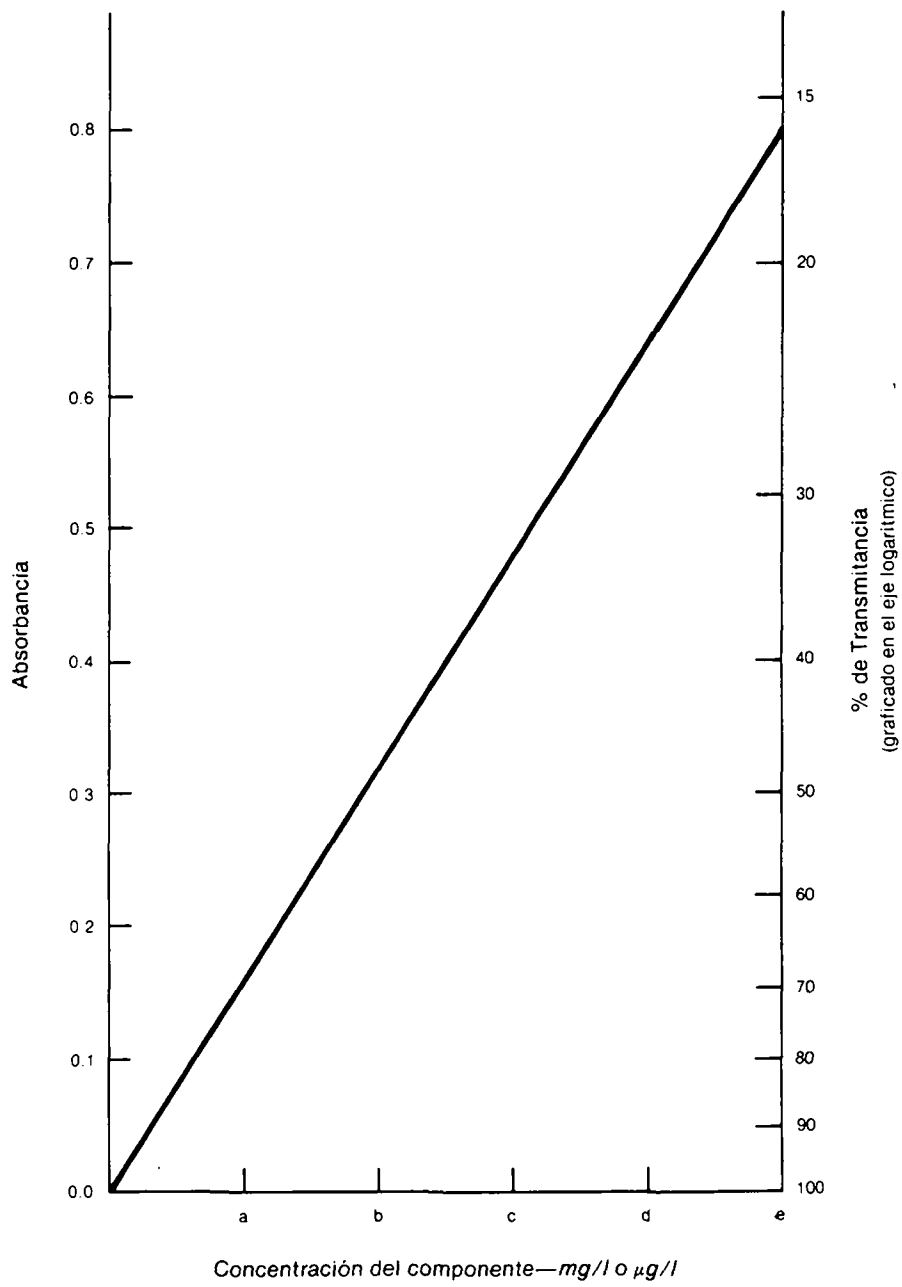
5.2 Cuando los reactivos químicos dan color o turbiedad, trate un volumen paralelo de agua destilada en forma similar a la muestra de agua. Determine instrumentalmente la cantidad de color producida contra un testigo de agua destilada no tratada, convierta la lectura fotométrica a mg/l o $\mu\text{g/l}$ refiriéndose a la curva de calibración, y sustraiga los mg/l o $\mu\text{g/l}$ resultantes del valor contenido en cada muestra de agua. Determine este testigo de reactivos cuando los prepare y utilice por primera vez, y luego a intervalos semanales a menos que una subsecuente contaminación o deterioro del reactivo justifique una mayor frecuencia.

6. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA VERIFICACION CONFIRMATORIA MEDIANTE ADICION ESTANDAR

La verificación confirmatoria mediante adición estándar proporciona un método de eliminar sospechas respecto a la presencia de interferencias y permite establecer la naturaleza positiva o negativa de la interferencia en muestras nuevas o poco frecuentes de las cuales se sabe relativamente poco.

6.1 Mida tres porciones iguales de la muestra de agua desconocida.

6.2 Agregue a la primera porción una cantidad cono-



Curva de calibración fotométrica típica

Transmitancia %	Absorbancia	Transmitancia %	Absorbancia	Transmitancia %	Absorbancia	Transmitancia %	Absorbancia
1.0	2.000	26.0	.585	51.0	.292	76.0	.119
1.5	1.824	26.5	.577	51.5	.288	76.5	.116
2.0	1.699	27.0	.569	52.0	.284	77.0	.114
2.5	1.602	27.5	.561	52.5	.280	77.5	.111
3.0	1.523	28.0	.553	53.0	.276	78.0	.108
3.5	1.456	28.5	.545	53.5	.272	78.5	.105
4.0	1.398	29.0	.538	54.0	.268	79.0	.102
4.5	1.347	29.5	.530	54.5	.264	79.5	.100
5.0	1.301	30.0	.523	55.0	.260	80.0	.097
5.5	1.260	30.5	.516	55.5	.256	80.5	.094
6.0	1.222	31.0	.509	56.0	.252	81.0	.092
6.5	1.187	31.5	.502	56.5	.248	81.5	.089
7.0	1.155	32.0	.495	57.0	.244	82.0	.086
7.5	1.126	32.5	.488	57.5	.240	82.5	.084
8.0	1.097	33.0	.482	58.0	.237	83.0	.081
8.5	1.071	33.5	.475	58.5	.233	83.5	.078
9.0	1.046	34.0	.469	59.0	.229	84.0	.076
9.5	1.022	34.5	.462	59.5	.226	84.5	.073
10.0	1.000	35.0	.456	60.0	.222	85.0	.071
10.5	.979	35.5	.450	60.5	.218	85.5	.068
11.0	.959	36.0	.444	61.0	.215	86.0	.066
11.5	.939	36.5	.438	61.5	.211	86.5	.063
12.0	.921	37.0	.432	62.0	.208	87.0	.061
12.5	.903	37.5	.426	62.5	.204	87.5	.058
13.0	.886	38.0	.420	63.0	.201	88.0	.056
13.5	.870	38.5	.414	63.5	.197	88.5	.053
14.0	.854	39.0	.409	64.0	.194	89.0	.051
14.5	.838	39.5	.403	64.5	.191	89.5	.048
15.0	.824	40.0	.398	65.0	.187	90.0	.046
15.5	.810	40.5	.392	65.5	.184	90.5	.043
16.0	.796	41.0	.387	66.0	.181	91.0	.041
16.5	.782	41.5	.382	66.5	.177	91.5	.039
17.0	.770	42.0	.377	67.0	.174	92.0	.036
17.5	.757	42.5	.372	67.5	.171	92.5	.034
18.0	.745	43.0	.367	68.0	.168	93.0	.032
18.5	.733	43.5	.362	68.5	.164	93.5	.029
19.0	.721	44.0	.357	69.0	.161	94.0	.027
19.5	.710	44.5	.352	69.5	.158	94.5	.025
20.0	.699	45.0	.347	70.0	.155	95.0	.022
20.5	.688	45.5	.342	70.5	.152	95.5	.020
21.0	.678	46.0	.337	71.0	.149	96.0	.018
21.5	.668	46.5	.332	71.5	.146	96.5	.016
22.0	.658	47.0	.328	72.0	.143	97.0	.013
22.5	.648	47.5	.323	72.5	.140	97.5	.011
23.0	.638	48.0	.319	73.0	.139	98.0	.009
23.5	.629	48.5	.314	73.5	.134	98.5	.007
24.0	.620	49.0	.310	74.0	.131	99.0	.004
24.5	.611	49.5	.305	74.5	.128	99.5	.002
25.0	.602	50.0	.301	75.0	.125	100.0	.000
25.5	.594	50.5	.297	75.5	.122		

cida de solución patrón que contenga el componente buscado.

6.3 Agregue a la segunda porción de la muestra otra cantidad conocida, pero mayor, de la misma solución patrón.

6.4 Deje la tercera porción sin agregado.

6.5 Diluya todas las porciones al mismo volumen con la muestra de agua desconocida.

6.6 Desarrolle el color en las tres porciones, de acuerdo con el procedimiento prescrito.

6.7 Si los resultados de las dos primeras muestras corresponden al de la muestra original (tercera porción), más las cantidades artificialmente agregadas, se puede suponer que el resultado de la muestra original, sin agregados, es el correcto. Si las recuperaciones difieren de la cantidad agregada, por exceso o defecto, en más que el error experimental, la dificultad puede ser atribuida a una interferencia presente en la muestra desconocida.

7. CONJUNTO DE INSTRUMENTOS

Varios fabricantes proporcionan un equipo que consiste de un instrumento fotométrico, curvas precalibradas de transmitancia o absorbancia, y reactivos para la determinación de una variedad de constituyentes. Los instrumentos pueden operar mediante una batería o con una fuente

de corriente alterna. Los equipos están preparados según la idoneidad de los instrumentos específicos.

Debe prestarse especial atención a los reactivos químicos proporcionados con el equipo instrumental. Pese a los esfuerzos de cada fabricante para ofrecer reactivos estables, las preparaciones químicas pueden deteriorarse con el tiempo. Se recomienda revisar periódicamente los reactivos para verificar uno o más puntos de las curvas de calibración proporcionadas. Cualquier variación exige que se realice una investigación cuidadosa ya que puede ser ocasionada por uno o más de los siguientes factores: (1) un procedimiento desarrollado inadecuadamente, (2) una solución patrón o reactivo deteriorado, o (3) defectos instrumentales tales como ingreso de luz, imperfecciones ópticas, o mantenimiento o alineamiento óptico inadecuados.

Obviamente, las soluciones patrón y los reactivos defectuosos deben ser eliminados y deben adquirirse o prepararse otros frescos. La exposición a la luz del sol o a condiciones extremas de calor o humedad pueden también acortar la vida útil de los reactivos y patrones, requiriendo medidas protectoras para evitar el deterioro debido a las causas mencionadas.

Se dispone comercialmente de patrones para varios análisis como una ayuda para el analista que no dispone de los reactivos o facilidades necesarias, o que desea una verificación de control de calidad en relación con la precisión de su propio trabajo.

Conductividad

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Dado que la conductividad de las aguas potables está a menudo relacionada con la concentración de las sales minerales disueltas o del residuo filtrable, variaciones de lo normal pueden indicar cambios en la composición mineral del agua cruda, variaciones estacionales en los reservorios, fluctuaciones diarias en las substancias químicas de los ríos contaminados, o la presencia de residuos industriales. Sin embargo, solo la experiencia con un determinado abastecimiento de agua confirmará la importancia de las determinaciones de conductividad. La conductividad puede también proporcionar una clave valiosa en relación con el tamaño aproximado de una muestra de agua desconocida que debe recogerse para un análisis químico corriente. La mayor parte de las aguas potables en los Estados Unidos presenta una conductividad de aproximadamente 50-1000 micromhos/cm a 25°C, aunque aguas altamente mineralizadas exceden de la última cifra indicada. La costumbre de informar los valores de conductividad en micromhos/cm a 25°C requiere la determinación precisa de la temperatura

de cada muestra al momento de determinar la conductividad.

2. ADVERTENCIA

Los electrodos de platino deben ser limpiados y replatinizados cada vez que las lecturas del instrumento se hacen erráticas o poco precisas, o cuando la inspección revela que se ha desescamado parte del negro de platino. La conductividad aumenta con la temperatura a una tasa de aproximadamente 2% por grado Celsius, por lo que una medición precisa de la temperatura es muy importante. Es preferible dejar sedimentar agua que contiene cantidades importantes de materias en suspensión antes de realizar una medición de conductividad con el objeto de disminuir la posibilidad de ensuciar el electrodo de la celda. Aceites y grasas pueden cubrir también los electrodos y afectar la precisión de las lecturas—un problema que puede ser eliminado sumergiendo los electrodos en soluciones detergentes de acuerdo a las necesidades.

3. APARATOS

3.1 Los instrumentos de conductividad consisten de una fuente de corriente alterna, un puente de Wheatstone, un indicador de cero y una celda de conductividad. El punto cero se determina mediante un galvanómetro de corriente alterna o un tubo catódico. Algunos instrumentos dan lecturas en ohmios mientras que otros las entregan directamente en conductividad o en unidades de conductancia de micromhos/cm. Usando circuitos de estado sólido, de bajo consumo, se fabrican medidores de conductividad de lectura directa, compactos, operados mediante baterías, adecuados para uso en el campo. Los instrumentos de buena calidad para laboratorio y campo están equipados para su operación dentro de amplios límites de conductividad.

3.2 La celda de conductividad constituye uno de los brazos del puente de Wheatstone, un dispositivo para la medición de la resistencia eléctrica. La celda contiene un par de electrodos montados rígidamente, cuyo diseño, forma, tamaño y posición tienen influencia sobre el valor numérico de la constante de la celda. La constante de la celda se determina midiendo la resistencia de una solución patrón 0.0100 M de cloruro de potasio a 25°C. Una constante de celda entre 0.1 a 2.0 es satisfactoria para la medición de la mayor parte de las aguas potables. Celdas con una constante de 0.1 producirán mejores resultados entre 1 a 400 micromhos/cm, mientras que celdas con constantes de 2.0 funcionarán mejor entre 200-10000 micromhos/cm. Hay celdas de conductividad con electrodos platinizados, tanto en forma de pipetas como de tipo de inmersión, adecuadas para mediciones en laboratorio. Electrodos de metales comunes duraderos (acero inoxidable entre otros) se utilizan ampliamente para mediciones continuas y estudios en el campo. Para una operación óptima, las celdas de conductividad deben mantenerse en todo momento limpias, y sumergidas en agua destilada cuando están fuera de servicio durante períodos diarios o semanales.

3.3 Termómetro que cubre el ámbito de 23°C a 27°C y que se pueda leer o estimar hasta el 0.1°C más próximo. Un termómetro de 0 a 50°C servirá para este propósito.

4. REACTIVOS

4.1 Agua para conductividad:

Utilice esta agua para la preparación de la solución patrón de cloruro de potasio y para todas las diluciones de la muestra. Prepárela de una de las dos maneras siguientes:

a. Para producir un agua de conductividad de menos de 1 micromho/cm, haga pasar agua destilada a través de un deionizador de lecho mezclado, descartando los primeros 1000 ml de flujo. Un deionizador adecuado puede ser adquirido o construido utilizando un tubo de vidrio de 25 cm

(1-2.5 cm de diámetro) que se carga con dos partes en volumen de una resina de intercambio aniónico fuertemente básica en la forma de hidroxilo, y una parte en volumen de una resina de intercambio catiónico fuertemente ácida en la forma de hidrógeno. Utilice resinas de intercambio iónico de calidad analítica.

b. Redestile agua destilada en una unidad de destilación resistente al calor. Hierva el agua redestilada y enfríela a la temperatura ambiente justo antes de la preparación de la solución de cloruro de potasio. Prepárese como se describe en la sección Anhídrido Carbónico (Libre de). Ver Manual de Procedimientos Simplificados.

4.2 Solución patrón de cloruro de potasio 0.0100 M:

a. Coloque aproximadamente 2 g de cloruro de potasio (KCl) en un frasco pesador o cápsula. Colóquelo en una estufa de secado que esté operando entre 110-130°C de temperatura y seque durante 2 h o toda la noche. Transfiera el frasco pesador o cápsula a un desecador y deje enfriar a la temperatura ambiente.

b. Pese cuidadosamente en una balanza analítica 0.7456 g de cloruro de potasio (KCl). Transfiera cuidadosamente el reactivo pesado a un vaso de 250 ml y disuélvalo en 100 ml de agua para conductividad.

c. Transfiera la solución a un frasco volumétrico de 1 litro, enjuagando el vaso con tres porciones de 100 ml de agua para conductividad.

d. Diluya hasta la marca de 1 litro con agua para conductividad. Tape y mezcle bien. Guarde en una botella resistente al calor con tapón de vidrio. Utilice esta solución patrón de referencia, que tiene una conductividad de 1413 micromhos/cm a 25°C, para determinar constantes de celdas entre 0.1 y 2.0.

5. DETERMINACION DE LA CONSTANTE DE LA CELDA

5.1 Lave la celda de conductividad con por lo menos tres porciones de solución patrón de cloruro de potasio 0.0100 M.

5.2 Ajuste la temperatura de una cuarta porción a 25°C \pm 0.1°C sumergiéndola en un baño de agua cuidadosamente controlado o por otros medios disponibles en el laboratorio.

5.3 Lenta y cuidadosamente sumerja los electrodos en un volumen suficiente de solución patrón de cloruro de potasio, de tal manera que el nivel del líquido se eleve por encima de los agujeros de ventilación de la celda de conductividad, y que no se formen burbujas de aire, ni se adhieran estas a superficies vitales de medición.

5.4 Observe y anote la temperatura de la solución patrón de cloruro de potasio al 0.1°C más próximo.

5.5 Siga las instrucciones del fabricante para la operación del instrumento y la medición de la resistencia.

5.6 Calcule la constante de la celda mediante la siguiente ecuación:

Constante de la celda =

$$\frac{\text{Resistencia de la solución patrón de KCl} \times 0.001413}{\{(temperatura de la solución patrón de KCl-25) \times 0.02\} + 1}$$

5.7 Determine diariamente la constante de la celda con solución patrón de cloruro de potasio antes de efectuar mediciones de muestras. Repita durante el curso del día si se están haciendo mediciones prolongadas de muestras. Anótelas para futuras referencias. Si la celda es tratada con cuidado, su constante no debería cambiar.

6. MEDICION DE LA CONDUCTIVIDAD DE LA MUESTRA

6.1 Enjuague cuidadosamente la celda de conductividad con una o más porciones de la muestra de agua. Use enjuagues adicionales para minimizar los residuos de solución o de muestras cuando la conductividad de la muestra difiera por un factor de 5 o más de la conductividad de la solución patrón de cloruro de potasio o de la muestra de agua precedente.

6.2 Ajuste a $25^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ la temperatura de la porción de la muestra que se va a medir.

6.3 Lenta y cuidadosamente sumerja los electrodos en un volumen suficiente de la muestra de agua de tal manera que el nivel del agua suba por encima de los agujeros de ventilación de la celda de conductividad y que no se formen burbujas de aire ni se adhieran estas a superficies de medición vitales.

6.4 Observe y anote la temperatura de la muestra de agua hasta el más próximo 0.1°C .

6.5 Siga las instrucciones del fabricante para la operación del instrumento y la determinación de la resistencia. Adopte la posición visual correcta cuando esté haciendo la lectura. Para mejores resultados, enjuague, lea, anote, vuelva a tomar muestra, lea, y anote de tal manera que se obtengan dos lecturas similares.

6.6 Calcule la conductividad de la muestra mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Conductividad de la muestra en micromhos/cm a } 25^{\circ}\text{C} = \frac{\text{Constante de la celda} \times 1\,000\,000}{\text{Resistencia medida de la muestra} \times \{0.02 \times (\text{temperatura de la muestra en grados Celsius}-25) + 1\}}$$

6.7 Si la conductividad de la muestra excede de los límites del instrumento, diluya la muestra con agua para conductividad y repita los pasos 6.1-6.6.

6.8 Informe los valores de conductividad por debajo de 1000 micromhos/cm en números enteros, y por encima de 1000 hasta 3 cifras significativas. Cuando se necesite diluir, informe igualmente el factor de dilución y la lectura de la muestra diluida.

Método electrométrico para pH

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

El pH de la mayor parte de las aguas naturales está entre 6.0 y 8.5. El método electrométrico de medición del pH es superior al método del indicador colorimétrico por su precisión y también porque está exento de interferencias de la muestra, tales como color, turbiedad, cloro, materia orgánica y coloidal y agentes oxidantes y reductores. Los circuitos de estado sólido permiten que los medidores modernos de pH alcancen una precisión de ± 0.5 unidades de pH con modelos más baratos y mejor que ± 0.005 unidades de pH en modelos más precisos. Una precisión de ± 0.05 unidades de pH y un valor informado hasta el primer decimal son suficientes en la mayor parte de los casos.

2. ADVERTENCIA

Pueden producirse errores de medición debido a fallas mecánicas o eléctricas que involucran baterías débiles, elec-

trodos de vidrio deteriorados o muy antiguos, una unión líquida tapada en el electrodo de referencia, electrodos de referencia inadecuadamente llenados, y ensuciamiento de los electrodos con materiales aceitosos, grasos o precipitados. Se puede producir daño al limpiar o secar los electrodos de vidrio con una tela o papel abrasivo o sucio. Pueden producirse errores cuando la temperatura de la solución amortiguadora y la de las muestras varía en más de 5°C . La aeración y la agitación deben minimizarse durante la medición de las muestras a fin de reducir las pérdidas de anhídrido carbónico. Un cambio de 1 mg/l de anhídrido carbónico puede alterar significativamente el pH de un agua de bajo residuo.

3. APARATO

3.1 Tipos de instrumentos disponibles:

Los medidores de pH se encuentran en el mercado en modelos simples y de escala expandida, siendo los últimos adecuados para la medición de pH y de otros iones adicionales tales como fluoruro para los cuales se han desa-

rollado electrodos de ion selectivo. Las escalas y circuitos de los medidores de ion selectivo de lectura directa permiten en forma similar la medición tanto del pH, como de iones suplementarios. Rasgos que se encuentran en medidores de pH de buena calidad operados mediante la red eléctrica incluyen reguladores de voltaje, estabilidad de la calibración, compensación de temperatura y adaptabilidad para operaciones titulométricas. Instrumentos compactos operados a baterías están disponibles para determinaciones de pH en el campo.

3.2 Partes componentes:

Los componentes principales de un medidor de pH consisten de un electrodo sensor y un electrodo de referencia que se conectan a un voltímetro de alta impedancia capaz de registrar el voltaje (fuerza electromotriz) de los electrodos de alta resistencia. El electrodo sensor se construye habitualmente de un vidrio especial cuyo voltaje fluctúa con el pH de la muestra de agua. El electrodo patrón de referencia de calomel proporciona un voltaje estable y constante (+ 0.246) contra el cual se puede comparar el voltaje del electrodo de vidrio selectivo de ion de hidrógeno. La escala del medidor está graduada en unidades de pH. Los modelos más versátiles incorporan adicionalmente una escala de milivoltios. Los medidores de ion selectivo de lectura directa poseen también escalas logarítmicas adecuadas para mediciones de iones selectivos, por lo que es necesario cuidar que la lectura se haga en la escala adecuada.

3.3 Electrodo:

a. Vidrio: Para un funcionamiento estable y confiable puede ser necesario sumergir en agua durante varias horas un electrodo de vidrio nuevo o uno que se haya secado después de un prolongado almacenamiento. El extremo del electrodo de vidrio debería mantenerse sumergido en agua cuando esté fuera de servicio durante intervalos diarios o semanales. Se deben seguir las instrucciones del fabricante en estos asuntos. El electrodo normal de pH funciona mejor entre límites de pH de 1 a 9. El electrodo de vidrio presenta un ligero error en un pH inferior a 1.0. Cuando el electrodo de vidrio corriente debe utilizarse en el ámbito alcalino, se corrige el error de sodio en el resultado final por referencia a una tabla o a cálculos proporcionados por los fabricantes del electrodo. Para ámbitos de pH por encima de 10, en el cual los iones de sodio contribuyen a un error serio, y para mediciones a temperaturas por encima de 60°C, se recomiendan normalmente electrodos individuales especiales. Se deben inspeccionar regularmente los extremos de los electrodos de vidrio para detectar signos de abrasión o deterioro que puedan afectar la respuesta y la linealidad.

b. Referencia: Un electrodo de referencia normal de calomel, del tipo de manga, puede servir tanto para la medición de pH como para fluoruros. Cuando no esté en uso, el extremo del electrodo debe ser protegido contra daños mediante un tapón de goma diseñado para este propósito. Debe mantenerse el nivel adecuado del líquido en el electrodo agregando solución saturada de cloruro de

potasio hasta un punto situado a un cuarto de pulgada por debajo del agujero de relleno. Si es necesario, debe agitarse vigorosamente el electrodo para romper cualquier cristal que pueda haberse compactado en su fondo. La manga de goma que cubre el agujero de relleno debe ser removida antes de hacer cualquiera determinación de pH.

c. Combinados: Convencionalmente, los electrodos sensores y de referencia se ofrecen en unidades separadas y distintas. Sin embargo, a veces se les combina en un sistema único común para facilidad de manipulación, mayor resistencia, medición de pequeños volúmenes de muestra, y titulaciones.

3.4 Efecto y compensación de la temperatura:

La temperatura afecta las mediciones de pH en dos formas importantes: (1) los electrodos varían en su potencial y (2) la ionización de la muestra puede aumentar o disminuir. En el primer caso el cambio de voltaje del electrodo sensor varía linealmente con el pH. A la temperatura ambiente, el cambio de una unidad de pH ocasiona un cambio de voltaje de aproximadamente 60 milivoltios (mV). A 0°C, el punto de congelación del agua, el cambio de voltaje por unidad de pH disminuye a 54 mV, y aumenta a 70 mV a 100°C, el punto de ebullición del agua. El dial de temperatura de un medidor de pH corrige estas respuestas de voltaje variables. Los instrumentos para pH más caros llevan también un control de declinación del electrodo para corregir la respuesta no teórica, haciendo conjugar la sensibilidad del medidor con el voltaje de los electrodos. El segundo efecto debido a la ionización es inherente a la muestra y se señala anotando tanto la temperatura como el pH de cada muestra.

3.5 Precauciones de operación:

Un medidor de pH debe ser estandarizado con una solución patrón específicamente preparada para este propósito. Se obtienen mejores resultados cuando la solución amortiguadora patrón tiene un valor de pH aproximadamente similar al de la muestra de agua. En el caso de las muestras de agua potable, que normalmente presentan un ámbito neutral, la solución patrón de fosfato (pH 6.9) ofrece una selección inicial satisfactoria. Se puede utilizar un segundo y tercer amortiguador para controlar la linealidad de la respuesta del medidor de pH sobre el ámbito de muestra deseado. El amortiguador de biftalato de pH 4 y el amortiguador de borato de pH 9 son satisfactorios para este propósito. Es esencial que se enjuaguen cuidadosamente los electrodos para eliminar cualquier traza del amortiguador antes de introducir los otros amortiguadores y de hacer la posterior medición de la muestra.

4. REACTIVOS

4.1 Precauciones para la preparación de las soluciones amortiguadoras patrones:

a. Utilice reactivos que cumplan con las especificaciones de la Sociedad Norteamericana de Química, o de calidad igual o superior.

b. Disuelva todas las sales sólidas en agua destilada durante la preparación de las soluciones amortiguadoras.

c. Prepare las soluciones amortiguadoras que se utilizan con poca frecuencia y de acuerdo a las necesidades, en forma de evitar el deterioro, que se puede detectar por la formación de moho o cambios en el pH.

d. Almacene las soluciones amortiguadoras de preferencia en frascos de polietileno, o en recipientes de vidrio resistente al calor.

e. Para mayor conveniencia utilice las tabletas, polvos o concentrados para amortiguadores de calidad probada que se pueden encontrar en el comercio, los que se disuelven en agua destilada y se diluyen al volumen especificado, a menudo 100 ml; o las soluciones amortiguadoras patrón preparadas que se pueden encontrar en las buenas casas de artículos para laboratorio.

f. Elimine una solución amortiguadora en la que el crecimiento de moho se hace visible.

4.2 Agua destilada para la preparación de soluciones amortiguadoras patrón:

Hierva un volumen suficiente de agua destilada durante 15 minutos y enfríe a la temperatura ambiente unos pocos minutos antes de la preparación de las soluciones amortiguadoras patrón que siguen. Prepárela como se describe en la sección Anhídrido Carbónico (Libre de). Ver Manual de Procedimientos Simplificados.

4.3 Solución amortiguadora patrón, pH 6.86 a 25°C:

a. Coloque por separado 4 g de fosfato de potasio monobásico $\{KH_2PO_4\}$ y 4 g de fosfato dibásico de sodio $\{Na_2HPO_4\}$, en frascos pesadores o cápsulas. Póngalos en una estufa de secado que esté operando entre 110 a 130°C y seque las sales durante dos horas. Transfiera los frascos o cápsulas de pesado a un desecador y permita que las sales se enfríen a la temperatura ambiente.

b. Pese separadamente en una balanza analítica 3.388 g de fosfato de potasio monobásico y 3.533 g de fosfato de sodio dibásico. Transfiera los reactivos pesados a un vaso de 500 ml y disuélvalos en 300 ml de agua destilada.

c. Transfiera la solución a un frasco volumétrico de 1 litro con tres porciones de 200 ml de agua destilada, diluya hasta la marca de 1 litro con agua destilada, tape y mezcle cuidadosamente.

4.4 Solución amortiguadora patrón, pH 4.01 a 25°C:

a. En una balanza analítica pese 10.12 g de biftalato de potasio $\{KHC_8H_4O_4\}$. Transfiera el reactivo pesado a un frasco de 500 ml y disuélvalo en 300 ml de agua destilada.

b. Transfiera la solución a un frasco volumétrico de 1 litro con tres porciones de 200 ml de agua destilada, diluya hasta la marca de 1 litro con agua destilada, tape y mezcle cuidadosamente.

4.5 Solución amortiguadora patrón, pH 9.18 a 25°C:

a. En una balanza analítica pese 3.80 g de borato de sodio decahidratado (llamado también bórax) $\{Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O\}$. Transfiera el reactivo pesado a un vaso de 500 ml y disuélvalo en 300 ml de agua destilada.

b. Transfiera la solución a un frasco volumétrico de 1 litro con tres porciones de 200 ml de agua destilada, diluya a la marca de 1 litro con agua destilada, tape, y mezcle cuidadosamente.

5. ESTANDARIZACION DEL MEDIDOR DE pH

5.1 Las diferencias en los diversos instrumentos y modelos de medidores de pH hacen imposible el proporcionar instrucciones detalladas para la operación correcta de cada instrumento. Por lo tanto, siga las instrucciones del fabricante en relación al cuidado y operación del instrumento y de los accesorios disponibles. Observe las precauciones generales que siguen, que se aplican en la mayor parte de los casos y que merecen atención especial. Moje los electrodos de vidrio y de referencia de calomel nuevos cuidadosamente y prepárelos para su uso de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

5.2 Enjuague los electrodos de pH y de referencia con agua destilada o deionizada.

5.3 Seque bien los electrodos húmedos. Use una toalla de papel suave que no raye o estropee las superficies de vidrio de los electrodos.

5.4 Llene el vaso con el volumen adecuado de la solución amortiguadora de fosfato de pH 6.9.

5.5 Introduzca los electrodos en la solución de tal manera que los bulbos o el área sensible de los electrodos esté completamente sumergida y libre de burbujas de aire adheridas o atrapadas.

5.6 Lea la temperatura de la solución amortiguadora con un termómetro.

5.7 Ajuste el dial de temperatura del medidor de pH a la temperatura de la solución amortiguadora.

5.8 Encienda el medidor de pH. Permita que el instrumento se caliente durante un minuto o más. En el caso de modelos de laboratorio que operan con la red eléctrica permita que el instrumento se caliente antes de esta etapa y manténgalo preparado hasta que esté listo para hacer las mediciones.

5.9 Con el botón de control adecuado ajuste el instrumento al valor de pH de la solución amortiguadora patrón anotada en la tabla de la página 22. Asegúrese de que la aguja haya alcanzado estabilidad y que sus ojos estén convenientemente enfocados en la escala antes de hacer el ajuste final.

5.10 Vuelva el instrumento a la posición de reposo.

5.11 Levante los electrodos hasta que queden libres de la solución amortiguadora patrón y remplace el vaso de la solución amortiguadora patrón con un vaso para residuos.

5.12 Enjuague los electrodos con agua destilada y séquelos como se describe en los párrafos 5.2, 5.3. Saque el vaso para residuos.

5.13 Continúe con el párrafo 5.14 ó 5.6 dependiendo de la precisión deseada, la estabilidad del instrumento, o el tiempo disponible.

Variación de los valores del pH de soluciones amortiguadoras patrón con la temperatura

Temperatura °C	Valores de pH de las soluciones amortiguadoras patrón		
	Biftalato de potasio	Fosfato de potasio monobásico con fosfato de sodio dibásico	Borato de sodio
0	4.003	6.984	9.464
5	3.999	6.951	9.395
10	3.998	6.923	9.332
15	3.999	6.900	9.276
20	4.002	6.881	9.225
25	4.008	6.865	9.180
30	4.015	6.853	9.139
35	4.024	6.844	9.102
38	4.030	6.840	9.081
40	4.035	6.838	9.068
45	4.047	6.834	9.038
50	4.060	6.833	9.011
55	4.075	6.834	8.985
60	4.091	6.836	8.962
70	4.126	6.845	8.921
80	4.164	6.859	8.885
90	4.205	6.877	8.850
95	4.227	6.886	8.833

5.14 Si el tiempo lo permite, verifique la linealidad de la respuesta del electrodo por lo menos con una segunda, y aun una tercera, solución amortiguadora. Elija el amortiguador de ftalato de pH 4 si la muestra de agua va a estar por debajo del pH 7 o el amortiguador de borato de pH 9 si la muestra va a estar por encima del pH 9.

5.15 Repita los pasos en los párrafos 5.4 a 5.12. Considere aceptable una lectura del pH con la segunda solución amortiguadora cuando difiera en menos de ± 0.05 unidades de pH del valor anotado para la temperatura estipulada en la tabla de esta página. Aumente la variación hasta 0.1 unidades de pH si una precisión menor es satisfactoria, o reemplace el electrodo de pH. Repita la estandarización desde el párrafo 5.2 en adelante si la variación es inaceptable. Continúe con el paso 6.1 cuando el funcionamiento del instrumento sea satisfactorio.

5.16 Verifique de vez en cuando la calibración durante períodos extensos de mediciones.

6. DETERMINACION DE LA MUESTRA

6.1 Encienda el instrumento y manténgalo preparado.

6.2 Enjuague los electrodos con la solución amortiguadora patrón y reemplace el vaso de la solución amortiguadora con un vaso para residuos.

6.3 Enjuague los electrodos con agua destilada y séquelos. Enjuague también con una pequeña cantidad de la muestra de agua, si dispone de ella en cantidad suficiente. Saque el vaso para residuos.

6.4 Llene el vaso limpio con el volumen adecuado de la muestra de agua.

6.5 Sumerja los electrodos en la muestra de agua hasta que las áreas sensoras del electrodo estén sumergidas por completo y libre de burbujas de aire adheridas o atrapadas.

6.6 Lea la temperatura de la muestra de agua.

6.7 Ajuste el dial de temperatura a la temperatura de la muestra de agua.

6.8 Encienda el medidor de pH.

6.9 Lea el pH de la muestra de agua directamente en la escala. Asegúrese de que la aguja haya alcanzado estabilidad y que sus ojos están enfocados correctamente sobre la escala.

6.10 Vuelva el instrumento a la posición de reposo.

6.11 Repita los pasos en los párrafos 6.2 a 6.10 cuando vaya a determinar muestras de agua adicionales.

Método del electrodo para fluoruros

1. EXPLICACION DE LA PRUEBA

Un medidor de pH sensible, equipado con una escala expandida, o un medidor de lectura directa de ion selectivo,

proporciona un método rápido para determinar el fluoruro mediante mediciones de potencial. La unidad sensora consiste de un electrodo para fluoruro de estado sólido que contiene un cristal de fluoruro de lantano. El electrodo para

fluoruro en conjunción con un electrodo de referencia patrón de calomel del tipo de manga se sumergen en una muestra de agua amortiguada a pH 5.0-5.5 y se agita hasta obtener una medición estable en la escala logarítmica adecuadamente calibrada o en el instrumento de lectura directa. En el caso del medidor de pH, una serie de soluciones de fluoruro que abarcan el ámbito de interés (0.1 ó 0.2 a 2.0 mg/l) deben ser preparadas con el objeto de graficar una curva de calibración de milivoltios contra concentración. Las mediciones en las muestras se pueden efectuar con una precisión de ± 0.05 mg/l en el ámbito de 1 mg/l de fluoruro.

2. ADVERTENCIA

La dependencia del electrodo de la temperatura hace imperativo calibrar a una temperatura lo más cercana posible a la que tendrán las muestras. El electrodo responde al ion fluoruro y es inerte para las formas complejas o ligadas. Los electrodos de fluoruro difieren en su comportamiento y sensibilidad. Algunos pueden detectar concentraciones de fluoruro tan bajas como 0.1 mg/l o menos mientras que otros pueden responder solo al nivel de 0.2 mg/l. Solo la experiencia señalará la concentración mínima de fluoruro que puede ser determinada confiadamente con el electrodo disponible.

3. APARATO

3.1 Un medidor de pH de escala expandida o un medidor de lectura directa de ion selectivo equipado con un electrodo de fluoruro y un electrodo patrón de referencia de calomel del tipo de manga. Verifique las instrucciones proporcionadas con el electrodo de fluoruro para el tipo de electrodo de referencia recomendado, dado que esta selección puede ser importante.

3.2 Agitador magnético de barra cubierta de teflón.

3.3 Cronómetro.

4. REACTIVOS

4.1 Soluciones madre y patrón de fluoruro: Prepárelas como se describe en la sección sobre Fluoruro, párrafos 4.2 y 4.3 del Manual de Procedimientos Simplificados.

4.2 Solución amortiguadora:

a. Mida 500 ml de agua destilada en un vaso de 1 litro.

b. Con una probeta graduada de 100 ml, mida 57 ml de ácido acético concentrado (llamado también ácido acético glacial) y agréguelo a los 500 ml de agua destilada. Mezcle cuidadosamente.

c. En una balanza corriente pese 58 g de cloruro de sodio (NaCl) y disuélvalos en la solución de ácido acético.

d. En una balanza analítica pese 4.0 g de ácido (1, 2-ciclohexilendinitrilo)-tetraacético, llamado también ácido 1, 2-ciclohexanodiamino tetraacético o CDTA, y disuélvalo en la solución (c). Alternativamente, debido al costo del CDTA, sustitúyalo si lo desea con 12.0 g de citrato de sodio dihidratado ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), y disuélvalo en la solución (c).

e. Prepare una solución de hidróxido de sodio 6N pesando en una balanza corriente 48 g de NaOH en lentejas y disolviéndolo con cuidado en 150 ml de agua destilada. Enfríe esta solución a la temperatura ambiente en un baño de agua fría corriente. Transfírela luego a una probeta de mezclado graduada de 200 ml o a un frasco volumétrico, diluya hasta la marca con agua destilada, tape y mezcle cuidadosamente.

f. Coloque el vaso que contiene la solución (d) en un baño de agua fría corriente y agregue lentamente, mientras revuelve, unos 120 ml de solución 6N de hidróxido de sodio.

g. Determine, con un medidor de pH, el pH de una pequeña porción de la solución neutralizada.

h. Repita la determinación de pH después de pequeñas adiciones sucesivas de hidróxido de sodio hasta que el pH final caiga en el ámbito deseado entre 5.0 y 5.5. Se pueden necesitar aproximadamente 125 ml de hidróxido de sodio.

i. Transfiera la solución resultante a un frasco volumétrico de 1 litro, diluya hasta la marca con agua destilada, tape y mezcle cuidadosamente.

5. PROCEDIMIENTO

5.1 Prepare tres patrones de fluoruro que contengan 0.5, 1.0 y 2.0 mg/l agregando por separado a frascos volumétricos de 100 ml 2.5, 5.0 y 10.0 ml de solución patrón de fluoruro (1.0 ml = 10.0 μg de F).

5.2 Transfiera con una pipeta 50 ml de solución amortiguadora a cada frasco, diluya hasta la marca de 100 ml con agua destilada, tape y mezcle bien.

5.3 Con una pipeta ponga 50 ml de la muestra en un frasco volumétrico de 100 ml, diluya hasta la marca con solución amortiguadora, tape y mezcle bien.

5.4 Lleve los patrones y la muestra a la misma temperatura, de preferencia la temperatura ambiente.

5.5 Transfiera cada patrón y la muestra a vasos individuales de 150 ml.

5.6 Si dispone de un medidor de lectura directa para ion selectivo, siga las instrucciones del fabricante para la operación y calibración del instrumento.

5.7 Si dispone de un medidor de pH, ajústelo para la medición en la escala expandida. Cuando corresponda, ajuste el control de calibración de algunos modelos de tal manera que el patrón de fluoruro de 1.0 mg/l dé lectura en el cero central (100 milivoltios).

5.8 Sumerja los electrodos de fluoruro y de calomel en cada vaso y active el agitador magnético a la velocidad

media. No comience el proceso de agitación antes de la inmersión de los electrodos, porque el aire atrapado en el fondo alrededor del sensor de cristal puede producir lecturas erróneas o fluctuaciones de la aguja.

5.9 Anote la primera medición cuando la lectura del instrumento se haga estable. Deje los electrodos en la solución, y después de 3 minutos haga una lectura final positiva en milivoltios. Algunos electrodos pueden necesitar 5 minutos o más para alcanzar una lectura estable con concentraciones de fluoruro por debajo de 0.5 mg/l. A niveles más altos de fluoruro la respuesta del electrodo es generalmente más rápida.

5.10 Enjuague los electrodos con agua destilada y séquelos bien después de cada muestra y patrón. Use una toalla de papel suave que no raye o malogre la superficie de vidrio de los electrodos.

5.11 Verifique con frecuencia la lectura del instrumento con el patrón de fluoruro de 1.0 mg/l y ajuste el control de calibración, si es necesario, para volver a la lectura previa. Confirme la lectura después de cada muestra desconocida y también después de cada patrón, cuando esté preparando la curva patrón.

5.12 Prepare una curva de calibración de fluoruro en un papel gráfico semilogarítmico de dos ciclos, graficando las lecturas en milivoltios sobre el eje de las ordenadas contra miligramos/l de fluoruro en el eje logarítmico de las abscisas. Para cada muestra convierta las lecturas de milivoltios a la concentración de fluoruro, haciendo referencia a la curva de calibración.

Método amperométrico para cloro residual

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

El método amperométrico no es afectado por el color y la turbiedad de la muestra, que pueden invalidar una determinación colorimétrica. La titulación está diseñada principalmente para laboratorios, más bien que para el uso en el campo, y requiere mayor habilidad y cuidado que los métodos colorimétricos. Es posible diferenciar entre cloro libre y combinado disponible mediante ajustes del pH y la presencia o ausencia de yoduro de potasio. El cloro libre puede ser determinado a un pH entre 6.5 y 7.5, mientras que el cloro combinado se titula en presencia de la cantidad adecuada de yoduro de potasio en el ámbito de pH de 3.5 a 4.5. El agregado intermedio de una pequeña cantidad de yoduro de potasio en el ámbito neutral de pH permite la estimación del contenido de monocloramina.

2. ADVERTENCIA

Volúmenes más pequeños de la muestra o diluciones son deseables para la medición del cloro residual en exceso de 2 mg/l. El control del pH es importante para obtener resultados correctos. Por encima de pH 7.5 la reacción con cloro libre se hace lenta, por debajo de 6.5 algo de cloro combinado puede reaccionar aun en ausencia de yoduro. A un pH inferior a 3.5 el manganeso oxidado reacciona con la solución tituladora, mientras que por encima de 4.5 la titulación para cloro no alcanza a completarse. El análisis debe realizarse inmediatamente después de recoger la muestra, y efectuarse lejos de la luz del sol y sin una agitación exagerada, para minimizar las pérdidas de cloro.

3. APARATOS

3.1 Titulador amperométrico:

La parte básica de un titulador amperométrico típico consiste de una celda de dos electrodos conectada a un microamperímetro y a un potenciómetro ajustable. Integrado al circuito eléctrico se tiene un electrodo de metal noble, un electrodo de referencia de plata-cloruro de plata en una solución saturada de cloruro de sodio, y un puente salino. Un agitador y una bureta completan las unidades de trabajo del instrumento.

3.2 Preparación del titulador amperométrico:

Para obtener mejores resultados, observe las siguientes prácticas de mantenimiento y buen orden en la preparación y operación del aparato.

a. Si es necesario, elimine cuidadosamente todos los depósitos y películas del electrodo de metal noble con la ayuda de un polvo abrasivo doméstico.

b. Si el puente salino se obstruye, o se presenta un flujo inadecuado de solución de sal, vacíe el material antiguo de la celda y replácelo con sal fresca.

c. Mantenga en todo momento un suministro adecuado de sal sólida en el electrodo de referencia.

d. Elimine los contaminantes consumidores de cloro del agitador y del sistema expuesto del electrodo sumergiéndolos durante varios minutos en agua que contenga 1 a 2 mg/l de cloro residual libre disponible, agregue luego yoduro de potasio a la misma agua y continúe la inmersión durante otros 5 minutos.

e. Enjuague cuidadosamente los electrodos sensibilizados y el agitador con agua libre de demanda de cloro o con la muestra que va a ser probada. Si la concentración de

cloro de las muestras se aproxima a 0.5 mg/l, condicione más el sistema de electrodos haciendo dos o más titulaciones al nivel de 0.5 mg/l hasta que las titulaciones puedan ser reproducidas.

3.3 Material de vidrio:

Satisfaga la demanda de cloro de todo el material de vidrio que se va a utilizar en el muestreo y la titulación de las muestras, sometiendo las superficies críticas a un agua que contenga 10 mg/l o más de cloro residual durante por lo menos tres horas y enjuagando luego con agua libre de demanda de cloro para remover las trazas de cloro residual.

4. REACTIVOS

4.1 Titulador de óxido de fenilarsina:

No se puede obtener polvo de óxido de fenilarsina suficientemente purificado que sea adecuado para la preparación directa de una solución patrón, mediante disolución de un peso determinado del sólido en un volumen dado. Esta situación deja dos opciones: (1) comprar el titulador patrón de fuentes comerciales o (2) preparar y estandarizar el titulador como se describe en la última edición de los Métodos Normalizados. *Manipule este veneno con extrema precaución y tenga especial cuidado de que no penetre en la boca.*

4.2 Solución amortiguadora de fosfato, pH 7:

a. En una balanza corriente pese separadamente 25.4 g de fosfato de potasio monobásico anhidro { KH_2PO_4 } y 34.1 g de fosfato de sodio dibásico { Na_2HPO_4 }. Transfiera los reactivos pesados a un vaso de 500 ml y disuélvalos en 300 ml de agua destilada.

b. Transfiera la solución a una botella de vidrio de un litro con tapón mediante tres porciones de 170 ml de agua destilada y mezcle cuidadosamente.

c. Con un gotero agregue 0.5 ml de solución de hipoclorito de sodio que contenga 5% de cloro disponible (blanqueador doméstico común). Tape y mezcle cuidadosamente.

d. Deje la botella tapada en un lugar oscuro y fresco, lejos de la luz del sol o el calor, durante varios días para que el cloro pueda reaccionar completamente con los contaminantes de amonio que están generalmente presentes en los compuestos de fosfato.

e. Elimine el cloro de la botella, de una de las dos maneras siguientes:

1. Coloque la botella a la luz del sol, dentro o fuera del local hasta que todo el cloro desaparezca como resultado de la actividad fotoquímica. (El tiempo requerido puede variar desde un día en verano hasta una semana en invierno).

2. Agregue una cantidad suficiente de una solución diluida de sulfito de sodio (Na_2SO_3) para reducir el contenido de cloro a una simple traza como se puede observar al obtener un color rosado muy débil con el reactivo DPD.

f. Transfiera el contenido de la botella a una probeta graduada de 1 litro y diluya con agua destilada hasta la

marca de 1 litro. Mezcle completamente vaciándolo nuevamente a la botella.

g. Filtre la solución si durante el reposo se ha formado cualquier precipitado.

4.3 Solución de yoduro de potasio:

a. Coloque 105 ml de agua destilada en un frasco de 250 ml y hierva durante 7 a 10 minutos. Tape el extremo del frasco con un pequeño vaso limpio invertido, y permita que el agua se enfríe a la temperatura ambiente. Para acelerar el enfriamiento coloque el frasco en un baño de agua fría corriente.

b. En una balanza ordinaria pese 5.0 g de yoduro de potasio (KI). Transfiera el reactivo pesado al agua destilada recién hervida y enfriada, y mezcle completamente.

c. Transfiera la solución a una botella con tapón de vidrio, de color café. Almacene en un lugar frío y oscuro, de preferencia en un refrigerador. Deseche la solución si se desarrolla un color amarillo.

4.4 Solución amortiguadora de acetato, pH 4:

a. Mida 400 ml de agua destilada en un vaso de 1500 ml.

b. Con una probeta graduada de 1000 ml con tapa, mida 480 ml de ácido acético concentrado (llamado también ácido acético glacial) y agréguelo a los 400 ml de agua destilada. Mezcle completamente.

c. En una balanza corriente pese 243 g de acetato de sodio trihidratado ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) y disuelva en la solución de ácido acético.

d. Transfiera la solución a la probeta graduada de 1 litro con tapa, diluya hasta la marca de 1 litro con agua destilada, tape y mezcle cuidadosamente.

5. PROCEDIMIENTO

5.1 Llene la bureta con el titulador de óxido de fenilarsina. Anote el nivel del líquido en la bureta leyendo en la parte inferior del menisco. Evite filtraciones en la válvula o tapón que pueden producir pérdida de solución durante el reposo.

5.2 Mida el volumen apropiado de muestra de acuerdo al ámbito indicado de cloro residual:

Ambito de cloro residual mg/l	Volumen de muestra ml
0—2.0	200
2.1—4.0	100
4.1—8.0	50

5.3 Si se sabe que el pH de la muestra está fuera del ámbito de 6.5 a 7.5, agregue 1 ml de solución amortiguadora de fosfato de pH 7. Ponga en acción el agitador.

5.4 Titule con la solución patrón de óxido de fenilarsina, observando el movimiento de la aguja en la escala del

microamperímetro. Al comienzo de la titulación se puede esperar que una concentración alta de cloro produzca una variación considerable de la aguja. Si la aguja se mueve hasta el final de la escala, vuélvala al centro mediante el adecuado ajuste del botón para una más fácil observación y una mayor sensibilidad. A medida que la actividad de la aguja disminuye, indicando que se está aproximando al punto final, agregue incrementos cada vez más pequeños del titulador. En esta etapa anote las lecturas de la bureta antes de cada adición del titulador. Considere como punto final la adición que detiene la deflexión de la aguja. Si es necesario, reste la adición final que se debe a una sobretitulación.

5.5 Lea el nivel de la bureta en la parte inferior del menisco y calcule el volumen utilizado de solución restando la lectura inicial de la bureta (párrafo 5.1) de la lectura actual.

5.6 Calcule el cloro libre disponible multiplicando el resultado encontrado en el párrafo 5.5 por el factor apropiado:

Volumen de la muestra ml	Multiplique los ml de solución por
200	1
100	2
50	4

5.7 Agregue exactamente 1 ml de solución de yoduro de potasio a la muestra. Si es necesario, vuelva a poner en acción el agitador.

5.8 Agregue a la muestra 1 ml de solución amortiguadora de acetato.

5.9 Repita el procedimiento de titulación descrito en el párrafo 5.4.

5.10 Lea el nuevo nivel de la bureta en la parte inferior del menisco y anote el volumen total de solución utilizado tanto en la titulación del cloro libre disponible (párrafo 5.4, si así se hizo) y la titulación de cloro total disponible (párrafo 5.9). Multiplique este total por el factor apropiado que se señala en el párrafo 5.6.

5.11 Reste el valor del párrafo 5.6 del valor en el párrafo 5.10 para obtener el cloro disponible combinado.

PRECAUCION: *Lave los electrodos, el agitador y el frasco de la muestra cuidadosamente para eliminar cualquier traza de yoduro del aparato antes de efectuar la nueva determinación de cloro libre disponible. Confirme que el yoduro ha sido removido por completo repitiendo la titulación posterior de cloro libre en duplicado y triplicado hasta que obtenga resultados aceptables.*

Turbiedad

1. PROPOSITO DE LA PRUEBA

Los turbidímetros basados en el principio nefelométrico mejoran la reproducibilidad y comparabilidad que pueden obtenerse entre diferentes laboratorios en la medición de turbiedades bajas.

Adicionalmente, las suspensiones de polímero de formazina proporcionan un patrón de turbiedad con propiedades más reproducibles de dispersión de la luz que los patrones de arcilla o de aguas naturales turbias utilizados normalmente para la estimación visual.

2. ADVERTENCIA

Las mismas precauciones para la manipulación se aplican al turbidímetro y al aparato fotométrico. Los tubos de muestras deben estar limpios tanto interna como externamente, y deben ser desechados cuando aparezcan con marcas o rayas. Las superficies a través de las cuales pasa el rayo de luz deben ser mantenidas libres de huellas dactilares y suciedad. Puede necesitarse una caja protectora para la manipulación adecuada de los tubos. Las muestras y los patrones deben ser mezclados cuidadosamente antes de

llenar los tubos, y debe permitirse que escapen las burbujas de aire antes de intentar hacer una lectura. Pequeñas burbujas de aire pueden aparecer como turbiedad y contribuir a una lectura falsa. Cuando se dispone de poco tiempo, la remoción de las pequeñas burbujas de gas puede ser acelerada conectando el frasco que contiene la muestra a un frasco similar que sirve como trampa, y luego a una fuente de vacío. Las burbujas de aire también pueden ser removidas colocando el tubo de muestra en un pequeño baño ultrasónico durante varios segundos; sin embargo, debe buscarse evidencia confirmatoria de que el procedimiento no afecta a la turbiedad en cada situación particular.

Un nefelómetro no registra como turbiedad el carbón activado y otras partículas no reflejantes, a diferencia del fotómetro de transmitancia que responde a esos mismos materiales a longitudes adecuadas de paso de luz.

3. TURBIDIMETRO

3.1 Principio del nefelómetro:

La nefelometría involucra la medición de la luz dispersada en una dirección específica, tal como a 90° del paso de

luz incidente. La medición se realiza haciendo pasar un fuerte rayo de luz a través de la muestra. Las partículas finas que constituyen la turbiedad dispersan una porción del rayo de luz. La luz dispersada a ángulos rectos (o a otro ángulo seleccionado) al rayo llega a un sensor y es convertida en un impulso eléctrico que activa al medidor. La intensidad de la luz que da sobre el sensor es proporcional a la turbiedad. Obviamente, una muestra libre de turbiedad no llevará luz a la fotocelda.

El equipo fotométrico opera en el principio de la transmitancia, permitiendo determinaciones de turbiedad por encima de 10 unidades de turbiedad. Un largo paso de luz aumenta la sensibilidad de la medición fotométrica a valores bajos. En la mayoría de los casos, para la estimación de turbiedades de bajo nivel los aparatos fotométricos han sido remplazados por turbidímetros más sensibles que se basan en el principio nefelométrico.

3.2 Diseño y aplicabilidad:

El detector fotoeléctrico en un fotómetro y espectrofotómetro se coloca en posición para recibir el rayo de luz directo, mientras que el sensor del nefelómetro está colocado hacia un lado. En ambos casos el sensor es una fotocelda o un tubo fotomultiplicador. Algunos turbidímetros están equipados con escalas de turbiedad precalibrada, otros pueden tener ajustes para convertir los valores de la escala directamente en unidades de turbiedad, mientras que el resto requiere de la preparación de una curva de calibración. Deben seguirse las instrucciones del fabricante para la operación del instrumento. Los turbidímetros funcionan frecuentemente sobre varios ámbitos de turbiedad, que se extienden desde 0.5 o menos hasta 1000. Dado que pueden producirse errores progresivos en muestras de turbiedad mayores que 40 unidades de turbiedad nefelométricas (UTN), las escalas más altas pueden proporcionar una guía para estimar la dilución necesaria para llevar las lecturas hasta el nivel de trabajo de 40 UTN. Se obtienen mejores resultados en muestras libres de material grueso de rápida sedimentación. Una práctica conveniente es verificar que el instrumento esté libre de variaciones en todos los ámbitos antes de poner completa fe en un patrón de dispersión sólido. Aunque el color disuelto no es registrado generalmente como turbiedad, un color intenso puede ocasionar resultados bajos.

3.3 Calibración:

Los turbidímetros se calibran contra una suspensión de polímero de formazina producido mezclando soluciones de hexametilentetramina y de sulfato de hidrazina. La suspensión de formazina se prepara fácilmente de acuerdo a las necesidades y produce tamaños y formas de partículas estables y reproducibles.

4. REACTIVOS

4.1 Agua libre de turbiedad:

Remueva las hilachas y residuos flotantes del agua destilada haciéndola pasar a través de un filtro de membrana que tenga un tamaño de poros no mayor que $0.1 \mu\text{m}$. Deseche los primeros 200 ml de filtrado antes de recolectar y guardar el resto en un frasco muy limpio. Si la filtración reduce la turbiedad, utilice el agua destilada filtrada para la preparación de patrones de turbiedad por debajo de 1.0. Si no se observan cambios, use el agua destilada.

4.2 Solución de sulfato de hidrazina:

a. En una balanza analítica pese 1.000 g de sulfato de hidrazina $\{(\text{NH}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4\}$. Transfiera el reactivo pesado a un vaso de 100 ml y disuelva en 50 ml de agua destilada.

b. Transfiera la solución a un frasco volumétrico de 100 ml con tres porciones de 15 ml de agua destilada, diluya hasta la marca de 100 ml con agua destilada, tape y mezcle cuidadosamente.

c. Prepare la solución mensualmente.

4.3 Solución de hexametilentetramina:

a. En una balanza analítica, pese 10.000 g de hexametilentetramina $\{(\text{CH}_2)_6\text{N}_4\}$. Transfiera el reactivo pesado a un vaso de 100 ml y disuelva en 50 ml de agua destilada.

b. Transfiera la solución a un frasco volumétrico de 100 ml con tres porciones de 15 ml de agua destilada, diluya hasta la marca de 100 ml con agua destilada, tape y mezcle cuidadosamente.

c. Prepare la solución mensualmente.

4.4 Suspensión de polímero de formazina de 400 UNT:

a. Con pipetas volumétricas, mida separadamente 5 ml de solución de sulfato de hidrazina, y 5 ml de solución de hexametilentetramina en un frasco volumétrico de 100 ml. No agregue agua adicional.

b. Mezcle el contenido del frasco volumétrico haciéndolo girar y déjelo reposar durante 24 horas a la temperatura ambiente ($25^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$).

c. Diluya el contenido del frasco volumétrico hasta la marca de 100 ml con agua destilada, tape y mezcle cuidadosamente.

d. Prepare la suspensión mensualmente.

4.5 Solución patrón de turbiedad de 40 unidades de turbiedad nefelométricas (UNT).

a. Con una pipeta volumétrica mida 10 ml de la suspensión bien mezclada de polímero de formazina, sección 4.4, en un frasco volumétrico de 100 ml.

b. Diluya con agua libre de turbiedad hasta la marca de 100 ml, tape y mezcle cuidadosamente.

c. Prepare la suspensión semanalmente.

4.6 Suspensión diluida de turbiedad de dos unidades de turbiedad nefelométricas (UNT).

a. Con una pipeta volumétrica, mida 5 ml de la suspensión patrón de turbiedad de 40 UNT (4.5), bien mezclada, en un frasco volumétrico de 100 ml.

b. Diluya con agua libre de turbiedad hasta la marca de 100 ml, tape y mezcle cuidadosamente.

c. Prepare la suspensión diariamente.

5. PREPARACION DE PATRONES DE TURBIEDAD PARA CALIBRACION TURBIDIMETRICA

5.1 Use la suspensión de 40 UNT (4.5) para la preparación de patrones de turbiedad entre 4 a 40 UNT y la suspensión de 2 UNT (4.6) para la preparación de patrones de turbiedad por debajo de 2 UNT. Prepare los siguientes patrones de turbiedad en tubos de Nessler o frascos volumétricos de 100 ml.

Patrón de turbiedad UNT	Volumen de suspensión necesario en ml		Volumen necesario de agua libre de turbiedad ml
	Suspensión de 2 UNT	Suspensión de 40 UNT	
0.05	2.5		97.5
0.1	5.0		95.0
0.5	25.0		75.0
1.0	50.0		50.0
1.5	75.0		25.0
2.0	100		0
4.0		10.0	90.0
6.0		15.0	85.0
10		25.0	75.0
20		50.0	50.0
30		75.0	25.0
40		100	0

5.2 Minimice el asentamiento de partículas midiendo tan rápidamente como sea posible volúmenes especificados de una suspensión bien mezclada, con pipetas de medición y/o buretas, en tubos de Nessler o frascos volumétricos de 100 ml.

5.3 Diluya con agua libre de turbiedad hasta la marca de 100 ml, tape y mezcle invirtiendo cada tubo cuatro veces.

5.4 Deje que desaparezcan las burbujas de aire antes de vaciar el patrón resultante en el tubo turbidimétrico para la lectura instrumental.

5.5 Use estos patrones para verificar la precisión de la escala de un instrumento calibrada en unidades de turbiedad nefelométricas basadas en la suspensión de polímero de formazina.

6. MEDICION DE MUESTRAS DE TURBIEDAD DE MENOS DE 40 UNT

6.1 Agite el frasco de la muestra para distribuir la turbiedad en forma homogénea.

6.2 Después que desaparezcan las burbujas de aire vacíe la muestra en el tubo del turbidímetro.

6.3 Lea la turbiedad directamente de la escala calibrada del instrumento o de la curva de calibración preparada.

6.4 Entibie una muestra muy fría hasta la temperatura ambiente para evitar la formación de condensación en las paredes del tubo turbidimétrico, y espere hasta que todas las burbujas de aire se hayan disipado mediante agitación y reposo alternados antes de medir la turbiedad de aguas muy claras.

7. MEDICION DE TURBIEDADES MAYORES QUE 40

7.1 Agite el frasco que contiene la muestra para mezclar bien la turbiedad.

7.2 Minimice el asentamiento de partículas midiendo tan rápidamente como le sea posible el volumen de muestra apropiado para el ámbito de turbiedad indicado:

Volumen de muestra ml	Ámbito de turbiedad UNT
100	0.05- 40
50	41 - 80
25	85 - 160
10	170 - 360
5	370 - 800
2	850 -2000

Coloque la muestra bien mezclada en un tubo Nessler de 100 ml.

7.3 Diluya hasta la marca de 100 ml con agua destilada. Mezcle invirtiendo el tubo cuatro veces.

7.4 Deje que desaparezcan las burbujas de aire antes de vaciar la suspensión en el tubo del turbidímetro. Lea la turbiedad directamente en la escala calibrada del instrumento, o en la curva de calibración preparada.

7.5 Calcule las unidades de turbiedad nefelométrica (UNT) de la muestra multiplicando por el factor apropiado el resultado encontrado en el párrafo 7.4.

Volumen de muestra ml	Multiplique la turbiedad UNT por
100	1
50	2
25	4
10	10
5	20
2	50

7.6 Si para la dilución se utilizan otros volúmenes de muestra, calcule las unidades de turbiedad nefelométrica mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Turbiedad en UNT} = \frac{\text{Turbiedad determinada en UNT de la muestra diluida} \times \text{Volumen final de dilución en mililitros}}{\text{Volumen en mililitros de la muestra usada para dilución}}$$

7.7 Anote los resultados hasta el 0.05 más próximo en el ámbito por debajo de 1.0; hasta el 0.1 más próximo en el ámbito de 1 a 10; hasta el número entero más próximo entre 10 y 40; hasta los 5 más próximos entre 40 y 100; hasta los 10 más próximos entre 100 y 400; hasta los 50 más próximos entre 400 y 1000; y hasta el 100 más próximo por encima de 1000. Dado que la turbiedad no es necesariamente lineal con la dilución, informe el factor de dilución y la lectura.

PUBLICACIONES CIENTIFICAS RECIENTES DE LA OPS

	Precio EUAS
No. 367 Procedimientos para la investigación de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. 1978 (En prensa.)	1.50
No. 366 The Armadillo as an Experimental Model in Biomedical Research. 1978 (In press.)	10.00
No. 365 Psychosocial Determinants of Fertility and Contraception in Venezuela, by S. B. Kar and R. González-Cerrutti. 1978 (157 pp.)	3.00
No. 364 Health Conditions in the Americas, 1973-1976. 1978 (335 pp.)	5.00
No. 364 Las condiciones de salud en las Américas, 1973-1976. 1978 (339 págs.)	5.00
No. 363 Informe del Comité del Programa de Libros de Texto de la OPS/OMS para la Enseñanza de Enfermería en Salud Mental y Psiquiatría. 1978 (16 págs.)	1.00
No. 362 Criterios de salud ambiental No. 1—Mercurio. 1978 (214 págs.)	5.00
No. 361 La salud del niño en los trópicos, 2ª ed. 1978 (214 págs.)	4.00
No. 360 Health Education. Addresses Presented at the IX International Conference on Health Education. 1978 (65 pp.)	1.50
No. 360 Educación para la salud. Discursos pronunciados en la IX Conferencia Internacional sobre Educación para la Salud. 1978 (73 págs.)	1.50
No. 359 Modern Medicine and Medical Anthropology in the United States-Mexico Border Population. 1978 (240 pp.)	10.00
No. 359 La medicina moderna y la antropología médica en la población fronteriza mexicano-estadounidense. 1978 (En prensa.)	10.00
No. 358 Control de enfermedades de los animales en las Américas, 1977. Documentos de la X Reunión Interamericana, a Nivel Ministerial, sobre el Control de la Fiebre Aftosa y Otras Zoonosis. 1978. (174 págs.)	5.00
No. 358 Animal Disease Control in the Americas, 1977. Proceedings of the X Inter-American Meeting, at the Ministerial Level, on Foot-and-Mouth Disease and Zoonoses Control. 1978 (178 pp.)	5.00
No. 357 Radiology and Primary Care, by P.E.S. Palmer. 1978 (60 pp.)	3.50
No. 357 La radiología y la atención médica primaria, por P.E.S. Palmer. 1978 (63 págs.)	3.50
No. 356 Proceedings, IV International Conference on the Mycoses—The Black and White Yeasts. 1978 (343 pp.)	10.00
No. 355 Ventures in World Health—The Memoirs of Fred Lowe Soper. J. Duffy, ed. 1977. (379 pp.)	10.00
No. 354 Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales, por P. N. Acha y B. Szyfres. 1977 (726 págs.)	15.00
No. 353 Clasificación Internacional de Enfermedades—Manual de la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades. Traumatismos y Causas de Defunción. Vol. I. Novena revisión. 1978. (871 págs.)	15.00
No. 352 Desnutrición, aprendizaje y comportamiento. 1977 (46 págs.)	1.00
No. 351 Publicaciones sobre nutrición recomendadas para la formación de personal de salud. 1977 (31 págs.)	1.50
No. 350 Enterotoxigenic <i>Clostridium perfringens</i> Type A in Selected Humans. I. A Prevalence Study, por M. J. Torres-Anjel, H. P. Riemann y C. C. Tsai. 1977 (35 pp.)	2.00
No. 349 Manual para la estandarización de registros de cáncer de hospital. 1977 (95 págs.)	2.50
No. 348 The Role of the Nurse in Primary Health Care. 1977 (20 pp.)	1.00
No. 348 El papel de la enfermera en la atención primaria de salud. 1977 (20 págs.)	1.00
No. 347 Chagas Disease: Proceedings of an International Symposium Held in Conjunction with the Fifth International Congress on Protozoology. 1977 (82 pp.)	3.50
No. 346 Métodos de control de la tuberculosis. 1977 (84 págs.)	3.00
No. 345 CIE-O Clasificación Internacional de Enfermedades para Oncología. 1977 (140 págs.)	8.00
No. 345 CID-O Classificação Internacional de Doenças para Oncologia. 1978. (126 págs.)	8.00
No. 344 IV Seminario Panamericano sobre el Control de la Lepra. 1977 (157 págs.)	2.50
No. 343 Investigaçao de Mortalidade na Infancia no Brasil—Descobertas e atividades. 1977 (111 págs.)	1.50
No. 342 Leprosy: Cultivation of the Etiologic Agent; Immunology; Animal Models. 1977 (82 pp.)	7.00
No. 341 Primera Reunión sobre Principios Básicos para el Desarrollo de la Educación Médica en la América Latina y el Caribe. 1977 (33 págs.)	1.00
No. 341 First Meeting on Basic Principles for the Development of Medical Education in Latin America and the Caribbean Area. 1977 (33 pp.)	1.00
No. 340 Formación académica de nutricionistas-dietistas en América Latina—Guía para el desarrollo de planes de estudio y programas de enseñanza. 1977 (124 págs.)	5.00
No. 339 Intercambios placentarios en la especie humana, por W. L. Benedetti y O. Althabe. 1977 (62 págs.)	2.50
No. 338 Estudio de la morfología de <i>Simulium metallicum</i> , vector de la oncocercosis en Venezuela, por J. Ramírez Pérez. 1977 (143 págs.)	4.00
No. 337 Encuesta sobre las características del hábito de fumar en América Latina. 1977 (165 págs.)	2.50
No. 336 Tratamiento y prevención de la deshidratación en las enfermedades diarreicas—Guía para el uso del personal de atención médica primaria. 1977 (23 págs.)	2.00
No. 336 Tratamento e prevenção da desidratação nas diarreias—Guia para uso ao Nível Primário. 1977. (24 págs.)	2.00
No. 335 Fluoruración de la sal. 1976 (90 págs.)	2.50
No. 334 Animal Health: Programs and Trends in the Americas, 1976. Proceedings of the IX Inter-American Meeting, at the Ministerial Level, on Foot-and-Mouth Disease and Zoonoses Control. 1976 (184 pp.)	4.00
No. 334 Salud animal: Programas y tendencias en las Américas. 1976. Documentos de la IX Reunión Interamericana, a Nivel Ministerial, sobre el Control de la Fiebre Aftosa y Otras Zoonosis. 1976 (196 págs.)	4.00
No. 333 Epidemiology and Nursing. 1976 (15 pp.)	1.00
No. 333 La epidemiología y la enfermería. 1976 (17 págs.)	1.00
No. 332 Comité del Programa de Libros de Texto de la OPS/OMS para la Enseñanza de Enfermería en Salud Comunitaria. 1976 (22 págs.)	1.00
No. 332 Report of the PAHO/WHO Committee on the Textbook Program for the Teaching of Community Health Nursing. 1976 (21 pp.)	1.00
No. 331 La sífilis: Criterios y técnicas para el diagnóstico precoz y planes de tratamiento. 1976 (18 págs.)	1.00
No. 330 Grupo de Estudio sobre Programas de Vacunación BCG en América Latina. 1976 (108 págs.)	3.00
No. 329 Riesgos del ambiente humano para la salud. 1976 (368 págs.)	10.00
No. 328 Discusiones Técnicas: Metodología para la formulación de políticas nacionales de alimentación y nutrición y su ejecución intersectorial. 1976 (62 págs.)	2.00
No. 327 Métodos didácticos para un aprendizaje eficaz—Guía breve para profesores de auxiliares de salud, por R. E. Wakeford. 1976 (65 págs.)	1.50

Se pueden enviar pedidos directamente a la Oficina Sanitaria Panamericana, 525 Twenty-Third Street, N.W., Washington, D.C. 20037, E.U.A. En Sudamérica, dirijase a: Biblioteca Regional de Medicina y Ciencias de la Salud, OPS, Rua Borucatu 862, São Paulo, S.P., Brasil.