

**VALIDACIÓN DE NITRÓGENO AMONICAL POR DESTILACIÓN COMO  
CONTINUIDAD A LA ESTANDARIZACIÓN DE LOS PARAMETROS  
EJECUTADOS EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA  
CORPORACION AUTONOMA REGIONAL DEL QUINDIO CRQ.**

**DIANA CAROLINA OSPINA VÁSQUEZ**

**UNIVERSIDAD DEL QUINDIO  
FACULTAD DE CIECIAS BÁSICAS Y TECNOLOGÍAS  
PROGRAMA DE QUÍMICA  
ARMENIA  
JUNIO DE 2007.**

**VALIDACIÓN DE NITRÓGENO AMONIACAL POR DESTILACIÓN COMO  
CONTINUIDAD A LA ESTANDARIZACIÓN DE LOS PARAMETROS  
EJECUTADOS EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA  
CORPORACION AUTONOMA REGIONAL DEL QUINDIO CRQ.**

**DIANA CAROLINA OSPINA VÁSQUEZ**

**Trabajo de grado para optar al título de Químico**

**Directora**

**ANDREA LUCIA MUÑOZ VALENCIA**

**Química**

**Especialista en Gestión Ambiental**

**Laboratorio de Aguas**

**Corporación Autónoma Regional del Quindío**

**UNIVERSIDAD DEL QUINDIO  
FACULTAD DE CIECIAS BÁSICAS Y TECNOLOGÍAS  
PROGRAMA DE QUÍMICA  
ARMENIA JUNIO DE 2007.**

---

Nota de aceptación

---

Ingeniero Químico JORGE LUIS TORO OSORIO

---

Magíster GONZALO HERNANDEZ

Armenia 20 de Junio de 2007

A mis Padres Mercedes y Julio Cesar por su dedicación apoyo continuo en toda mi carrera y en mi vida.

A mi hermanito Pablo Cesar que ha sido una gran compañía y un verdadero amigo.

A mi Familia por su apoyo en todas las actividades que he desarrollado en mi vida.

A Dios que es mi guía espiritual en todo lo que realizo

Diana Carolina

## CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	1
2	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
3	JUSTIFICACION	3
4	OBJETIVOS	4
4.1	Objetivos generales	4
4.2	Objetivos específicos	4
5	MARCOTEORICO	5
5.1	La validación	5
5.2	Importancia del agua	6
5.3	Calidad del agua	7
5.4	Nitrógeno en el agua residual	9
6	ACTIVIDADES DESARROLLADAS EN EL LABORATORIO	14
6.1	Monitoreo	14
6.2	Montaje de técnica amonio test Merck	37
6.3	Verificación del agua destilada	40
6.4	Calibración termométrica de los diferentes equipos Utilizados en el Laboratorio	42
7	PREVALIDACIÓN DE NITRÓGENO AMONICAL POR DESTILACIÓN	48
7.1	Fundamento del método	48
7.2	Selección del método	49
7.3	Almacenamiento de las muestras	50
7.4	Precauciones en la titulación	50
7.5	Metodología	50
7.6	Preparación del equipo	50
7.7	Análisis de blancos	52
7.8	Reactivos	52
7.9	Equipos y materiales	53
7.10	Calibración del material volumétrico	55
7.11	Condiciones iniciales de trabajo	59
7.12	Cálculos	60
7.13	Pasos de prevalidación	60
7.14	Análisis de blancos reactivos	61
7.15	Análisis de resultados	66
8	VALIDACIÓN DE NITRÓGENO AMONICAL POR DESTILACIÓN	68
8.1	Condiciones iniciales e trabajo	68
8.2	Resultados	70
8.3	Determinación de la incertidumbre	74
8.4	Elaboración de Cartas de control	77

9	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	81
9.1	Conclusiones	82
9.2	Recomendaciones	84
	BIBLIOGRAFIA	85
	ANEXOS	I
Anexo 1:	Formato para la inspección del sistema de agua destilada	II
Anexo 2:	Modelos de formatos de verificación	III
Anexo 3:	Modelo del formato de verificación y calibración de equipos	V
Anexo 4:	Metodología para la determinación del Nitrógeno amoniaco por destilación	VI
Anexo 5:	Estandarización de ácido sulfúrico 0.02 N con titulador automático	VII
Anexo 6:	Formato para elaborar cartas de control	VIII
Anexo 7:	Información de seguridad y toxicidad  de los reactivos involucrados en la técnica	X
Anexo 8:	Medición de los estándares a diferentes concentraciones.	XV
Anexo 9:	Cartas de control de los estándares del método nitrógeno amoniaco por destilación:	

## Lista de Figuras

Figura 1: Ciclo del Nitrógeno

Figura 2: Diagrama de flujo del uso del molinete o micro molinete

## Lista de Gráficos

Gráfico 1: Curva de calibración del nitrógeno amoniacal de 3-50 p.p.m

Gráfico 2: Curva de calibración del nitrógeno amoniacal de 60-100 p.p.m

Gráfico 3: Ensayo de nitrógeno amoniacal por destilación de 5 a 100 p.p.m

## Lista de Tablas

Tabla 1: Tipo de muestreo y planificación

Tabla 2: Determinación del tiempo de destilación

Tabla 3: Análisis de blancos sin acidificar

Tabla 4: Análisis de blancos acidificados

Tabla 5: Datos curva de calibración. Estándares de 3-5mg/l

Tabla 6: Estándares de 50 a 100 ppm

Tabla 7: Parámetros estadísticos sin rechazo de datos

Tabla 8: Parámetros estadísticos con rechazo de datos

Tabla 9: Ensayo de estándares a diferentes concentraciones de 5-100 p.p.m

Tabla 10: Ensayo de nitrógeno amoniacal por destilación de 5 a 100 p.p.m

Tabla 11: Ensayo de nitrógeno amoniacal por destilación de 5 a 200 p.p.m

Tabla 12: Ensayo de nitrógeno amoniacal por destilación de 5 a 200 p.p.m

Tabla 13: Ensayo de nitrógeno amoniacal por destilación de 5 a 100 p.p.m

Tabla 14: Ensayo de nitrógeno amoniacal por destilación de 5 a 100 p.p.m

Tabla 15: Ensayo de nitrógeno amoniacal por destilación de 5 a 50 p.p.m

Tabla 16: Ensayo de nitrógeno amoniacal por destilación de 60 a 100 p.p.m

Tabla 17: Parámetros estadísticos para construir la carta x del estándar de 3mg/L de N-NH<sub>3</sub>

Tabla 18: Carta de control X para N NH<sub>3</sub> Estándar 50 mg/L Año 2007

Tabla 19: Carta de control X para N NH<sub>3</sub> Estándar 100 mg/L Año 2007

## RESUMEN

En este trabajo se presenta el informe de la pasantía realizada en el Laboratorio de Aguas de la Corporación Autónoma Regional del Quindío - CRQ, durante seis meses.

La actividad objeto primordial de la pasantía fue la realización de **la Validación de Nitrógeno amoniacal por destilación** teniendo en cuenta los ensayos en la prevalidación como el rango de trabajo, el tiempo de destilación y el rango de trabajo en la validación.

En la validación de la técnica se obtuvieron 16 datos por cada muestra analizada, se hallaron las variables necesarias (promedio estadístico y desviación estándar). Se calculó la exactitud, la precisión y la incertidumbre del método.

Se demostró mediante los procedimientos estadísticos el límite de detección de método que se logró bajar de 5 a 3 partes por millón (ppm) demostrando así que el método es confiable y seguro.

La validación de las técnicas se realizó en condiciones óptimas y apropiadas abarcando cartas de control para este método además del tiempo útil de las muestras.

Con la validación de esta técnica en el laboratorio de aguas de la CRQ se amplían los métodos validados, se mejora la prestación del servicio a los usuarios, y se contribuye con el sistema de control de calidad existente. La importancia de validar la técnica de determinación de nitrógeno amoniacal por destilación otorga confianza a los resultados obtenidos en el laboratorio.

## 1 INTRODUCCION

La CORPORACION AUTONOMA REGIONAL DEL QUINDIO - CRQ - , fue creada como un establecimiento público descentralizado por el Congreso de la Republica, mediante la ley 66 de diciembre 31 de 1964. Su naturaleza jurídica fue modificada mediante la Ley 99 de 1993 artículo 28, como ente corporativo en ese año se reestructura la organización y se crean dos subdirecciones técnicas y una administrativa.

El laboratorio de aguas de la CRQ, fue creado en el año de 1977 con la infraestructura mínima para atender las necesidades de la Corporación en cuanto al control de la contaminación, las primeras actividades de monitoreo y análisis se realizaron en el río Quindío y la Quebrada Cristales, con el crecimiento de la demanda de servicios del laboratorio se fue dotando de los equipos, reactivos y materiales necesarios para prestar un servicio optimo de acuerdo a las necesidades del departamento, actualmente tiene su propia sede y presta sus servicios a la entidad y a clientes externos.

El laboratorio de aguas de la CRQ, fue creado en el año de 1977 con la infraestructura mínima para atender las necesidades de la Corporación en cuanto al control de la contaminación.

Las primeras actividades de monitoreo y análisis se realizaron en el río Quindío y la Quebrada Cristales, con el crecimiento de la demanda de servicios del laboratorio se fue dotando de los equipos, reactivos y materiales necesarios para prestar un servicio optimo de acuerdo a las necesidades del Departamento, actualmente tiene su propia sede y presta sus servicios a la entidad y a clientes externos.

El Laboratorio utiliza varias técnicas en el análisis de aguas residuales; una de ellas es la DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO AMONACAL. Esta técnica no se encontraba validada al inicio del desarrollo del presente trabajo. Aquí se presentan los resultados obtenidos en la validación de esta técnica.

## 2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Para el laboratorio de aguas de la CRQ, es importante **validar nitrógeno amoniacal** para obtener resultados confiables relacionados con las metodologías analíticas, junto con otros parámetros que permiten conseguir calidad otorgando confianza. El nitrógeno amoniacal es un parámetro importante a evaluar, porque debido a los procesos de nitrificación se puede detectar en que grado de contaminación están los recursos hídricos de interés.

La validación de las técnicas analíticas que se realizan es un proceso que se debe cumplir en un laboratorio de aguas, para cumplir con la reglamentación exigida por el Instituto de Hidrología, Meteorología y estudios ambientales IDEAM. y demostrar científicamente que el método es válido. Uno de esos métodos es la determinación de nitrógeno amoniacal por destilación. El nitrógeno amoniacal está presente en las aguas residuales domésticas e industriales como nitrógeno orgánico y nitrógeno amoniacal, lo que indica la presencia de materia orgánica, útil en el proceso de nitrificación para el desarrollo de plantas y animales.

Al validarse el nitrógeno amoniacal, se ha avanzado en la confiabilidad de los análisis ofrecidos por el Laboratorio de la CRQ

### 3 JUSTIFICACION

La importancia de validar la técnica de determinación de nitrógeno amoniacal por destilación otorga confianza a los resultados obtenidos en el laboratorio.

Con la validación de esta técnica en el laboratorio de aguas de la CRQ se amplían los métodos validados, se mejora la prestación del servicio a los usuarios, y se contribuye con sistema de control de calidad existente.

El laboratorio de la CRQ está acreditado; cumpliendo con lo dispuesto en el decreto 1600 de 1994. Además, cumple con todos los requerimientos establecidos en la norma ISO/IEC 17025 (Requerimientos generales para la competencia de análisis químicos ambientales y laboratorios de calibración).

El propósito principal de una validación analítica es garantizar que un procedimiento seleccionado es selectivo, de este modo se puede identificar las interferencias y controlarlas para entregar resultados reproducibles, repetibles, exactos y adecuados. Para esto se hizo necesario definir en forma apropiada las condiciones en las cuales el procedimiento debe ser usado.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivos Generales

- ❖ **Validar el método de nitrógeno amoniacal por destilación, para obtener en forma experimental y para condiciones particulares del laboratorio de aguas de la CRQ los valores de los parámetros que sirven como criterios de confianza al método.**
- ❖ Participar en las actividades propias del laboratorio de aguas de CRQ.

### 4.2 Objetivos Específicos

- ❖ Obtener para esta técnica los parámetros de exactitud, precisión, linealidad límite de detección, límite de cuantificación, porcentaje de recuperación y sensibilidad.
- ❖ Obtener información teórica y experimental en lo relacionado a interferencias, limitaciones y tiempo de vida útil de la muestra.
- ❖ Calibrar el material volumétrico utilizado en la técnica.
- ❖ Participar activamente en las diferentes actividades que se realizan en el laboratorio.
- ❖ Calcular la incertidumbre del método utilizado.

## 5 MARCO TEORICO

### 5.1 La Validación

Es la confirmación mediante examen y aporte de evidencia objetiva de que se cumplen los requisitos particulares para el uso específico previsto (ISO 8402, ISO 17025).

La validación debe ser tan exhaustiva como sea necesario para responder a las necesidades de la aplicación en cuestión. La validación puede incluir procedimientos para el muestreo, manejo y transporte de muestras.

En el laboratorio se debe validar:

- ❖ Métodos no estandarizados
- ❖ Métodos diseñados o desarrollados internamente
- ❖ Métodos estandarizados usados fuera del alcance propuesto
- ❖ Ampliaciones o modificaciones de métodos estandarizados

La validación incluye:

- ❖ La especificación de los requisitos
- ❖ La determinación de las características del método
- ❖ Una verificación de que se pueden cumplir los requisitos al usar el método
- ❖ Una declaración de su validez

En la técnica para determinar el funcionamiento del método se utilizó la calibración con el uso de normas y materiales de referencia

En la validación del método son relevantes las siguientes variables:

- ❖ La incertidumbre de los resultados
- ❖ El límite de detección
- ❖ La selectividad del método
- ❖ La linealidad
- ❖ El límite de repetibilidad y reproducibilidad

Parámetros de validación del método:

A continuación se nombran los parámetros que permitieron evaluar el rendimiento del método utilizado:

- ❖ Confirmación de identificación, selectividad y especificidad
- ❖ Límite de detección
- ❖ Límite de cuantificación
- ❖ Intervalo de trabajo e intervalo lineal
- ❖ Exactitud (y sesgo)
- ❖ Precisión
- ❖ Incertidumbre de medición
- ❖ Porcentaje de Recuperación

## **5.2 Importancia del agua:**

El agua es un componente imprescindible en la vida del planeta. Y respecto al hombre, se considera que es el alimento más importante. Tomando en cuenta que por definición, la calidad es la expresión de un conjunto de características de un bien o servicio para enfrentar la satisfacción de un usuario o consumidor.

Por contaminación de las aguas superficiales, se entiende la incorporación de elementos extraños (de naturaleza física, química o biológica), los cuales hacen inútil o riesgoso su uso (para beber, vida acuática, recreación, riego, en industria, energía, transporte).

Distintas actuaciones tienen que ver con la contaminación de las aguas superficiales.

- ❖ Industrias o centrales que utilizan el agua como refrigerante. El correspondiente vertido de agua a mayor temperatura.
- ❖ Industrias que vierten aguas residuales. También, provenientes de zonas urbanas.
- ❖ Dragado de ríos, lagos, estuarios, zonas costeras, en presas.
- ❖ Construcción de presas. Canalización de ríos.
- ❖ Erosión. Deforestación. Desarrollo agrícola con uso de agroquímicos. Lavado de envases y productos. Arrojo de envases vacíos. Arrojo de basura. Excrementos de animales.
- ❖ Cercanía a centros mineros. Vertido de residuos tóxicos y peligrosos por la explotación minera.
- ❖ Derrames o vertidos por la industria petrolera.
- ❖ Proyectos urbanos adyacentes a ríos, lagos, estuarios o áreas de costa. Uso como alcantarilla.

Además de los elementos contaminantes y la identificación de fuentes, hay que tomar en cuenta que la contaminación puede tener un foco específico, pero aparecer en distintos lugares, aguas abajo.

### **5.3 Calidad del agua**

La contaminación de las aguas por acción del hombre, comenzó a ser sensible al organizarse las ciudades. La preocupación inicial del hombre urbano era por su salud en relación con los residuos orgánicos, expresada con baños alejados del resto de las casas, en canales abiertos en las calles, y finalmente en drenajes. El sistema de drenajes que conducía el agua servida a letrinas, fue posteriormente reemplazado por vertidos hacia ríos importantes o hacia el mar. Esta situación se agravó por el desarrollo industrial y el uso de las masas de agua como depositarias de tales residuos. Recién a comienzos del siglo XX comenzó la preocupación por el tratamiento en pozas sépticas que ha ido evolucionando a sistemas más avanzados de depuración. Inicialmente, estos sistemas se preocupaban más por la separación de los elementos contaminantes, para ahora incluir en esa preocupación a la eliminación de los elementos residuales de la propia depuración.

La calidad del agua puede medirse a través de sus características físicas, químicas y biológicas. Cada una de ellas puede a su vez ser caracterizadas por distintos parámetros, conforme se indica:

## **Propiedades físicas**

- ❖ Color: Residuos domésticos e industriales, descomposición de materiales Orgánicos.
- ❖ Olor: Aguas residuales en descomposición, residuos industriales.
- ❖ Sólidos: Abastecimiento de agua, residuos domésticos e industriales, erosión de suelos, infiltración de aguas subterráneas, residuos mineros.
- ❖ Temperatura:
- ❖ Residuos domésticos e industriales y mineros. Centrales.

## **Componentes químicos**

### **Orgánicos**

- ❖ Carbohidratos: Residuos domésticos, actividades comerciales e industriales
- ❖ Grasas animales, aceites, grasas: Residuos domésticos, actividades Comerciales e industriales
- ❖ Pesticidas: Residuos agrícolas
- ❖ Fenoles: Residuos industriales
- ❖ Proteínas: Residuos domésticos, actividades comerciales e industriales
- ❖ Contaminantes principales: Residuos domésticos, actividades comerciales e industriales
- ❖ Detergentes: Residuos domésticos, actividades comerciales e industriales
- ❖ Compuestos orgánicos volátiles: Residuos domésticos, actividades comerciales e industriales
- ❖ Otros: Descomposición natural de materiales orgánicos.

### **Inorgánicos**

- ❖ Alcalinidad: Residuos domésticos, abastecimiento de agua, infiltración de aguas subterráneas.
- ❖ Cloruros: Residuos domésticos, abastecimiento de agua, infiltración de aguas subterráneas
- ❖ Metales pesados: Residuos industriales
- ❖ Nitrógeno: Residuos domésticos y agrícolas

- ❖ Acidez: Residuos domésticos, actividades comerciales e industriales
- ❖ Fósforo: Residuos domésticos, actividades comerciales e industriales
- ❖ Contaminantes principales: Residuos domésticos, actividades comerciales e industriales
- ❖ Azufre: Residuos domésticos, abastecimiento de agua, actividades comerciales e industriales.

### **Gases**

- ❖ Sulfuro de hidrógeno: Descomposición de residuos domésticos.
- ❖ Metano: Descomposición de residuos domésticos.
- ❖ Oxígeno: Abastecimiento de agua, actividades comerciales e industriales.

### **Constituyentes biológicos**

- ❖ Animales: Cursos de agua abiertos y plantas de tratamiento.
- ❖ Plantas: Cursos de agua abiertos y plantas de tratamiento
- ❖ Bacterias: Residuos domésticos, infiltración de aguas superficiales, plantas de tratamiento.
- ❖ Virus: Residuos domésticos.

## **5.4 Nitrógeno en el agua residual**

Las formas de nitrógeno de mayor interés en aguas residuales son por orden decreciente de su estado de oxidación de nitrato, nitrito, amoníaco y nitrógeno orgánico. Todas esas formas de nitrógeno lo mismo que nitrógeno gaseoso, son interconvertibles bioquímicamente y hacen parte del ciclo del nitrógeno.

El amoníaco se encuentra de forma natural en las aguas superficiales y residuales. Su concentración suele ser baja en aguas subterráneas debido a que es absorbido en las partículas y arcillas del suelo y no se extrae fácilmente por lixiviación. Se produce en gran parte por desaminación de los compuestos orgánicos nitrogenados y por hidrólisis de la urea. En algunas plantas se añade amoníaco para que reaccione con el cloro y forme cloro residual combinado.

En la cloración de los diluyentes de aguas residuales con contenido amoniacal, no se obtiene prácticamente cloro residual libre hasta que el amoníaco se ha oxidado. En cambio el cloro reacciona con amoníaco para

formar mono y dicloroaminas. Las concentraciones de amoniaco halladas varían de menos 10 microgramos de nitrógeno amoniacal por litro en algunas aguas naturales superficiales y profundas hasta más de 30 microgramos por litro en lagunas y aguas residuales.

La medida de los compuestos de nitrógeno es de gran interés por la importancia que tiene ese elemento en los procesos de desarrollo de todos los animales y las plantas. De todas sus formas las importantes en los procesos biológicos son:  $\text{NH}_3$ , N orgánico de proteína,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  etc. existiendo una relación entre las varias formas de los compuestos del nitrógeno y los cambios que pueden ocurrir en la naturaleza.

Se conoce que las aguas contaminadas se purifican por sí solas conforme pasa el tiempo, de tal manera que el peligro o riesgo de salud o la posibilidad de contraer enfermedad al beber las aguas contaminadas decrece marcadamente con el tiempo y la temperatura. En las aguas residuales domésticas y contaminadas el nitrógeno presente está bajo las formas de nitrógeno orgánico y amoniacal y a medida que pasa el tiempo el nitrógeno orgánico se va convirtiendo gradualmente en amoniacal. Este proceso de nitrificación depende de la temperatura, oxígeno disuelto, PH de esta manera las aguas que contienen nitrógeno orgánico y amoniacal indican que recientemente han sido contaminadas y son de gran peligro potencial.

### **Nitrógeno amoniacal**

El nitrógeno amoniacal incluye NITRÓGENO bajo las formas  $\text{NH}_3$  y  $\text{NH}_4$ , el amoniaco presente en aguas residuales se produce en su mayor parte por la eliminación de compuestos que contienen nitrógeno orgánico y por hidrólisis de la urea. También puede ser producido por la producción de nitratos bajo condiciones anaerobias.

Los dos factores principales que influyen en la selección del método para determinar el amoniaco son la concentración y la presencia de interferencias. En general, la determinación manual directa de concentraciones de amoniaco se limita a las aguas potables, aguas superficiales limpias y diluyentes residuales nitrificados de buena calidad. En otros casos y cuando existan interferencias y se necesite mayor precisión se requiere un paso preliminar de destilación. Para concentraciones elevadas de amoniaco es preferible una técnica de destilación y titulación.

El método volumétrico se utiliza solamente en muestras que hayan sido destiladas, en general, la determinación manual directa de bajas concentraciones de nitrógeno amoniacal está limitada a aguas potables, superficiales o subterráneas limpias y efluentes residuales nitrificados de buena calidad

## Ciclo Del Nitrógeno

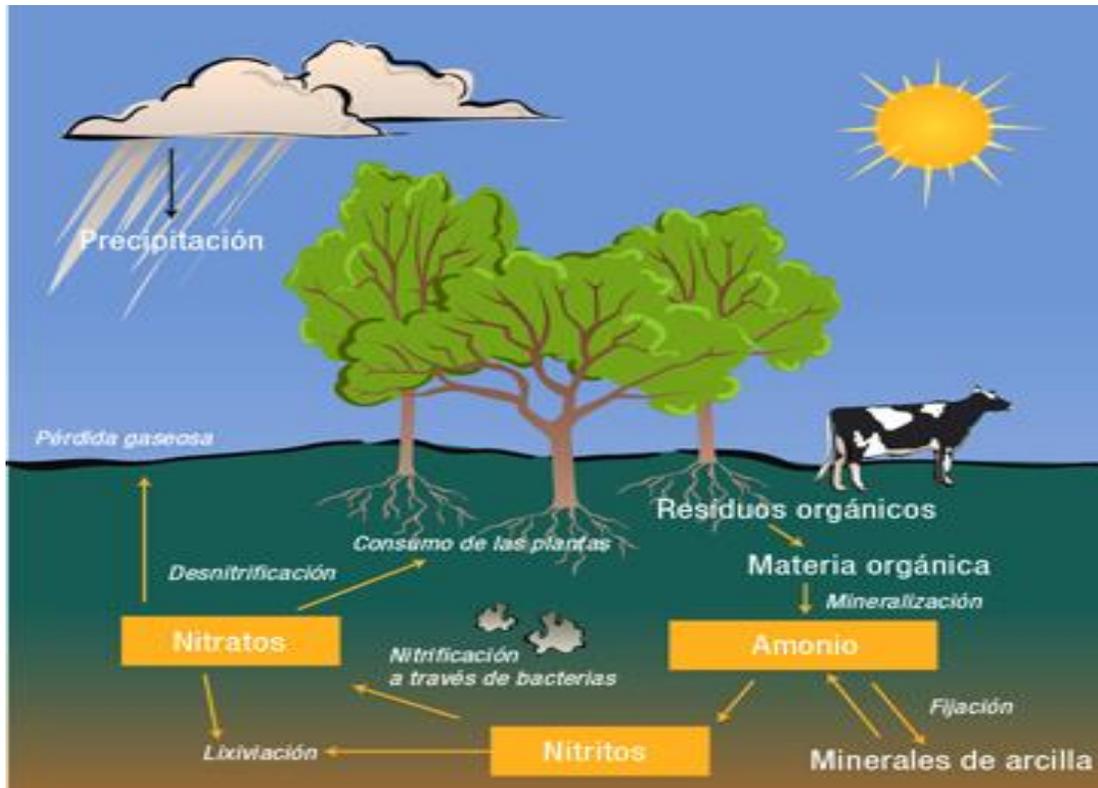


Figura 1: Ciclo del Nitrógeno

Los seres vivos cuentan con una proporción de nitrógeno en su composición. Éste se encuentra en el aire en grandes cantidades (78% en volumen) pero en esta forma sólo es accesible a un conjunto muy restringido de formas de vida, como las cianobacterias y las azotobacteriáceas. Los organismos fotoautótrofos (plantas o algas) requieren por lo general nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) como forma de ingresar su nitrógeno; los heterótrofos (p. ej. los animales) necesitan el nitrógeno ya reducido, en forma de radicales amino, que es como principalmente se presenta en la materia viva. Gracias a los múltiples procesos que conforman el ciclo, todos los tipos metabólicos de organismos ven satisfecha su necesidad de nitrógeno

Los organismos autótrofos requieren típicamente un suministro de nitrógeno en forma de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), mientras que los heterótrofos lo necesitan en forma de grupos amino ( $-\text{NH}_2$ ), y lo toman formando parte de la composición de distintas biomoléculas en sus alimentos. Los autótrofos reducen el nitrógeno oxidado que reciben como nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) a grupos amino, reducidos (asimilación). Para volver a contar con nitrato hace falta que los descomponedores lo extraigan de la biomasa dejándolo en la forma reducida

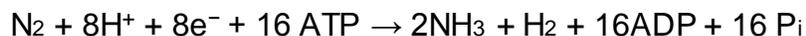
de ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), proceso que se llama amonificación; y que luego el amonio sea oxidado a nitrato, proceso llamado nitrificación.

Así parece que se cierra el ciclo biológico esencial. Pero el amonio y el nitrato son sustancias extremadamente solubles, que son arrastradas fácilmente por la escorrentía y la infiltración, lo que tiende a llevarlas al mar. Al final todo el nitrógeno atmosférico habría terminado, tras su conversión, disuelto en el mar. Los océanos serían ricos en nitrógeno, pero los continentes estarían prácticamente desprovistos de él, convertidos en desiertos biológicos, si no existieran otros dos procesos, mutuamente simétricos, en los que está implicado el nitrógeno atmosférico ( $\text{N}_2$ ). Se trata de la fijación de nitrógeno, que origina compuestos solubles a partir del  $\text{N}_2$ , y la desnitrificación, una forma de respiración anaerobia que devuelve  $\text{N}_2$  a la atmósfera. De esta manera se mantiene un importante depósito de nitrógeno en el aire (donde representa un 78% en volumen).

### **Fijación de nitrógeno**

La fijación de nitrógeno es la conversión del nitrógeno del aire ( $\text{N}_2$ ) a formas distintas susceptibles de incorporarse a la composición del suelo o de los seres vivos, como el ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) o los iones nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ); y también su conversión a sustancias atmosféricas químicamente activas, como el dióxido de nitrógeno ( $\text{NO}_2$ ), que reaccionan fácilmente para originar alguna de las anteriores.

- ❖ Fijación abiótica. La fijación natural puede ocurrir por procesos químicos espontáneos, como la oxidación que se produce por la acción de los rayos, que forma óxidos de nitrógeno a partir del nitrógeno atmosférico.
- ❖ Fijación biológica de nitrógeno. Es un fenómeno fundamental que depende de la habilidad metabólica de unos pocos organismos, llamados diazotrofos en relación a esta habilidad, para tomar  $\text{N}_2$  y reducirlo a nitrógeno orgánico:



La fijación biológica la realizan tres grupos de microorganismos diazotrofos:

- ❖ Bacterias gramnegativas de vida libre en el suelo, de géneros como Azotobacter, Klebsiella o el fotosintetizador Rhodospirillum, una bacteria purpúrea.
- ❖ Bacterias simbióticas de algunas plantas, en las que viven de manera generalmente endosimbiótica en nódulos, principalmente localizados en las raíces. Hay multitud de especies encuadradas en el género

Rhizobium, que guardan una relación muy específica con el hospedador, de manera que cada especie alberga la suya.

- ❖ Cianobacterias de vida libre o simbiótica. Las cianobacterias de vida libre son muy abundantes en el plancton marino y son los principales fijadores en el mar. Además hay casos de simbiosis, como el de la cianobacteria Anabaena en cavidades subestomáticas de helechos acuáticos del género Azolla, o el de algunas especies de Nostoc que crecen dentro de antoceros y otras plantas.

La fijación biológica depende del complejo enzimático de la nitrogenasa.

### **Amonificación**

La amonificación es la conversión a ion amonio del nitrógeno que en la materia viva aparece principalmente como grupos amino (-NH<sub>2</sub>) o imino (-NH-). Los animales, que no oxidan el hidrógeno, se deshacen del que tienen en exceso en forma de distintos compuestos. Los acuáticos producen directamente amoníaco (NH<sub>3</sub>), que en disolución se convierte en ion amonio. Los terrestres producen urea, (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO, que es muy soluble y se concentra fácilmente en la orina; o compuestos nitrogenados insolubles como la guanina y el ácido úrico, que son purinas, y ésta es la forma común en aves o en insectos y, en general, en animales que no disponen de un suministro garantizado de agua. El nitrógeno biológico que no llega ya como amonio al sustrato, la mayor parte en ecosistemas continentales, es convertido a esa forma por la acción de microorganismos descomponedores

## 6 ACTIVIDADES DESARROLLADAS EN EL LABORATORIO

En el periodo de vinculación a la CRQ como pasante, se tuvo la valiosa oportunidad de participar en actividades como las siguientes:

### 6.1 Monitoreo:

Es una de las principales actividades desarrolladas en el laboratorio. El laboratorio de aguas de la CRQ, para llevar a cabo las funciones misionales cuenta con un plan de monitoreo en el cual se incluyen los elementos básicos que se deben tener en cuenta para la realización de los programas de monitoreo de la calidad del agua y cubre los aspectos contemplados en el decreto 1594 de 1984 y el decreto 3100 de 2003, en lo que tiene que ver con las actividades de muestreo, análisis de muestras y programas de monitoreo de fuentes hídricas. Igualmente se describen cada una de las etapas del proceso de caracterización de las fuentes hídricas desde su planeación, ejecución y análisis, garantizando que las condiciones de la muestra se han representativas de la muestra original y que no ha sufrido ningún cambio en ninguna de las etapas.

Algunos conceptos básicos a tener en cuenta en actividades de monitoreo son

- ❖ Muestreo: se define como el procedimiento por el cual una parte de una sustancia, matriz, material o producto se toma con el fin de suministrar pruebas o calibraciones, una muestra representativa del total. El muestreo puede también ser requerido para que la sustancia, material, matriz o producto sea calibrado o probado de acuerdo a una especificación determinada. La toma de muestra es una etapa fundamental para garantizar la calidad de la información que genera el laboratorio de aguas, siendo el primer eslabón de la cadena de custodia, razón por la cual el procedimiento pretende dar los elementos suficientes para realizar esta actividad
- ❖ Vertimiento: Es cualquier descarga final al recurso hídrico, de un elemento, sustancia o compuesto que esté contenido en un líquido residual de cualquier origen, ya sea agrícola, minero, industrial, de servicios o aguas residuales.
- ❖ Aforo: Es la medición del caudal.

- ❖ Muestra compuesta: Es la integración de varias muestras puntuales de una misma fuente, tomadas a intervalos programados y por períodos determinados, las cuales pueden tener volúmenes iguales o ser proporcionales al caudal durante el período de muestras.
- ❖ Muestra puntual: Es la muestra tomada en un lugar representativo, en un determinado momento.
- ❖ Caudal promedio: corresponde al volumen de vertimientos por unidad de tiempo durante el periodo de muestreo
- ❖ Selección del sitio de muestreo: En el desarrollo de un programa de monitoreo se deben tener claros varios puntos: los sitios de monitoreo, que debe estar de acuerdo al objetivo; a continuación se describen algunos criterios a tener en cuenta cuando son vertimientos:
  - Vertimientos puntuales: corresponde a los de origen industrial, domestico o alcantarillado, realizados en un punto fijo directamente al recurso. En los cuerpos de agua la ubicación del sitio es el punto de descarga antes que caiga a la fuente hídrica.
  - Vertimientos industriales: el sitio de monitoreo es el punto de descarga, antes y después del sistema de tratamiento antes de caer a la fuente hídrica alcantarillado.
  - Aguas Superficiales: Se depende de la localización de los vertimientos principales, la confluencia con ríos, políticas relacionadas con el recurso hídrico, industrias, zonas urbanas, bocatomas, usos del agua o del suelo.
  - Aguas Subterráneas: La selección de los sitios de monitoreo de la calidad y cantidad de las aguas subterráneas beberá diseñarse a partir del modelo hidrogeológico y de los sistemas acuíferos presentes en las cuencas. Es importante destacar que las variaciones de los niveles y calidad de las aguas están íntimamente relacionadas con las variaciones climáticas que definen las diferentes épocas. Se den igualmente conocer la vulnerabilidad y las fuentes potenciales de contaminación de dichas aguas.
- ❖ Red de monitoreo de corrientes superficiales del laboratorio de aguas de la CRQ: Muestreo, se expresa en litros/segundo (lps). El monitoreo de las corrientes superficiales del departamento del Quindío se realizan teniendo en cuenta las unidades de manejo de cuencas, las corrientes receptoras de vertimientos urbanos y la red de monitoreo de aguas subterráneas El monitoreo de las corrientes superficiales se

realiza durante dos épocas de año: época seca en los meses de enero, febrero, julio y agosto y el la época húmeda en los meses de marzo, abril, mayo, junio, septiembre, octubre, noviembre y diciembre.

- ❖ Medición de caudal: Se denomina aforo al proceso mediante el cual se determina el volumen de agua que circula por una sección en la unidad de tiempo. El caudal normalmente se expresa en  $m^3/seg.$ , el lugar donde se practica el aforo se denomina estación de aforos. Una vez determinado el tipo de descarga o fuente hídrica, y la ubicación del sitio donde se realizará el aforo, se diseña el plan de aforo y muestreo. En las determinaciones de caudal se debe adoptar la forma mas practica dependiendo el tipo de descarga que se tenga, si se hace necesario adecuar el sitio de muestreo y los factores que se deben tener en cuenta en el momento de seleccionarlo son los siguientes:

- Tipo de fuente o vertimiento y accesibilidad
- Intervalo de medida, el cual debe cubrir los máximos y mínimos caudales previsto teóricamente.
- En los vertimientos el método seleccionado deberá producir la mínima perdida posible de muestra.
- Máxima sencillez en el manejo y lectura.
- Características del agua residual y su influencia en los equipos y el personal.
- Equipo de protección personal adecuado, principalmente en aquellos casos en donde puedan desprenderse gases, vapores o químicos peligrosos para los operarios.
- La medición de caudal se puede desarrollar por varios métodos diferentes y su selección depende del tipo de fuente superficial o vertimiento que se pretenda aforar, de las características del sitio, o las anteriormente descritas.

- ❖ Existen diferentes tipos de aforo dentro de los cuales se encuentran:

- Vadeo
- Volumétrico
- Canaleta parschall
- Flotación

- ❖ La magnitud del caudal depende de dos factores, el área de la sección transversal de la corriente (A), y de la velocidad promedio del agua (V), por la ecuación de continuidad se tiene que:

$$Q = A \times V \quad (1)$$

Donde:

Q: Caudal en  $m^3/seg.$

A: área de la sección transversal en m<sup>2</sup>  
 V: Velocidad promedio del agua en m/seg.

Todos los métodos de aforo se basan generalmente en la ecuación de continuidad, la selección del método esta en función de las necesidades técnicas y de la naturaleza de la corriente que se desea medir, cada método tiene sus alcances y limitaciones.

- ❖ Diagrama de flujo del uso del molinete o micro molinete (ver figura 1):  
 Para cada veleta y cada molinete existe una formula para calcular la velocidad de cada sección, al iniciar el monitoreo se debe anotar con cual equipo se esta trabajando si con el molinete o con el micromolinete y cual es la veleta que se esta utilizando, para poder realizar los cálculos de los aforos, se listan a continuación:

Formulas de los diferentes molinetes para liquidar aforos

Molinete Universal	Modelo No. 56617	
Para rotor	No. 1- 57079	
Cuando NR/ seg. < <del>0.58</del>		$V = 0.2454(N) + 0.14$
Cuando NR/ seg. > <del>0.58</del>		$V = 0.2610(N) + 0.005$
Para rotor	No. 2- 56857	
Cuando NR/ seg. < <del>0.36</del>		$V = 0.4915(N) + 0.11$
Cuando NR/ seg. > <del>0.36</del>		$V = 0.5190(N) + 0.001$
Molinete Universal	Modelo No. 10990	
Para rotor	No. 3- 110788	
Cuando NR/ seg. < <del>0.72</del>		$V = 0.2282(N) + 0.024$
Cuando NR/ seg. > <del>0.72</del>		$V = 0.2517(N) + 0.007$
Para rotor	No. 4- 109113	
Cuando NR/ seg. < <del>0.29</del>		$V = 0.4049(N) + 0.39$
Cuando NR/ seg. > <del>0.29</del>		$V = 0.4931(N) + 0.013$
Cuando NR/ seg. < <del>0.85</del>		$V = 0.4931(N) + 0.013$
Cuando NR/ seg. > <del>0.85</del>		$V = 0.5073(N) + 0.001$

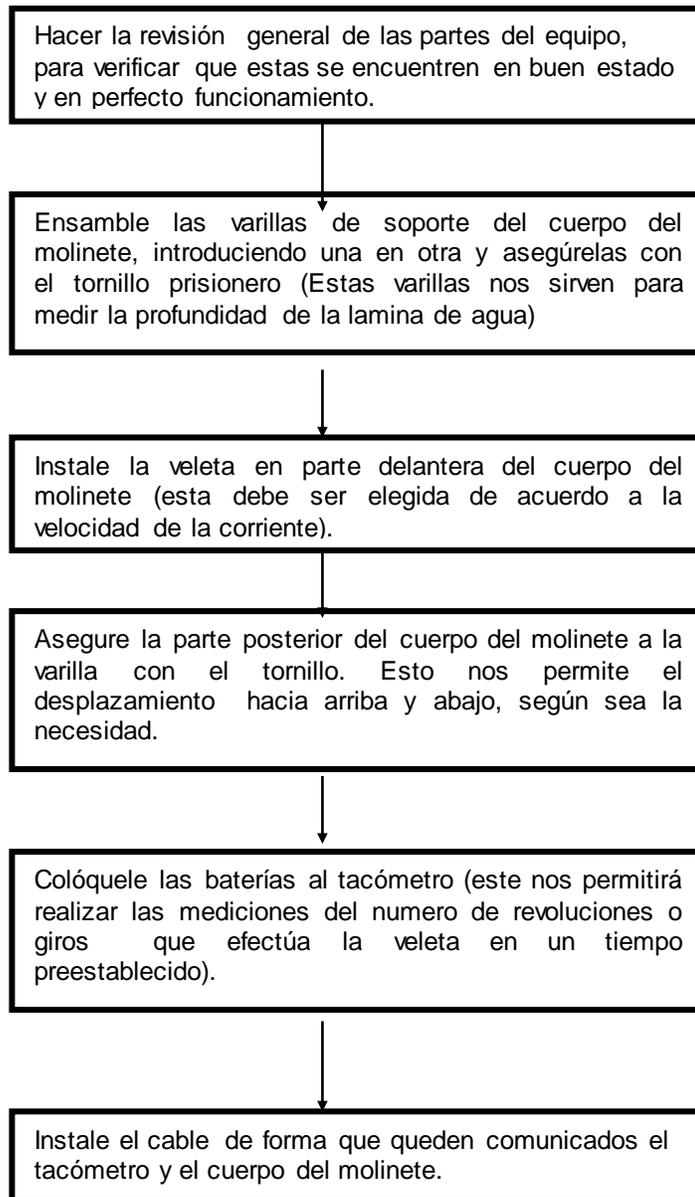


figura 2: Diagrama de flujo del uso del molinete o micro molinete

Molinete Universal      Modelo No. C2 - 10150  
 Para rotor                No. 1- 78867  
 Cuando NR/ seg. < 2.00       $V = 0.0615(N) + 0.20$   
 Cuando NR/ seg. > 2.00       $V = 0.0575(N) + 0.28$

Para rotor                No. 2- 80658

Cuando NR/ seg.  $< \underline{3.10}$   $V = 0.1044(N) + 0.13$   
Cuando NR/ seg.  $> \underline{3.10}$   $V = 0.1015(N) + 0.22$

Para rotor No. 3- 80029  
Cuando NR/ seg.  $< \underline{0.71}$   $V = 0.2338(N) + 0.020$   
Cuando NR/ seg.  $> \underline{0.71}$   $V = 0.2520(N) + 0.007$

A Continuación se describe el procedimiento para realizar el aforo con micro molinete y molinete y el registro de resultados en el formato de aforo (ver anexo Registro de control para aforo realizado con molinete):

- Seleccionar el tipo de molinete a utilizar: Micromolinete para fuentes pequeñas o molinete para fuentes grandes.
- Determinar la longitud del ancho de la fuente o perímetro húmedo, dividir este valor entre 10 y 15 secciones, registrar en la casilla Abscisa M. Dichos valores.
- Medir la profundidad de la vertical. De acuerdo a este valor se establecerá la cantidad de puntos donde se efectuara la medición de las revoluciones, de acuerdo a los siguientes parámetros:

#### **Para Molinete**

- Cuando la profundidad es menor que 15 cm., se toma un solo punto para medir las revoluciones. Este punto se estima multiplicando la profundidad por 0.2
- Cuando la profundidad es mayor que 15 cm. se toma un punto para medir las revoluciones. Este punto se estima multiplicando la profundidad por 0.40.

#### **Para Micro molinete**

- Cuando la profundidad es menor de 10 cm., se toma un solo punto para medir las revoluciones, este punto se calcula multiplicando la profundidad por 0.2 cm.
- Cuando la profundidad es mayor de 10 cm., se toma un punto para medir las revoluciones, este punto se calcula multiplicando la profundidad por 0.4 cm.

Es importante tomar en cuenta que al inicio del perímetro húmedo o punto cero, solo se toma la profundidad y no se hace medida de revoluciones, al igual que al final del perímetro. Todos los valores resultantes del cálculo de la profundidad se consigna en la casilla Prof. M. (profundidad medida).

- Las revoluciones obtenidas en cada punto de la vertical se debe registrar en la casilla Revolución No. de la hoja de aforos ver al final anexo.
  - El valor de cada una de las revoluciones obtenidas se divide por 50 segundos que es el tiempo base para aforar, obteniéndose el numero de revoluciones por segundo, valores que se consignan en la casilla del formato NR/seg.
  - Para obtener la velocidad (m/seg.) en el punto se aplica la formula correspondiente a cada modelo de molinete y numero de rotor utilizado para hacer el aforo (ver formulas para liquidar aforos con molinetes), estos valores se consignan en la casilla respectiva del formato de aforo.
  - Para molinetes: cuando las profundidades medidas son menores a 15 cm., entonces se multiplica por 0,850 cada uno de los valores de la velocidad media en la vertical.
  - Es importante especificar el ancho de cada sección sobre la que se ha realizado la medida, este valor se consigna en la casilla ancho en metros, en el formato de aforo.
  - Determinar el área de la sección multiplicando el valor del ancho en metros por la profundidad en metros, este valor se consigna en la casilla área en m<sup>2</sup>, en el formato de aforo.
  - Teniendo el valor del área m<sup>2</sup>, se multiplica por la velocidad media en la sección y se obtiene la descarga parcial en m<sup>3</sup>/seg.
  - Para obtener la descarga total en m<sup>3</sup>/seg. Se suman todos los valores de las descargas parciales.
- ❖ El método de aforo mecánico es también muy utilizado en la recolección de muestras integradas con el que se determinan volúmenes de submuestras obtenidas a diferentes tiempos que integran la muestra final (Ver Anexo Registro de control de aforo volumétrico).
- ❖ Aforo volumétrico: Este método se aplica cuando la corriente o vertimiento presenta una caída de agua en la cual se pueda interponer un recipiente, se requiere un cronómetro y un recipiente aforado (balde de 10 litros o más), con graduaciones de un litro. El recipiente debe ser colocado bajo la corriente o vertimiento de tal manera que reciba todo el flujo, simultáneamente se activa el cronómetro, este proceso inicia en el instante en el que el recipiente se introduce a la corriente o vertimiento y se detiene en el momento en que se retira de ella.

El procedimiento a seguir es tomar un volumen de muestra cualquiera y medir el tiempo transcurrido desde que se introduce la descarga en el recipiente hasta que se retira de ella; la relación de estos dos valores permite conocer el caudal en ese instante de tiempo. Se debe tener especial cuidado en la toma de la muestra y la medición del tiempo, ya que es un proceso simultáneo donde el tiempo empieza a tomarse en el preciso instante que el recipiente se introduce a la descarga y se detiene el momento en que se retira de ella.

Siendo  $Q$  = caudal L/seg.,  $V$  = en L y  $t$  = tiempo en segundos, el caudal se calcula:

$$Q = V / t \quad (2)$$

Este método tiene la ventaja del más sencillo y confiable, siempre y cuando el lugar donde se realice el aforo garantice que al recipiente llegue todo el volumen de agua que sale por la corriente o vertimiento; se debe evitar la pérdida de muestra en el momento de aforar, así como represamientos que permitan la acumulación de sólidos y grasas.

El método volumétrico es muy utilizado en la recolección de muestras integradas con el que se determinan volúmenes de submuestras obtenidas a diferentes tiempos que integrarán la muestra final. Para llevar a cabo un muestreo integrado a partir del método volumétrico realizar el siguiente procedimiento (ver anexo Registro de control de aforo volumétrico):

- Determinar La frecuencia y duración del muestreo. Factor que depende en gran parte de las características del desecho, del caudal y de la jornada de trabajo de operación (En caso de realizarse sobre fuentes de aguas residuales domesticas o industriales).
- Se debe de contar con un número adecuado de galones plásticos en los que se recolectara las muestras parciales a cada intervalo de tiempo.
- Determinar el caudal (l/ seg.) de cada intervalo de tiempo con la formula :  $Q = V / t$
- Determinar el caudal total al final del periodo de muestro, sumando los caudales parciales.
- Hallar el % de cada uno de los caudales ( $Q$ ) parciales, tomando como base el caudal total ( $Q_t$ ) = 100 %

- Hallar el volumen a tomar de cada una de las muestras parciales, para integrar la muestra final que corresponderá al volumen del galón (4 Lt) ejemplo :

Volumen Total Galón	% Volumen Total del Galón
4 Lt	100 %
Volumen a integrar	%Volumen Caudal parcial
X	Q %

Otra forma de calcular las alícuotas de la muestra es aplicando la siguiente formula:

$$X = (\text{volumen a integrar} / \text{sumatoria de los caudales parciales})$$

Se obtiene un valor X, el cual multiplicamos por cada caudal parcial y de este modo obtenemos la alícuota.

Ejemplo: volumen a integrar es 5 litros o 5000 mililitros, la sumatoria de los caudales fue 19 lps, entonces:

$$X = (5000 \text{ ml} / 19 \text{ lps}) = 263.16$$

263,16 es la constante que multiplicamos por cada uno de los caudales parciales y de este modo obtenemos la alícuota en mililitros.

Tomar de la muestra integrada las diferentes porciones para las botellas que contendrán las muestras preservadas o de análisis específicos. Es importante precisar al inicio del muestreo, el volumen total de muestra integrada que se deberá coleccionar, tomando en cuenta los volúmenes que se deberá extraer de ella para las diferentes submuestras.

- ❖ Canaleta parshall: Este medidor es una especie de tubo ventura abierto, el cual dispone de una garganta que produce una elevación de nivel en función del caudal. Esta formado por una sección de entrada de paredes verticales convergentes y fondo a nivel, una garganta o estrechamiento de paredes paralelas y fondo descendiente y una sección de salida con paredes divergentes y fondo ascendente. Las canaletas parshall se definen por el ancho de la garganta; para

determinación del caudal se precisa de la medición de la altura del líquido, esta se puede realizar de forma instantánea con solo una medición de altura.

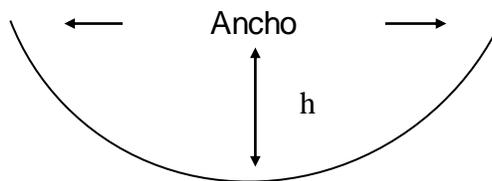
En la tabla siguiente se presentan algunas condiciones y restricciones para la utilización de los diferentes métodos de medición de caudal.

- ❖ Flotación o velocidad superficial: el cual se realiza determinando el área y tomando la velocidad de un trayecto uniforme en el recorrido del agua y se toma un punto A y un punto B, localizado en uno del otro a una distancia X.



En el punto A y en el punto B se mide el ancho y las alturas de la lámina de agua.

h = altura



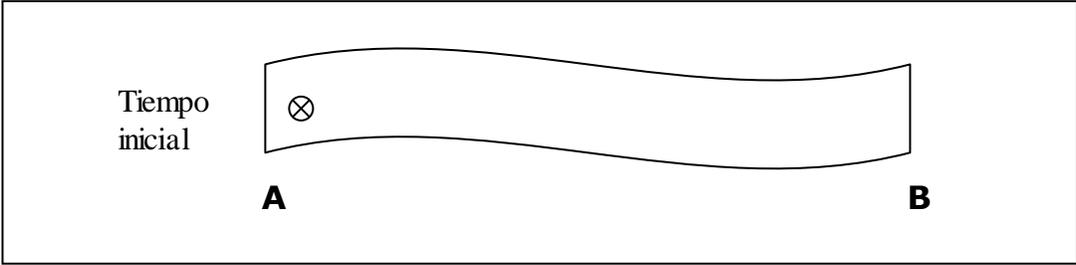
**Punto A o B**

Como se puede observar en el esquema anterior, resultan como áreas varias figuras geométricas entre las cuales están los triángulos y trapecios cuyas formulas son:

$$\text{Triangulo} = (\text{Base} \times \text{Altura}) / 2$$

$$\text{Trapecio} = ((\text{Base mayor} + \text{Base menor}) \times \text{Altura}) / 2$$

Se realiza una sumatoria de áreas del punto A y una sumatoria de áreas del punto B, se divide por los dos y se multiplica por la distancia X, lo cual genera el volumen del tramo. Seguido mediante un flotador (corcho, pelota, etc.) se registra el tiempo que tarda el objeto en trasladarse desde el punto A hasta B. Este procedimiento se realiza mínimo tres veces a diferentes distancias del ancho seleccionado como punto A.



❖ Tipo de muestreo y planificación

Método de aforo	Equipo o dispositivo	Condiciones	Restricciones	Aplicación
Área/ velocidad	Molinete	La corriente puede ser profunda o no profunda	<ul style="list-style-type: none"> <li>• El molinete requiere calibración el laboratorio</li> <li>• Se requiere de una tabla gráfico o ecuación y se podrá usar exclusivamente para el molinete calibrado.</li> </ul>	En canales a cielo abierto e incluso cubiertos, pero no presurizados. Es necesario conocer la sección transversal de la corriente por donde fluye el agua.
Volumen/ Tiempo	Recipiente de volumen conocido y cronometro	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Corriente con caída libre</li> <li>• Caudales pequeños y de poca velocidad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Errores con chorros violentos</li> <li>• Requiere calibración del recipiente utilizado</li> </ul>	Descargas libres
Área/ Velocidad	Flotador	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Velocidad de corriente que conducen gastos pequeños como 100 lps.</li> <li>• Tramo del cauce en estudio lo mas recto posible, alejado de curvas y que el agua corra libremente.</li> <li>• Sección transversal lo mas regular posible.</li> <li>• Profundidad suficiente para que el flotador no toque el fondo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hay que tomar en cuenta los coeficientes debidos a la variación del viento.</li> <li>• El flotador debe adquirir una velocidad cercana a la velocidad superficial del agua.</li> <li>• En corrientes turbulentas no se obtienen buenos resultados.</li> <li>• El flotador no debe ser muy ligero ni muy pesado.</li> </ul>	Canales a cielo abierto, carentes de estructuras de aforo (vertederos) y cuando no sea posible instalar algún otro dispositivo.

Tabla 1: Tipo de muestreo y planificación

Antes de iniciar el muestreo es importante tener claramente definido la forma como serán tomadas las muestras, el personal con que se cuenta, la capacitación del personal, el transporte, la disponibilidad del laboratorio para los análisis, para lo cual se debe diligenciar el formato plan de monitoreo FPMT 0106, anexo al presente documento.

- Existen muestreos manuales y automáticos:
  - Muestreo Manual: el muestreo manual se realiza cuando se tienen sitios de fácil acceso o aquellos que por medio de ciertas adaptaciones puedan facilitar la toma de muestras. La ventaja de éste tipo de muestreo es permitir al encargado de tomar la muestra, observar los cambios en las características del agua en cuanto a sustancias flotantes, color, olor, aumento o disminución de caudales, etc.
  - Muestreo Automático: el muestreo automático es aconsejable cuando los sitios son de difícil acceso o cuando se justifica y se tiene la facilidad de contar con un muestreador automático. Tiene como ventaja más precisión en la toma de muestras y como desventaja la complejidad de su montaje y su calibración, además que requieren revisiones continuas para evitar atascamientos u otras fallas.

En el laboratorio de aguas de la CRQ se está utilizando únicamente el muestreo manual, porque la mayoría de los puntos de monitoreo son de fácil acceso y fáciles de tomar las muestras, al igual por la cercanía de los puntos de monitoreo por lo pequeño del departamento.

- ❖ Tipo de muestras y frecuencia de muestreo Existen tres tipos de muestras: Puntuales, compuestas e integradas.
  - Muestra puntual o simple: Cuando la composición de una fuente es relativamente constante a través de un tiempo prolongado o a lo largo de distancias sustanciales en todas las direcciones, puede decirse que la muestra representa un intervalo de tiempo o un volumen más extenso. En tales circunstancias, un cuerpo de agua puede estar adecuadamente representado por muestras simples, como en el caso de acueductos, aguas superficiales y muy pocas veces aguas residuales. Cuando se sabe que un cuerpo de agua varía con el tiempo, las muestras simples tomadas a intervalos de tiempo.
  - Muestras Compuestas: En la mayoría de los casos este término se refiere a una combinación de muestras sencillas o puntuales tomadas en el mismo sitio durante diferentes tiempos. Tomar porciones individuales del cuerpo de agua en estudio medias en botellas de boca ancha (en algunos casos cada media hora, 15

minutos o incluso cada 5 min.) y mezclarlas al final del periodo de muestreo, si las muestras van a ser preservadas, agregar previamente las respectivas sustancias a la botella, de tal manera que todas las porciones de la composición sean preservadas tan pronto como se recolectan. Es deseable y a menudo esencial, combinar las muestras individuales en volúmenes proporcionales al caudal. Para el análisis de aguas residuales y efluentes, por lo general es suficiente un volumen final de muestra de 2 a 4L.

- Muestras Integradas: Para ciertos propósitos, es mejor analizar mezclas de muestras puntuales tomadas simultáneamente en diferentes puntos, o lo más cercano posible. Un ejemplo de la necesidad del muestreo integrado ocurre en ríos o corrientes que varían en composición a lo ancho y profundo del cauce. Para evaluar la composición promedio o la carga total, se usa una mezcla de muestras que representan varios puntos de la sección transversal, en proporción a sus flujos relativos. La necesidad de muestras integradas puede dar información más útil. La preparación de muestras integradas requiere generalmente de equipos diseñados para tomar muestras de una profundidad determinada, sin que se contaminen con la columna de agua superior. La toma de muestras integradas es un proceso complicado y especializado que se debe describir adecuadamente en el plan de muestreo.

La frecuencia de muestreo va a depender del tipo de cuerpo de agua que se pretenda monitorear así como de los objetivos que se persigan.

Para el cobro de tasas retributivas se recomienda realizar un muestreo compuesto que permita conocer las características y cambios del cuerpo de agua durante un tiempo determinado.

Para el caso de aguas residuales industriales, la duración del muestreo dependerá del horario de funcionamiento de las actividades que realice la unidad productiva, por lo que se podrá tomar muestras compuestas para esta clase de vertimientos de 2, 4, 6, 8, 16 o 24 horas.

Para el monitoreo de una fuente hídrica, se debe tener claro el comportamiento del mismo a través del tiempo en diferentes puntos previamente seleccionados. Se recomienda tomar muestras mínimo dos a cuatro veces al año, de acuerdo a las épocas de verano e invierno.

- ❖ Control y vigilancia del muestreo: El Proceso de control y vigilancia del muestreo, preservación y análisis es esencial para asegurar la integridad de la muestra desde su recolección hasta el reporte de los resultados. Este proceso es básico e imprescindible para asegurar la cadena custodia de las muestras en todo su recorrido. Los siguientes procedimientos resumen los principales aspectos del control y vigilancia de las muestras:
  - Solicitud de análisis: Este formato debe ser diligenciado por usuarios externos e internos. El formato de solicitud contiene los parámetros solicitados, tipo de muestreo, origen de la muestra y fecha de realización del monitoreo, responsable del muestreo, información del solicitante, parámetros solicitados, condiciones de pago, anticipos, forma de pago, fecha de entrega del reporte, observaciones (discusiones importantes con el cliente), la política de juez y parte y las firmas de aprobación del solicitante y de la persona encargada de diligenciar el formato de solicitud en el laboratorio. En caso de que el muestro sea realizado directamente por el usuario, el laboratorio debe suministrar con antelación las instrucciones escritas para la toma de muestra y verificar que queden comprendidas, así como proporcionar al cliente el material (recipientes de plástico o vidrio según sea el caso) y reactivos de preservación necesarios para la recolección de las diferentes muestras (Ver Procedimiento para utilizar los servicios de laboratorio. PSLA 0306). Es importante aclarar que el material de muestreo será entregado por el personal de laboratorio a los usuarios externos, cuando se verifique el pago de el 50% del valor total del servicio de análisis que prestara el laboratorio al usuario y la fijará la fecha de la recepción de muestras.
  - Rótulos: Son los utilizados para identificar las muestras, este rotulo debe ir adherido a los recipientes que contienen las muestras, los rótulos se diligencia en el laboratorio antes del monitoreo, se hará con tinta a prueba de agua y debe contener la siguiente información: código de la muestra, fecha, análisis, punto de monitoreo, lugar de recolección de la muestra, preservación requerida, tipo de muestra. (ver anexo rótulos). En el caso de tratarse de muestras especiales que requieren confidencialidad de estos rótulos serán diligenciados por el Coordinador quien se encargara de codificarlas.
  - Códigos de identificación: Son códigos que identifican las muestras, serán asignados por el responsable de dicha actividad, siguiendo los siguientes requisitos: Los códigos serán asignados de acuerdo con el objetivo del análisis.

OBJETIVO	CODIGO
Consumo Humano domestico	CHD
Monitoreo Control Contaminación	MCC
Convenios	CO

El primer digito corresponde a un número consecutivo, empezando en 01 hasta 999. El segundo digito corresponde al año, ejemplo para el año 2006 es 06.

Ejemplo: si esta programada una muestra de consumo humano domestico, el código seria CHD 0106.

Consumo humano y domestico (año 2006) Ejemplo

CODIGO	NOMBRE DE LA FUENTE	FECHA
CHD0106		
CHD0206		
CHD0306		

Monitoreo control contaminación año (2006) Ejemplo

CODIGO	NOMBRE DE LA FUENTE	FECHA
MCC 0106		
MCC0206		
MCC0306		
MCC0406		

Convenios con instituciones (Año 2006) Ejemplo

CODIGO	NOMBRE DE LA FUENTE	FECHA
CO0106		
CO0206		
CO0306		

Los rótulos con los códigos deben ir adheridos a cada recipiente destinados a cada una de las muestras en el momento de recolección y su posterior análisis.

Ejemplo:

CORPORACIÓN AUTONOMA REGIONAL DEL QUINDIÓ	
1.1. LABORATORIO DE AGUAS	
Muestra : DQO	Código:
Nombre de la fuente:	
Estación de Muestreo:	
Fecha :	
Tipo de Muestreo:	
Preservación de la muestra:	

Los códigos de identificación deben ir registrados en el formato de rótulos de cada año, ver anexo modelo de formato, donde se indicará la fecha de monitoreo y el lugar donde será el monitoreo en la casilla del código asignado por el analista responsable de dicha actividad.

Formato de retiro de equipos y material de campo: este formato debe ser diligenciado antes de salir para el monitoreo, por el responsable de la actividad quien aprueba o rechaza la salida del material de laboratorio, de la misma forma deberá ser entregado por el responsable del monitoreo en el momento que se recepcionen las muestras en el laboratorio. (Ver anexo formato para reportar retiro de material de campo).

Registro de toma de muestras: Es un formato debe de ser diligenciado por el responsable del monitoreo en el sitio de la toma, ya que tiene por

objeto identificar la muestra y especificar algunas características importantes del punto de muestreo (Ver Anexo Registro de toma de muestra y cadena custodia) tales como:

Sitio de muestreo: Especificaciones del punto geográfico, fuente hídrica o especificaciones de la empresa en caso de ser una muestra de carácter industrial.

Identificación de la muestra: Fecha, hora, código de la muestra e identificación del cuerpo de agua.

Efluentes industriales: Características del proceso industrial si es un monitoreo de una empresa.

Variables de campo: Registro de parámetros físico-químicos tomados en el campo.

Características del muestro: Descripción de observaciones en el punto de monitoreo, equipos, materiales y reactivos utilizados para la preservación de la muestra.

Responsables del muestreo transporte y almacenamiento: Hace referencia a las especificaciones de las personas responsables del embalaje, transporte, recepción, condiciones de almacenamiento y tiempo de almacenamiento.

Observaciones: Esta casilla se describirá algunas características, cambios o adiciones importantes que presenten el proceso de muestreo durante su ejecución.

Firma del responsable del muestreo: Se coloca el nombre y la firma, para identificar al responsable en caso de ser interno o externo.

Ingreso de muestras al laboratorio y cadena custodia: Este formato se diligencia para cada una de las muestras en el momento en que ingresan al laboratorio, tiene por objeto verificar que las muestras presentan las condiciones y la información requeridas para su posterior análisis, cuando se realiza la recepción se verifica las condiciones de preservación y pH con papel indicador, de las muestras para la DQO, grasas y aceites, sulfuros, cromo, entre otras, cuando dichas muestras no presentan las

condiciones requeridas se ajustan en el laboratorio En el se encuentra la siguiente información:

Sitio de muestreo: Nombre de la fuente, estación de muestreo y municipio de origen de la muestra.

Identificación de la muestra: Numero de muestra recibidas, fecha, hora, tipo de muestra, código.

Muestras preservadas: Identificación de las muestras que han sido preservadas para la realización de parámetros físico-químicos particulares.

Condiciones de muestro, etiquetas y recipientes: Con esta evaluación se verifica cada una de las condiciones relevantes para que el laboratorio rechace o apruebe las muestras a ser analizadas, al respaldo de la hoja aparecen las condiciones que se toman en cuenta para rechazar o aceptar las muestras.

Después de verificar la muestra, el encargado de la recepción de la misma, firma su aprobación y designa el sitio y la temperatura a la cual deberá ser preservada la muestra.

Responsables de los análisis: Esta casilla es diligenciada por el personal responsable de verificar los análisis requeridos por el cliente y designar la ejecución de ellos a los analistas responsables, quienes registran la siguiente información: nombre y firma del analista responsable del análisis, fecha, hora de inicio, finalización del análisis y volumen utilizado.

En caso de tratarse de muestras especiales que requieran confidencialidad, el coordinador de laboratorio se encargara de la recepción, verificación y almacenamiento, además será quien tenga en su poder la documentación con la que se diligencie la muestra en el laboratorio.

Observaciones: En esta casilla se registra las discusiones importantes sostenidas con el usuario respecto a la recepción de la muestra.

Recepcionado por: En este espacio debe registrarse la firma de la persona responsable de la recepción de la muestra.

Recepción de muestras: Las muestras deben ser entregadas en el laboratorio lo más pronto posible después del muestreo, sin exceder el tiempo de almacenamiento y preservación permitido.

En caso de que sean enviadas por correo a través de una empresa responsable, se debe incluir el formato de la compañía transportadora, dentro del formato de control y vigilancia de la muestra, donde debe aclararse la fecha y hora de entrega así como las observaciones del estado en que se recibieron las muestras. Es de aclarar que el laboratorio no recibirá muestras que no hayan sido programadas por el personal responsable de la programación y muestreo, Las programación emitida por el laboratorio es asignada en orden cronológico de acuerdo a la fecha en que fue recibida la solicitud en el laboratorio y no bajo ningún otro parámetro o influencia.

El horario de recepción de muestras en el laboratorio es de 8:00 a 12:00 y de 2:00 a 3:00 PM.

Las muestras serán recibidas por el personal de laboratorio responsable de dicha actividad, quien verificara la condición en que son entregadas las muestras, la preservación con mediciones de pH con papel indicador, si no tiene el pH requerido se ajusta en el laboratorio, se comprobara la información de las etiquetas en las diferentes botellas; el formato de ingreso diligenciado y el registro de toma de muestras se le anexa a el formato de información primaria.

Las muestras serán guardadas en el refrigerador 68 hasta que se asignen los análisis correspondientes a los analistas.

Las muestras especiales que requieran confidencialidad, serán recepcionadas y guardadas en refrigeración bajo llave, directamente por el coordinador del laboratorio, quien tendrá a su cargo el control de ellas.

Muestras especiales: Hace referencia a las muestras que tienen requerimientos especiales, ya sea por tratarse de muestras involucradas en litigios, pruebas de calibración, pruebas de evaluación interna o aquellas cuyos usuarios pidan confidencialidad y protección de la muestra. En estos casos la persona responsable del control de la muestra, almacenamiento, diligenciamiento de los formatos de control y vigilancia y entrega de resultados al cliente será el coordinador del laboratorio para garantizar la integridad de la muestra. El almacenamiento de ella se hará en refrigeración bajo llave asegurando que permanezca limpia, libre de contaminación, daño de los rótulos o empaques; será guardada por el

coordinador; quien además organiza y designa los analistas para su correspondiente procesamiento.

Descarte de muestras: Después de realizados los análisis respectivos a las muestras que ingresan al laboratorio, estas serán retenidas en preservación, en los refrigeradores a 4°C, teniendo en cuenta que aquellas cuyo deterioro sea evidente debido a que sobrepasan el tiempo estimado para un correcto análisis, serán desechadas (Bacteriológico, Oxígeno Disuelto, Demanda Bioquímica de Oxígeno (Ver anexo Preservación de muestras según el tipo de análisis)). Las muestras serán almacenadas durante un periodo de 15 días, contados partir de la fecha del último análisis realizado. Esto previendo alguna inconformidad por parte del cliente que haga que en su reclamación se solicite la repetición de alguno de los análisis realizados a dicha muestra, esta información es conocida por el cliente en el momento de diligenciar el formato de solicitud de servicio.

Para el descarte de muestras se diligencia el formato donde se incluyen los datos de las muestras, fecha de descarte, hora, firma de quien descarta y autorización para el descarte. (Ver anexo formato de descarte de muestras).

#### ❖ Instructivo para toma de muestras

Uno de los requerimientos básicos en el proceso de toma de muestras es una manipulación ausente de procesos de deterioro o de contaminación y de representatividad de la muestra, por tal razón antes de colectar la muestra es necesario tener en cuenta las siguientes medidas generales:

- Todos los equipos, instrumentos y herramientas de muestreo deben mantenerse siempre limpios y en buenas condiciones de operación.
- El personal encargado del muestreo debe de utilizar el equipo de protección personal requerido para el monitoreo, suministrados por el laboratorio: Guantes, Mascaras, Botas, Vestido plástico etc.
- Las mediciones realizadas en el campo deben realizarse sobre submuestras separadas, las cuales deben ser descartadas después de su uso. Las mediciones nunca deben hacerse sobre las mismas muestras que van a ser enviadas al laboratorio para su análisis.

- Los recipientes para la toma de muestras deben de estar completamente limpios o esterilizados según sea su caso, ciñéndose a las recomendaciones del procedimientos para el lavado de material (Ver Procedimiento para lavado de material PLMV 0206)
  - Los recipientes que hallan sido utilizados en el laboratorio para almacenar reactivos nunca deben ser utilizados para almacenar muestras.
  - La parte interna de los recipientes de muestra y sus tapas no deben entrar en contacto con las manos.
  - Los recipientes para el muestreo deben de almacenarse en un lugar adecuado libre de suciedad, polvo o vapores.
  - Antes de colectar la muestra se debe purgar el balde con llave lateral dos o tres veces.
  - Dependiendo del tipo de determinación, el recipiente se llena completamente (esto para la mayoría de las determinaciones de los compuestos orgánicos), o se deja un espacio para aireación (análisis microbiológico), si los recipientes contienen preservativos no se deben rebosar, lo cual ocasionaría una pérdida por dilución. Excepto cuando el muestra tiene por objetivo al análisis de compuestos orgánicos como DBO<sub>5</sub>.
  - Para muestras superficiales la toma se hace en forma manual introduciendo un balde con llave lateral en posición contracorriente en el punto seleccionado del cuerpo de agua, a una profundidad no mayor de 30 cm. y evitando la recolección de objetos sólidos suspendidos extraños.
  - Los reactivos para preservar las muestras son adicionados en el laboratorio dependiendo los análisis a realizar, ver tabla de preservantes anexo al final.
- ❖ Equipos y materiales de campo: Cada monitoreo requiere un material especial, dependiendo del tipo de muestra y tipo de muestreo a realizar, a continuación se listan los equipos y materiales generales:
- Georeferenciador
  - Altimetro.
  - Equipo para mediciones de campo pH, OD y conductividad.
  - Balde plástico de 12 litro de capacidad para realizar aforo volumétrico.

- Molinete en caso de realizarse muestreo integrado o medición de caudal.
- Probetas plásticas de 250 y 500 ml para medir volumen en caso de realizarse muestreo integrado.
- Neveras portátiles (de icopor o plásticas) con suficiente hielo para preservar las muestras durante el transporte.
- Frasco lavador con agua destilada.
- Pipetas plásticas graduadas de 5 y 10ml para adición de reactivos.
- Traje de fontanero, guantes y equipo de protección apropiado.
- Galón de 4 litros plástico o de vidrio según el tipo de muestra a coleccionar.
- Botellas Winkler de 300ml para OD, DBO.
- Botellas de vidrio para DQO, Sulfuros, grasas y aceites
- Frasco esterilizado para Bacteriológico
- Formatos de toma de muestra para parámetros de campo
- Balde plástico con llave lateral para la recolección de las muestras
- Tabla de madera para transporte de los formatos.
- Cinta métrica
- Molinete, varillas, y correntómetro.

❖ Equipos de protección de personal

- Guantes tres cuartos, de látex
- Trajes de fontanero
- Arnés
- Lazo
- Botas

- ❖ Preservación de las muestras: Una vez definido el tipo de muestra y los parámetros a analizar es importante asegurarse de contar con envases suficientes para las muestras a tomar, adicionalmente deberá tenerse la precaución de alistar y llevar recipientes extras en caso de ruptura durante el transporte. Los resultados analíticos son más exactos en la medida que el tiempo transcurrido entre la toma de la muestra y su análisis sea menor. Los cambios provocados por los incrementos de microorganismos se retardan por almacenamiento de la muestra en la oscuridad y a baja temperatura (<4°C).

Los métodos de preservación incluyen las siguientes operaciones:

- Control de pH
- Adición de reactivos.
- Uso de botellas ámbar y opacas.
- Refrigeración.
- La adición de preservativos químicos

## 6.2 Montaje de la técnica de determinación de amonio por el método de Merck.

### ❖ Test en cubetas amonio

#### ○ Método

El nitrógeno amónico ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ) se presenta en parte en forma de iones amonio y en parte en forma de amoníaco. Entre ambas formas de aparición existe un equilibrio dependiente del pH. En solución fuertemente alcalina, en la que prácticamente sólo existe amoníaco, tiene lugar con iones hipoclorito una transformación en monocloramina. Ésta forma con un fenol substituido un derivado azul de indofenol que se determina fotométricamente. El procedimiento es análogo a EPA 350.1, US Standard Methods 4500-NH<sub>3</sub> D e ISO 7150/1.

#### ○ Intervalo de medida y número de determinaciones

2.6 -96.6 y 6-193mg/l de  $\text{NH}_4$  para 100 determinaciones

#### ○ Campo de aplicaciones: El test determina tanto los iones amonio como amoníaco disuelto.

#### ○ Material de las muestras:

- Aguas subterráneas y superficiales
- Agua potable
- Aguas residuales
- Soluciones nutritivas para fertilización
- Suelos tras preparación apropiada de la muestra
- Alimentos tras preparación apropiada de la muestra

El test no es adecuado para agua de mar.

#### ○ Influencia de sustancias extrañas

Ésta se comprobó en soluciones con 1 y con 0 mg/l de  $\text{NH}_4\text{-N}$ . La determinación todavía no es interferida por las concentraciones de sustancias extrañas indicadas

- Reactivos y auxiliares

¡Tener en cuenta las advertencias de peligro que se encuentran en los diferentes componentes del envase!

Los reactivos del test son utilizables hasta la fecha indicada en el envase si se conservan cerrados entre +15 y +25 °C.

Contenido del envase:

1 frasco de reactivo NH<sub>4</sub>-1K (contiene granulado + una capsula deshidratante) 25 cubetas de reacción

1 cubeta con muestra en blanco (tapa roscada blanca); solamente necesaria en caso que se utilice el fotómetro SQ 118

1 dosificador azul

1 hoja con etiquetas redondas autoadhesivas para numerar las cubetas

Otros reactivos y accesorios:

Tiras indicadoras universales pH 0 - 14, art. 1.09535.0001

Sodio hidróxido en solución 1 mol/l, art. 109137

Ácido sulfúrico 0,5 mol/l, art. 109072

Pipeta para un volumen de pipeteo de 5,0 ml

- Preparación

Al usar por primera vez sustituir la tapa roscada negra del frasco de reactivo NH<sub>4</sub>-1K por el dosificador azul.

Mantener verticalmente el frasco de reactivo y en cada dosificación apretar el cursor en el dosificador hasta el tope. Antes de cada dosificación poner cuidado en que el cursor esté completamente sacado.

Acabada la serie de mediciones, cerrar el frasco de reactivo de nuevo con la tapa roscada negra, ya que la absorción de humedad del aire perjudica el funcionamiento del reactivo.

- Analizar las muestras inmediatamente después de la toma de muestras.

- El valor del pH debe encontrarse en el intervalo 4 - 13.

Si es necesario, ajustar con solución de hidróxido sódico o con ácido sulfúrico.

- Filtrar las muestras turbias.

- Técnica

Muestra preparada 5,0 ml Pipetear en una cubeta de reacción (20 - 30 °C), (20 - 30 °C) cerrar la cubeta y mezclar.

Reactivo NH<sub>4</sub>-1K 1 dosis Añadir y agitar vigorosamente la cubeta firmemente cerrada hasta que el reactivo se haya disuelto completamente.

Dejar en reposo 15 minutos (tiempo de reacción), luego medir la muestra de medición en el fotómetro.

- Notas sobre la medición:
  - En las cubetas de reacción pueden encontrarse cristales blancos. Pero éstos se disuelven al añadir la muestra y no influyen en el resultado de medición.
  - Para la medición fotométrica las cubetas deben estar limpias. Si es necesario, limpiarlas con un paño seco y limpio.
  - Las turbideces después de acabada la reacción dan como resultado valores falsamente elevados.
  - Las muestras exentas de amonio se colorean de amarillo al añadir el reactivo NH<sub>4</sub>-1K.
  - El valor del pH de la solución de medición debe encontrarse en el intervalo 11,5 - 11,8.
  - El color de la solución de medición permanece estable como mínimo. 60 minutos después de transcurrido el tiempo de reacción antes indicado.
  - En caso de concentraciones de amonio superiores a 100 mg/l se forman otros productos de reacción y se obtienen valores falsamente bajos. En estos casos es adecuado un control de plausibilidad de los resultados de medición mediante dilución de la muestra (1:10, 1:100).
- Aseguramiento analítico de la calidad

El reconocimiento de los resultados de medición presupone la comprobación de que tiene lugar el aseguramiento analítico de la calidad (DWA A 704). Para ello puede emplearse el CombiCheck 50 Spectroquant®.

Este artículo contiene una solución patrón con 1,00 mg/l de NH<sub>4</sub>-N para comprobar el sistema fotométrico de medición (reactivos del test, dispositivo de medición, manipulación) y el modo de trabajo, así como una solución de adición para determinar las interferencias dependientes de la muestra (efectos de la matriz).

- Datos característicos de la calidad:

En el control de producción se determinaron los siguientes datos según ISO 8466-1 y DIN 38402 A51:

Desviación estándar del procedimiento + 0,0156 (mg/l de NH<sub>4</sub>-N)

Coefficiente de variación del procedimiento + 1,5(%)

Intervalo de confianza + 0,037 (mg/l de NH<sub>4</sub>-N)

Número de lotes 13

Datos característicos del procedimiento:

Sensibilidad: 0,009

Absorbancia 0,010 A

corresponde a (mg/l de NH<sub>4</sub>-N)

Exactitud de un valor de medición máx. ± 0,060 (mg/l de NH<sub>4</sub>-N)

- Notas

Cerrar de nuevo inmediatamente el frasco tras la toma del reactivo.

Enjuagar el material de vidrio con agua destilada hasta ausencia de amonio.

¡No usar detergentes!

### 6.3 Verificación del agua destilada

Control del agua destilada: Para un laboratorio el control de la calidad del agua destilada es uno de los procedimientos más importantes por que ella es la base para todos los parámetros que se ejecutan en él como la preparación de reactivos, el lavado del material, de equipos y blancos para las técnicas desarrolladas. Por lo cual en el laboratorio de aguas de la CRQ se miden tales parámetros semanal/ o cada que se cambien el origen del agua destilada.

Conductividad específica	0.1 mmho/cm.
Resistencia específica mínima	10 megahms
Silicatos máximo	0.01 mg/l
Metales pesados	0.01 mg/l
Reducción de KMnO <sub>4</sub> mínimo en	60 minutos
Sodio máximo	0.1 mg/l
Amoniaco máximo	0.1 mg/l
pH	6-7
CO <sub>2</sub> mínimo	3 mg/l

Recuento de colonias

Preferiblemente exenta

El agua grado reactivo debe mantenerse en recipientes preferiblemente limpios de vidrio pirex o de plástico, no debe almacenarse más de una semana y mantenerse tapada y protegida de la atmósfera.

Agua Grado reactivo: cubre varios rangos

Agua Tipo I: Es típicamente preparada por destilación, desionización u ósmosis reversa; la resistividad del agua tipo I debe ser  $> 10$  megohm-cm. a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , la medida de resistividad, no debe detectar contaminantes orgánicos o inorgánicos. No puede ser almacenada sin degradación significativa por tanto debe ser utilizada tan pronto como se prepare.

Agua Tipo II: Típicamente es producida por destilación o desionización. La resistividad debe ser  $> 1$  megohm-cm. a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Puede ser almacenada pero en periodos de tiempo cortos y en recipientes que la protejan adecuadamente.

Agua Tipo III: Debe tener una resistividad mínima de  $0.1$  megohm-cm. a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Debe ser almacenada en materiales que la protejan de la contaminación.

Especificaciones del agua grado reactivo

Parámetro de Calidad	Tipo I	Tipo II	Tipo III
Bacterias CFU/ml	$<10$	$<1000$	NS
PH	Ns	NS	5-8
Resistividad megohm-cm. a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$	$>10$	$>1$	0.1
Conductividad mmho/cm. a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$	$<0.1$	1	10
SiO <sub>2</sub> mg/l	$<0.05$	$<0.1$	$<1$
Material particulado	Filtro micras	0.22 NS	NS
Contaminantes orgánicos	Carbón activado	NS	NS

## Procedimiento

Para mantener el control permanente del agua destilada, se midieron semanalmente (durante la pasantía), antes de iniciar las actividades rutinarias del laboratorio, los siguientes parámetros:

- Conductividad
- pH
- Tiempo de reducción del  $\text{KMnO}_4$ , de la siguiente forma:

A 500 ml de agua destilada a examinar se agregaron 0.2 ml de la solución de  $\text{KMnO}_4$  0.01 N, se mezcló y se dejó en reposo por una hora. El agua grado reactivo no debe cambiar de color.

Los resultados obtenidos eran reportados en el formato correspondiente para el control del agua destilada

## **6.4 Calibración termométrica de los diferentes equipos utilizados en el laboratorio**

Procedimiento técnico para la verificación y calibración de equipos termométricos

Con la verificación y calibración permanente de los equipos de medición el laboratorio de aguas de la CRQ, garantiza la confiabilidad de los datos generados en él, al disminuir una de las fuentes de incertidumbre, relacionada con el instrumental analítico.

### Propósito

El propósito de este procedimiento es indicar de manera clara, la inspección, verificación y calibración de los equipos de medición de temperatura utilizados en el laboratorio de aguas de la CRQ, en cumplimiento al programa interno de calibración

### Aplicabilidad

Es aplicable a todos los equipos que requieren control de temperatura. Estas pruebas se basan en los requisitos dados por la ITS 90 (Escala Internacional de Temperatura).

Conceptos:

**Calibración:** Comparación de un instrumento de medición con otro de mejores cualidades metrológicas, con el fin de determinar los errores que tiene el instrumento. Cualquier calibración debe mostrar que los patrones empleados están relacionados mediante una cadena ininterrumpida de calibraciones con los patrones nacionales, los cuales deben estar relacionados con los patrones internacionales. Se emite un certificado que dice con referencia a que norma técnica nacional o internacional se realizó la calibración. La vigencia del certificado depende del uso de la balanza. Se reportan los errores del equipo, pero si el error es muy alto se entrega un informe de medición con las recomendaciones del caso.

**Verificación:** Se entrega un informe de verificación y se reportan los errores para controlarlos. También se hacen las recomendaciones del caso.

**Ajuste:** Se hace mediante pesa interna o pesa externa. El inconveniente que tiene la pesa interna es que puede estar dañada y el usuario no lo sabe.

**Chequeo:** Se hace con dos pesas en el rango de medición de la balanza para observar como está la exactitud de la balanza. Sí se van a realizar muchas mediciones es recomendable hacer chequeos periódicamente

Clase de instrumentos:

**De contacto:** Son aquellos que se utilizan en contacto inmediato con el objeto de medición. Para la medición de temperatura, se aprovecha el cambio de alguna magnitud que dependa de la temperatura como por ejemplo la dilatación térmica de un fluido.

**De no contacto:** Son conocidos como pirómetros ópticos y determinan la temperatura de un cuerpo por la radiación que por la misma temperatura emite la superficie del cuerpo al cual se le está determinando la temperatura.

Escalas de temperatura:

**Escala Celsius (°C):** Se diferencia de la escala Kelvin porque el cero (0°C) de la escala Celsius corresponde a 273.15 K de la escala Kelvin, o sea que entre ambas existe la siguiente relación:  $T$  (en Kelvin) =  $t$  (en Grados Celsius) + 273.15

**Escala Fahrenheit:** La relación con la escala Celsius es:  $t_c = 5/9 (t_f - 32)$        $t_f = 1.8T_c + 32$

Donde  $t_c$ : temperatura en Celsius y  $t_f$ : temperatura en escala Fahrenheit

Punto crioscópico o triple del agua:

Es la temperatura de equilibrio de las fases sólido, líquido y vapor.

Corresponde a:  $0\text{ K} = -273.16\text{ }^\circ\text{C}$  (cero absoluto de temperatura)

Procedimiento

Verificación del termopar tipo k 39658

Para llevar a cabo el presente procedimiento, es necesario verificar de manera permanente el estado de calibración del termopar existente en el laboratorio de aguas, el cual se tomará como patrón de medida.

Pasos:

Preparar el punto crioscópico del agua:  $0\text{ K} = -273.16\text{ }^\circ\text{C}$

Preparar hielo con agua desionizada y triturarlo para mejorar la superficie de contacto con el termopar.

Introducir el hielo triturado en el termo (o vaso Dewar), formando un copo.

Introducir el termopar, esperar su estabilidad y tomar la lectura cuatro veces

Verificar el resultado obtenido con el certificado de calibración

Precauciones al utilizar el termopar:

El extremo final de este equipo debe permanecer unido y no se debe doblar.

Cuando aparezca el mensaje low battery, reemplazar por una pila de 9 voltios.

No someter el equipo a choques térmicos, o sea cambios de temperatura en  $\pm 50\text{ }^\circ\text{C}$ .

La temperatura máxima de medición es  $200\text{ }^\circ\text{C}$ .

Cálculos:

$$\text{Corrección} = V_v - V_m$$

Donde:

V<sub>v</sub>: Valor verdadero

V<sub>m</sub>: Valor promedio obtenido en la medición

Incertidumbre del termopar:

$$S \text{ resolución} = \frac{\text{Resolución o división de escala}}{4 \sqrt{3}}$$

Incertidumbre expandida:

$$\mu = 2 (S \text{ Resolución})$$

Una vez realizado los cálculos anteriores, intercomparar el resultado obtenido con el reportado por el ente calibrador del termopar:

$$\frac{|\text{Valor reportado por el ente calibrador} - \text{Valor obtenido en el laboratorio}|}{\text{CRQ}} \leq 1$$

$$\sqrt{(\mu \text{ ente calibrador})^2 + (\mu \text{ laboratorio CRQ})^2}$$

Si la anterior relación es menor o igual a 1, los resultados son comparables

Nota: Los resultados obtenidos durante este procedimiento, reportarlos en el respectivo formato (FVTT 0206), ver anexo al final de este documento.

En caso de presentarse desviaciones significativas en los resultados el termopar debe ser enviado a la empresa que realiza dicha actividad para su nueva calibración.

Verificación y calibración de los equipos del laboratorio (estufas, refrigeradores baños de agua, muflas, incubadoras)

Dejar que el equipo se estabilice

Introducir el termopar, ubicándolo cerca al sensor del equipo, evitando contacto con superficies metálicas o paredes del mismo

Realizar lecturas utilizando el método de U invertida, es decir, leer el termopar y luego el instrumento, luego el instrumento y el termopar, hasta completar 4 lecturas para cada uno

Una vez realizado lo anterior, verificar los resultados utilizando:

Valor de mayor lectura para el patrón o termopar - Valor de menor lectura para el patrón o termopar

La diferencia de lo anterior, debe ser  $\leq 2$  (división de escala) (equipo análogo)

$\leq 2$  (resolución) para un equipo digital

**Si lo anterior no se cumple las lecturas deben repetirse.**

**Sacar el promedio aritmético y la desviación estándar tanto para los resultados del patrón como del equipo**

**Del certificado de calibración del termopar, obtener el valor de corrección correspondiente a la temperatura leída por el termopar. Con este valor se ajusta el termopar, aplicando:**

**$T_c \text{ patrón} = T \text{ patrón} + \text{corrección}$**

**Donde:**

**$T_c \text{ patrón}$ : temperatura corregida del patrón**

**$T \text{ patrón}$ : temperatura promedio leída por el patrón**

**Corrección: valor obtenido del certificado**

**$\text{Corrección} = T_c \text{ patrón} - T_m$**

**Donde:**

**$T_m$ : temperatura promedio leída por el equipo**

**Con el valor obtenido en la corrección, ajusto el equipo.**

Nota: Los resultados obtenidos durante este procedimiento, reportarlos en el respectivo formato (FVET 0206), ver anexo al final de este documento.

En caso de presentarse desviaciones significativas en los resultados enviar los equipos a la empresa certificada para su calibración.

## 7 PREVALIDACIÓN DE NITRÓGENO AMONIACAL POR DESTILACIÓN

Las actividades antes de la validación de la técnica en estudio, tiene los siguientes objetivos:

- ❖ Comprobar mediante ensayos cualitativos, cuantitativos y estadísticos los parámetros que se determinan en la parte preliminar a la validación del nitrógeno amoniacal por el método de destilación.
- ❖ Determinar la detección instrumental, límite de detección, intervalo lineal, intervalo de trabajo, selectividad.

### 7.1 Fundamento del método

El método es aplicable a aguas potables, superficiales y salinas y a aguas residuales domésticas.

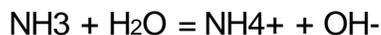
El nitrógeno amoniacal es un producto de la descomposición microbiológica de proteínas animales y vegetales. La presencia de nitrógeno amoniacal en aguas superficiales sin tratar no es común e indica contaminación doméstica e industrial.

El método usado es la destilación, siendo este uno de los parámetros a evaluar en la calidad del agua. Para la determinación del amonio se destila

El nitrógeno presente en el agua residual reciente se encuentra principalmente en la forma de área materia proteica.

La descomposición por las bacterias cambia fácilmente estas formas en amoníaco.

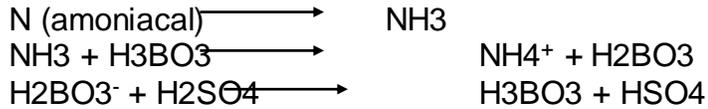
El nitrógeno amoniacal existe en solución acuosa bien como ion amonio o como amoníaco, dependiendo ello del pH de la solución según la siguiente ecuación de equilibrio:



A niveles de pH superior a 7, el equilibrio se desplaza hacia la izquierda; a niveles inferiores a pH 7, el ión amonio es predominante. El amoníaco se determina elevando el pH, destilando el amoníaco con el vapor producido cuando se hierve la muestra y condensando el vapor que absorbe el amoníaco gaseoso. La medida se hace titulométricamente.

Este método sólo determina el nitrógeno en estado trinegativo. Con la primera destilación se pasa el nitrógeno

Amoniacal a  $\text{NH}_3$ , que se recoge en presencia de ácido bórico. Después se valora con  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Las reacciones son:



Las formas de nitrógeno de mayor interés en las aguas naturales y residuales son, por orden decreciente de su estado de oxidación, nitrato, nitrito, amoniaco, y nitrógeno orgánico. Todas esas formas de nitrógeno lo mismo que el nitrógeno gaseoso ( $\text{N}_2$ ), son interconvertibles bioquímicamente y forman parte del ciclo del nitrógeno, su interés se debe a varias razones.

El amoniaco se encuentra de forma natural en las aguas superficiales y residuales. Su concentración suele ser baja en las aguas subterráneas debido a que es adsorbido en las partículas y en las arcillas del suelo y no se extraen fácilmente por lixiviación. Se produce en gran parte por desaminación de los compuestos orgánicos nitrogenados y por hidrólisis de la urea. En algunas plantas de tratamiento de agua, se añade amoniaco para que reaccione con el cloro y forme cloro residual combinado.

En la cloración de diluyentes de aguas residuales con contenido amoniacal, no se obtiene prácticamente cloro residual libre hasta que el amoniaco se ha oxidado.

En cambio el cloro reacciona con amoniaco para formar mono- y dicloroaminas. Las concentraciones de amoniaco halladas en el agua varían desde menos  $10\mu\text{g}$  de nitrógeno amoniacal/L en algunas aguas naturales superficiales y profundas, hasta más de  $30\text{ mg/L}$  en algunas aguas naturales.

## 7.2 Selección del método

Los dos factores principales que influyen en la selección del método para determinar el amoniaco, son la concentración y la presencia de interferencias. En general, la determinación manual directa de concentraciones bajas de amoniaco se limita a las aguas potables, aguas superficiales limpias y diluyentes residuales nitrificados de buena calidad, en otros casos para una determinación más precisa se necesita un paso preliminar de destilación.

### Interferencias

La glicina, la urea, el ácido glutámico, cianatos y acetamidas hidrolizan muy lentamente en solución y en reposo pero solo la urea y los cianatos producirán la hidrólisis en la destilación a pH 9.5. Además el cloro residual para muestras con concentración menor a  $100\text{ mg/L}$ .

El cloro residual reacciona con el amoniaco y debe removerse por pretratamiento de la muestra, si es probable que una muestra contenga

cloro residual tratarla con agente decolorador inmediatamente después de la recolección.

### **7.3 Almacenamiento de las muestras**

Se obtienen resultados más fiables con las muestras recientes. Debe destruirse el cloro residual inmediatamente después de obtener las muestras para impedir su reacción con el amoníaco. Si es imposible un análisis rápido conserve las muestras con 0.8 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> CONC /L y manteniéndolas a 4<sup>o</sup> C. el pH de la muestra debe estar comprendido entre 1.5 y 2, si se utiliza la conservación con ácido, neutralícense las muestras con NaOH o KOH inmediatamente después de hacer la determinación. En el momento de la toma de muestras se deben llevar a un tarro plástico y con hielo para preservar la muestra antes de llevar al laboratorio.

En el laboratorio se lleva a una temperatura de 4<sup>o</sup>C. para que no se presente alteración en las condiciones de las muestra.

### **7.4 Precauciones en la titulación**

- ❖ Para la titulación de nitrógeno amoniacal se debe realizar inmediatamente se termine la destilación ya que se deben evitar perdidas en la determinación de la concentración de N-NH<sub>3</sub>
- ❖ Debe hacerse a temperatura ambiente, para que un cambio de temperatura no altere los resultados en la titulación
- ❖ Se debe tener en cuenta el cambio de coloración se hace demasiado rápido, ya que este será el punto de equivalencia de la titulación

### **7.5 Metodología**

Se siguió el procedimiento descrito por el ESTÁNDAR METHODS. Edicion 21secciones 4500 A Y 4500 B para el método de nitrógeno amoniacal por destilación.

### **7.6 Preparación del equipo:**

Se debe prender el equipo quince minutos antes de cualquier determinación, igualmente se debe verificar el volumen de los reactivos como son el agua destilada y el ácido bórico, y el volumen de los residuos contenidos en el galón.

Antes de iniciar las pruebas debe lavarse el equipo con agua destilada para eliminar las trazas de amoníaco que haya en el equipo.

❖ Paso previo de destilación

La muestra se tampona a pH 9.5, con el buffer borato para reducir la hidrólisis de cianatos y los compuestos orgánicos nitrogenados, se destila sobre una solución de ácido bórico y se determina titulométricamente con ácido sulfúrico 0.02 N (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) previamente estandarizado con Trix y el indicador mixto.

❖ Análisis

Se selecciona un volumen de 50 ml de muestra y se tampona a pH 9.5, con 25 ml buffer borato, se destila durante 6 -10 min. con 50 ml de una solución de ácido bórico e indicador mixto hasta recolectar mas o menos un volumen de 250 ml y se determina titulométricamente.

❖ Determinación titulometrica

El método titulométrico se usa solo en muestras que hayan sido destiladas.

Titúlese con ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 0.02N, agitando continuamente hasta que el indicador vire a desde verde a lavanda pálido.

❖ Análisis

La muestra previamente destilada debe determinarse inmediatamente para evitar perdidas en la concentración del nitrógeno amoniacal en esta parte del proceso la muestra tiene una coloración verde.

El ácido debe estar previamente estandarizado, en este caso se estandarizó con Gris en los titulados automático para obtener la constante que se empleara en los cálculos.

En general la determinación manual o directa a bajas concentraciones de nitrógeno amoniacal esta limitada a aguas potables, superficiales o subterráneas limpias, y efluentes nitrificados de buena calidad.

El procedimiento de destilación y titulación se aplica especialmente para concentraciones de nitrógeno amoniacal mayores de 5 mg/L si se va a titular se usa ácido bórico como absorbente para el destilado.

## 7.7 Análisis de blancos

El agua destilada del laboratorio de aguas de la CRQ es obtenida mediante la destilación en el equipo fontavapor B 202, al agua destilada se le realiza un procedimiento de control de calidad, llamada control del agua destilada donde se miden los siguientes parámetros:

- Presencia de materia orgánica
- Conductividad eléctrica
- Turbiedad
- pH

El procedimiento de control del agua destilada se realiza semanalmente, cada que se cambie el origen del agua destilada.

Es necesario el análisis de blancos para saber la incidencia del agua destilada en la muestra a determinar, para ello se debe hacer un seguimiento para verificar la calidad del agua el lavado del material de vidrio y los reactivos empleados. Este debe seguir todos los pasos del método y aplíquese la corrección necesaria a los resultados.

## 7.8 Reactivos

- ❖ Agua destilada (obtenida por medio de un destilador de agua BUCHI FONTAVAPOR B-210)
- ❖ ÁCIDO BORICO: disolver 20g de ácido bórico en 1 litro de agua destilada
- ❖ BUFFER BORATOS: a 500 ml de tetraborato de sodio decahidratado 0.025N (0.95g de  $\text{NaB}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$  / L) adicionar 88 ml de NaOH 0.1N.
- ❖ AGENTE DECLORINADOR: disolver 3.5g de tiosulfato de sodio pentahidratado ( $\text{Na}_2 \text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ) en 1 litro de agua.
- ❖ ÁCIDO SULFURICO: disolver 20ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  en 1 litro de agua
- ❖ INDICADOR MIXTO: disolver 20 mg de rojo de metilo en 10ml de alcohol etílico; 100mg de azul de metileno en 50ml de alcohol etílico, se mezclan y se adiciona 20g de ácido bórico en 1 litro de agua.
- ❖ HIROXIDO DE SODIO 6N: disolver 240g de NaOH en 1 litro de agua

## 7.9 Equipos y material

- ❖ Destilador velp modelo udk142



- ❖ Agitador magnetico mr 3000 helddph
- ❖ Titulador automático metrohm e-716
- ❖ Balanza analítica marca precisa 290 scs
- ❖ Material volumétrico

### Materiales

- ❖ Bureta automatica de 25 ml marca
- ❖ Pipetas aforadas 50,25,20,2,1
- ❖ Pipeta graduada de 10 ml
- ❖ Balon de 1000 ml
- ❖ Balon de 500 ml
- ❖ Pesa sales
- ❖ Beakers
- ❖ Erlenmeyers de 250 ml
- ❖ Espátulas
- ❖ Tarros plásticos de 4 y 8 galones (para recolección y almacenaje de muestras)
- ❖ Frascos de plástico y vidrio borosilicato (para almacenaje de reactivos)
- ❖ Frasco lavador

- ❖ Macropipeteador marca brand
- ❖ Guantes
- ❖ Barras magnéticas

El material volumétrico como las pipetas y la bureta automática se calibro previamente siguiendo el procedimiento descrito en el manual de calibración del laboratorio.

Todo el material fue lavado como se indica en el manual de 1

#### ❖ Manejo y calibración del material volumétrico

Dentro de los procesos de calibración de instrumentos o equipos que miden Magnitudes físicas, los procesos de calibración directos son aquellos en los que el valor conocido o generado (generalmente a partir de un patrón físico o de un material de referencia certificado) se expresa en la misma magnitud que mide el equipo, y pueden clasificarse en diversos tipos ]. Uno de estos métodos es el de reproducción de la definición de la magnitud. En este método, se reproduce la magnitud que mide el equipo o instrumento de medida a través de patrones apropiados en los que se calculan los valores de la magnitud deseada a través de los valores de otras magnitudes. Un ejemplo de estos métodos, que va a ser el que vamos a desarrollar en este artículo, es la calibración de material volumétrico mediante pesada y utilización de la densidad. En este caso no se va a utilizar directamente ningún patrón de la magnitud que se desea medir en el proceso de calibración, sino que se va a medir una magnitud (volumen) a través de la medida de otra magnitud (masa) y de una relación entre las dos (densidad). En concreto, se va a determinar el Volumen contenido en un recipiente (referido a una temperatura de 20°C) a partir de la pesada del volumen de agua destilada contenida en dicho recipiente. Es importante puntualizar que, aunque no se va a utilizar ningún patrón de la magnitud que se desea medir (volumen), somos trazables al sistema internacional de unidades ya que la medida de peso que nos servirá para calcular la medida de volumen debe obtenerse con una balanza calibrada con pesas certificadas.

Este método se utiliza para verificar capacidades, por ejemplo cuando el material volumétrico es nuevo. La metodología es aplicable a todo material volumétrico en general (pipetas y buretas, tanto manuales como automáticas, y Matraces aforados...).

Se considera material volumétrico, todo aparato usado para la medición de volúmenes. Los instrumentos calibrados, tales como las pipetas y las buretas, exigen cuidados especiales y una limpieza adecuada. La medición correcta de un volumen solamente es posible cuando las superficies de las paredes interiores están libres de grasa, de tal manera que se forme siempre una película continua del líquido y no exista un mojado irregular. Si los

jabones o detergentes no desprenden bien la grasa adherida, se procede a emplea UNA MEZCLA SULFOCROMICA

## 7.10 La calibración del material volumétrico

Tiene objetivos primordiales:

- ❖ Establecer un trazo para su capacidad nominal a la temperatura de trabajo.
- ❖ Determinar la capacidad del material hasta su trazo.
- ❖ Desarrollar destreza en el uso de las balanzas analítica.
- ❖ Aprender a calibrar material volumétrico.
- ❖ Adquirir experiencia en el uso correcto del material volumétrico

Todo el material volumétrico está calibrado a una temperatura especificada de 20 °C y para utilizarse de una forma determinada. Debido a la modificación del volumen de los líquidos y del vidrio con los cambios de temperatura se deben volver a calibrar los materiales volumétricos cuando vaya a utilizarse a temperaturas muy diferentes de aquella para la que fueron calibrados.

La calibración hecha por el fabricante no debe tomarse como infalible, sino que debe ensayarse para tener la seguridad de que la graduación esta dentro de las tolerancias exigidas para el trabajo a realizar. Aunque los fabricantes pongan cuidado en la calibración ésta implica un elemento humano y pueden cometerse errores.

- ❖ Las Buretas y como utilizarlas:

Las buretas son tubos largos cilíndricos de calibre uniforme en la porción graduada "se emplean para verter volúmenes distintos de líquidos". Se calibran para descargar volúmenes variables de líquidos. La mayoría de las buretas están equipadas con llaves de vidrio lubricadas con grasas de hidrocarburos, o con llaves plásticas de Teflón, que no requieren lubricación. Estas últimas llaves pueden usarse para disolventes no acuosos y no se pegan después de un contacto prolongado con soluciones básicas.

- ❖ Uso de la Bureta:

Se recomienda mantener limpia y vacía la bureta y colocarla en posición vertical, para usarla se debe siempre enjuagar varias veces con aproximadamente 10 mL de la solución que se vaya a emplear, de modo que moje toda la superficie interna.

Se llena un poco más arriba que el comienzo de la graduación, para esto es recomendable llenarla usando un embudo de vástago corto el cual se retira inmediatamente después de haber cargado la bureta, se descarga de modo que el menisco coincida con el comienzo de la graduación y el pico de la bureta quede completamente lleno. Como regla general se recomienda comenzar cada vez que se use la bureta desde la marca de cero.

❖ Pipetas y formas de usarlas.

Los dos tipos de pipetas comunes son la graduada y la volumétrica o de transferencia. La pipeta graduada se calibra de forma similar a la de una bureta, pero no se descarga un volumen de un líquido con tanta exactitud y reproducibilidad como con la bureta o la pipeta volumétrica. La pipeta volumétrica deberá usarse para tomar alícuotas de soluciones estándar y nunca la pipeta graduada.

❖ Uso de la pipeta.

Use perilla de succión de hule para llenar la pipeta. Es preferible no succionar con la boca, sino emplear una perilla de succión, especialmente en el caso de ácido concentrado, soluciones de arsénico y soluciones de amoníaco.

❖ Enjuague de la pipeta.

Enjuagar la pipeta con agua destilada antes de usarla. A continuación enjuagar con la solución que va a usar, para evitar que se diluya con el agua que se adhiere al interior de la pipeta. Vaciar una pequeña cantidad de la solución que se va a pipetear a un vaso de precipitados, y usarla solamente para enjuagar la pipeta. Nunca insertar una pipeta no enjuagada en el recipiente que contenga la solución de trabajo. (Si se va a pipetear una solución alcalina, es preferible tomar también las alícuotas de un vaso de precipitado que contenga la solución). Enjuagar la pipeta no llenándola totalmente, sino aproximadamente a la quinta parte del volumen total e inclinándola en posición horizontal 2 o 3 veces. Limpiarla por encima del aforo inclinándola ligeramente, Enjuagar cuando menos dos veces en esta forma con la solución que se va a pipetear. A continuación la pipeta deberá vaciarse con uniformidad, o de lo contrario será necesario limpiarla o enjuagarla nuevamente.

❖ Llenado.

Llenar la pipeta aproximadamente una pulgada por arriba de la línea de aforo. Después colocar la punta de la pipeta contra la pared interna del recipiente y hacer girar la pipeta, permitiendo que la solución caiga hasta que la parte inferior del menisco toque apenas la línea de aforo, observando a la altura de los ojos. No debe haber burbujas de aire en la pipeta.

❖ Transporte.

La pipeta puede transportarse en forma cómoda inclinándola levemente, de modo que la solución fluya de la punta hacia el otro extremo.

❖ Vaciado.

Con un papel secante se limpia el exterior de la pipeta para quitar rastros de líquido. Se coloca la punta contra la parte interna del recipiente al que se va transferir la solución y se descarga. Se mantiene la punta contra la pared del recipiente 20 seg. después de haberse vaciado la pipeta, para que el vaciado sea total. Se quita la pipeta con movimiento giratorio para retirar así las gotas de la punta. La pequeña cantidad de líquido que queda dentro de la punta NO SE SOPLA, aunque en apariencia aumente de volumen al transcurrir el tiempo. La pipeta ha sido calibrada teniendo en cuenta este volumen de solución residual.

❖ Almacenamiento:

No deberá dejarse la pipeta volumétrica sin enjuagarla con agua destilada después de usarla, especialmente cuando se usa con soluciones alcalinas. Es conveniente enjuagarla con agua destilada y tapar ambos extremos con bulbos de hule, tomados de goteros. Si esto no es posible, la pipeta deberá enjuagarse totalmente y guardarse en alguna parte donde no se ensucie. El uso correcto del material volumétrico es esencial para las mediciones analíticas y dichos equipos deben ser adecuadamente mantenidos, y cuando sea necesario, calibrados. En general, deberán verificarse las especificaciones de calidad del material volumétrico a su recepción. Para que la verificación no sea necesaria, el material volumétrico debe haber sido certificado para una tolerancia específica por unidad o por lotes, según sea necesario.

❖ Uso de la balanza analítica

Cuidados de la balanza

Luego de haberse familiarizado con el uso de la balanza analítica realizar la siguiente actividad:

- ❖ Verificar que esté apagada y con las pesas en cero.
- ❖ Ajustar la posición y nivel de la burbuja, esto se logra con las patas de la balanza.
- ❖ Encender y llevar a cero en la escala.
- ❖ Apagar, colocar el objeto en el platillo, cerrar las puertitas y pesar, informar el peso con su error (el error se termina en el inciso B).
- ❖ No colocar o quitar elementos del platillo de la balanza mientras ésta permanezca encendida.
- ❖ Luego de cada pesada verificar el cero en la escala.

Tener la precaución de pesar en condiciones de equilibrio térmico y de utilizar pinzas o guantes para manipular el objeto a ser pesado.

❖ Determinación de la incerteza de las pesadas

Determinar la precisión de la pesada: escoger un comprimido y pesarlo 5 veces, informar la incerteza en las pesadas.

La exactitud de la pesada se determina pesando una pesa patrón e informando la diferencia entre las masas.

Tener la precaución de verificar el cero en la escala de la balanza después de cada pesada.

❖ Dispersión del peso de un conjunto de comprimidos

- Seleccionar cinco comprimidos al azar
- Identificar cada uno de ellos colocándolos sobre un trozo limpio de papel y numerarlos
- Pesar cada uno tomando nota de los valores obtenidos.
- Manipularlos utilizando pinzas y no colocar o quitar elementos del platillo de la balanza mientras ésta permanezca encendida.
- Verificar nuevamente el cero de la balanza.
- Calcular la media, la desviación estándar y la desviación estándar relativa de los comprimidos.

❖ Calibrado de una pipeta

Limpiar cuidadosamente una pipeta de 10 mL, utilizando detergente muy diluido, enjuagar con abundante agua corriente y posteriormente con al menos tres alícuotas de agua destilada. El material se considera limpio si

al descender el líquido forma una película uniforme.

- Pesar el vaso de precipitado de 50 mL y registrar el peso con una precisión de miligramo. No tocar el vaso con los dedos, utilizar pinzas o un trozo de papel.
- Tomar y registrar la temperatura del agua.
- Pipetear, utilizando pipeta, 10,00 mL de agua destilada y colocarla en el vaso anteriormente pesado. Registrar el peso nuevamente.
- Agregar una nueva alícuota de 10,00 mL de agua destilada al vaso y pesar.
- Repetir el procedimiento hasta determinar 5 pesos consecutivos de agua con una precisión de 0,02 g, para lo cual se puede usar una balanza grana analítica.
- Buscar el factor de corrección correspondiente a la temperatura de trabajo y corregir la masa. Calcular el volumen de la pipeta en mililitros.
- Calcular la media, la desviación estándar, y la desviación estándar relativa del volumen de la pipeta. Calcular el intervalo del 95% de confianza del volumen de la pipeta.

#### ❖ Lectura de la bureta

- Colocar una bureta limpia en un soporte y colocarle agua destilada.
- Eliminar la burbuja, practicar el manejo del robinete y enrasar.
- Esperar 30 s antes de realizar la lectura inicial.
- 4) Dejar drenar 5 mL de agua a un erlenmeyer de 250 mL. Leer el volumen de agua en la bureta luego de 30 s y registrar el dato. Notar que la última cifra significativa de la medida de volumen en una bureta es 0,01 mL, es la estimación de la distancia entre dos marcas consecutivas de 0,1 mL.
- Llenar nuevamente la bureta y verificar el cero. Dejar drenar 30 gotas de agua a un erlenmeyer y tomar la medida final. Calcular el volumen medio de una gota. Repetir este procedimiento con 60 gotas y determinar el volumen medio de la gota. Comparar los resultados.

### 7.11 Condiciones iniciales de trabajo

Estas condiciones se establecieron con base en el protocolo del STANDARD METHODOS.

- ❖ Blanco de reactivos, contiene todos los reactivos que se utilizan en el método de análisis excepto la muestra, en este caso agua con bajo grado de contaminación, que es reemplazada por agua destilada.
- ❖ Soluciones estándar de Cloruro de amonio de 3.5.50.100 ppm, que se preparan cada vez que se realiza el ensayo.
- ❖ Cada vez que se prenda el equipo se debe lavar para evitar trazas de amoniaco.

## 7.12 Cálculos

### Determinación de la concentración de ácido sulfúrico 0.02N

- ❖ En este caso se utiliza el titulador automático ver anexo 3

### Cálculos para la determinación de nitrógeno amoniacal

$$\text{mg NH}_3 - \text{N/L} = (A-B) \times 280 / \text{ml de muestra}$$

Donde:

A: volumen de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> titulado para la muestra en ml

B: volumen de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> titulado para el blanco

NOTA: en esta formula el factor. En este ejemplo 280 se calcula

FACTOR: 14(normalidad del ácido estandarizado) x1000

Éstas formulas matemáticas fueron tomadas en base al *Standard Methods Ed. 21*, año 2005,

## 7.13 Pasos de prevalidación

Ensayos para definir el tiempo de destilación

SERIE	BLANCO 6min	BLANCO 8min	BLANCO 10min
1	0,5	0,6	0,7
2	0,5	0,6	0,7
3	0,5	0,6	0,7
4	0,5	0,6	0,7
5	0,5	0,6	0,7
6	0,5	0,6	0,7
7	0,5	0,6	0,7
8	0,5	0,6	0,7
9	0,5	0,6	0,7
10	0,5	0,6	0,7

Tabla 2: Determinación del tiempo de destilación

NOTA: se determinaron estos ensayos ya que el tiempo definido por el protocolo del *Standard Methods Ed. 21*, año 2005, es de 6-10 min. Se tomo 6min como tiempo de destilación ya que a medida que aumenta el tiempo de destilación aumenta el consumo de los blancos.

#### 7.14 Análisis de blanco de reactivos

Muestras involucradas

- ❖ Agua destilada (obtenida por medio de un destilador de agua BUCHI FONTAVAPOR F-210)

Procedimiento

Se analizaron dos grupos de blancos de reactivos cada uno compuesto por diez muestras de agua destilada e identificados como: grupo de blanco acidificado y grupo de blanco no acidificado.

Las muestras del grupo de blanco acidificado fueron aciduladas con ácido sulfúrico concentrado y neutralizadas con hidróxido de sodio 6N antes del análisis.

Las muestras del grupo de blanco no acidificado no fueron sometidas a algún procedimiento previo antes del análisis.

Para determinación de nitrógeno amoniacal se siguió el procedimiento respectivo descrito

Condiciones específicas de trabajo

- ❖ Número de muestras analizadas por cada grupo: 10
- ❖ Volumen de agua destilada por cada muestra: 50 mL
- ❖ Grupo de blanco acidificado:
- ❖ Cantidad de ácido sulfúrico concentrado para acidificación: 0.8 ml
- ❖ Volumen de hidróxido de sodio para neutralización y ajuste de pH: + - 2.0 mL. Adicionar lentamente ya que el cambio de pH se hace muy rápido
- ❖ Resultados

NUMERO DE ENSAYOS BLANCOS	VOL DE H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> GASTADO EN LA TITULACION
1	0,5
2	0,5
3	0,5
4	0,5
5	0,5
6	0,5
7	0,5
8	0,5
9	0,5
10	0,5

Tabla 3: Análisis de blancos sin acidificar

NUMERO DE ENSAYOS BLANCOS	VOL DE H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> GASTADO EN LA TITULACION
1	0,52
2	0,52
3	0,53
4	0,53
5	0,52
6	0,52
7	0,52
8	0,52
9	0,52
10	0,52

Tabla 4: Análisis de blancos acidificados

- ❖ Se puede observar que en los blancos acidificados se observa que hay mas consumo de ácido en la titulación

NOTA: los blancos se tomaron con las condiciones normales del agua destilada del laboratorio y a una temperatura ambiente, ya que el pH puede alterar los resultados.

A continuación se mencionan conceptos básicos a tener en cuenta en la prevalidación:

- ❖ **Limite de detección instrumental**

Menor cantidad que puede ser distinguida del fondo con cierto nivel de confianza especificado con cierto nivel de confianza especificado (generalmente 95%)

$$LD = K * S$$

Donde:  $K = 3$

$S =$  DESVIACION ESTANDAR DE LOS 10 BLANCOS

- ❖ **Limite de cuantificación**

Menor cantidad que puede ser determinada cuantitativamente con una incertidumbre asociada, para un nivel de confianza.

$$LD = K * S, \quad \text{Donde : } 3 \leq K \leq 10$$

$S =$  DESVIACION ESTANDAR DE LOS 10 BLANCOS

- ❖ **Selectividad:** Propiedad atribuible a un método analito que pueda definirse como su capacidad para originar resultados que dependan de su forma exclusiva del analito para su cuantificación.
- ❖ **Linealidad:** Se tienen en cuenta dos términos:
- ❖ **Rango de linealidad:** intervalo de concentración del analito sobre el cual el método produce resultados proporcionales a la misma.
- ❖ **Rango de trabajo:** intervalo de concentración donde actúa el método en cuestión. Se prefiere que esté incluido en el rango lineal.
- ❖ **Sensibilidad:** es la pendiente de la curva de calibración del método.
- ❖ **Robustez:** cuando hay dos equipos y se pueden relacionar

Datos de prevalidación: Para determinar las concentraciones a las cuales es selectivo el método se corrieron varias curvas ver anexo. Para lograr bajar el

límite de detección del método se selecciono un estándar de 3mg/L y se corrió una curva para saber la linealidad del método.

NUMERO DE ENSAYO	BLANCO	CONCENTRACION TEORICA EN ppm	VOL DE H2SO4 GASTADO EN LA TITULACION (ml)	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL
1	0.5	3	0.95	2.95
2	0.5	5	1.2	4.55
3	0.5	10	2.0	9.75
4	0.5	15	2.8	14.95
5	0.5	20	3.5	19.83
6	0.5	25	4.3	24.7
7	0.5	30	5.1	29.9
8	0.5	35	5.8	34.45
9	0.5	40	6.6	39.65
10	0.5	45	7.0	44.85
11	0.5	50	8.15	49.73

Tabla 5: Datos curva de calibración  
Estándares de 3-5mg/l

NOTA: se corrió la curva tomando valores de 0.5 a 50 de 10 en 10 para saber la selectividad del método desde un rango bajo hasta medio. Obteniendo para esta un coeficiente de correlación de 0.99994

**CURVA DE CALIBRACIÓN DE NITROGENO AMONICAL  
POR DESTILACION DE 3 - 50 ppm**

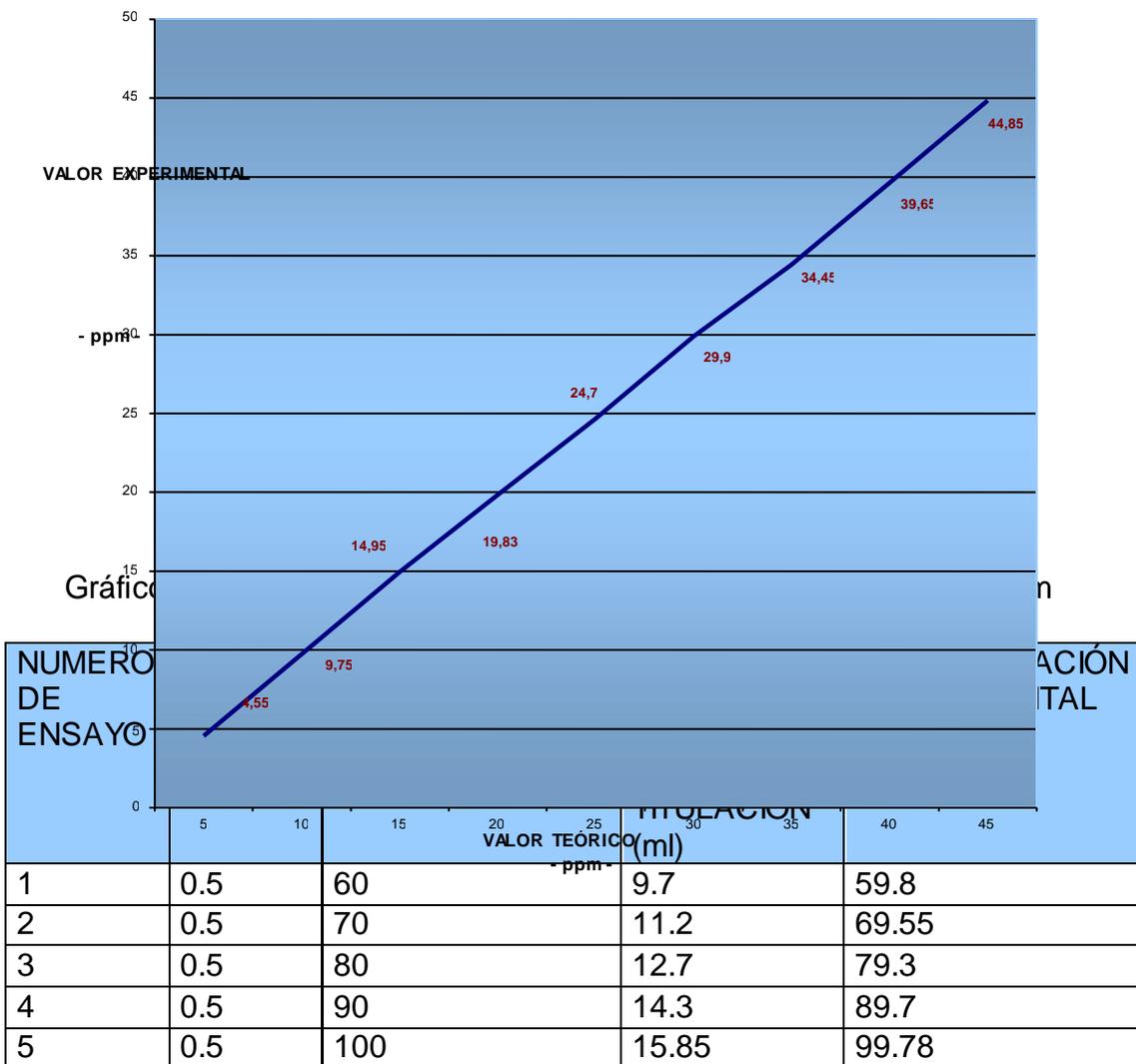


Tabla 6: Estándares de 50 a 100 p.pm

CURVA DE CALIBRACIÓN DE NITROGENO AMONICAL  
POR DESTILACION DE 60 - 100 ppm

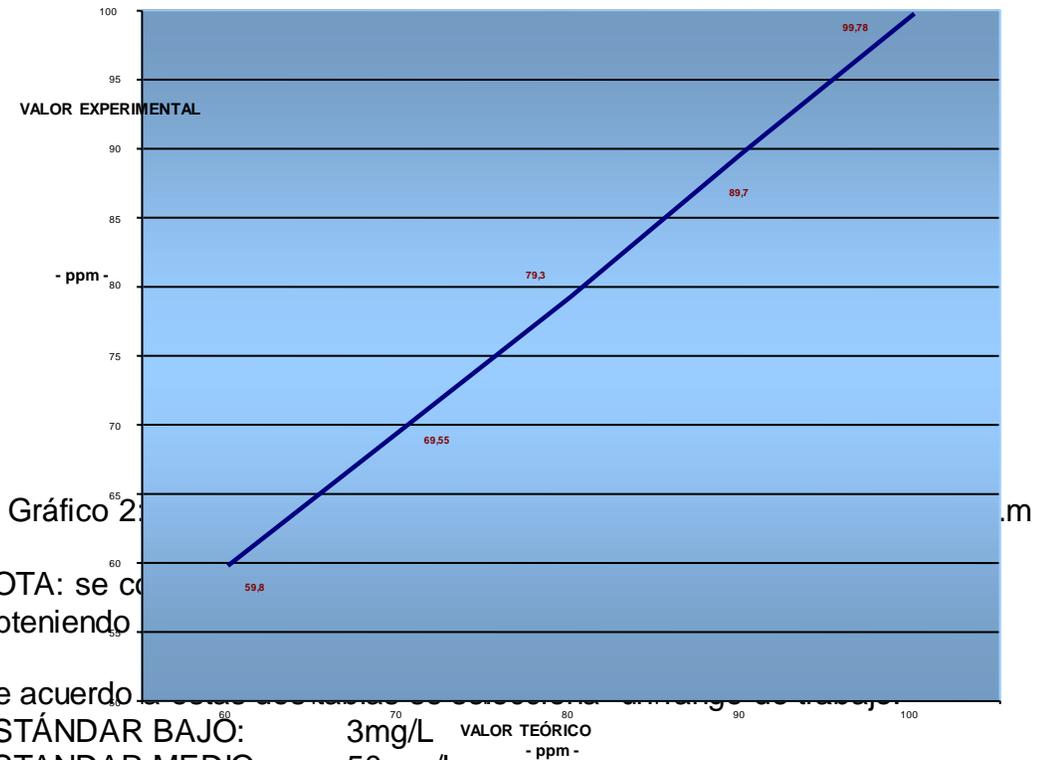


Gráfico 2  
NOTA: se co  
Obteniendo

De acuerdo

ESTÁNDAR BAJO: 3mg/L  
ESTANDAR MEDIO: 50 mg/L  
ESTANDAR ALTO: 100mg/L

Para determinar todos los parámetros estadísticos del método se corrieron estos estándares. obteniendo los siguientes datos.

### 7.15 Análisis de resultados

**Exactitud:** Definida como porcentaje de error podemos observar que los resultados para los estándares de cloruro de amonio no superan el 10% y son aceptables.

**Limite de detección instrumental:** el limite de detección instrumental determinado para un nivel de confianza del 95% es de 0.06.

**Limite de cuantificación:** El limite de cuantificación expresado como la menor cantidad que puede ser determinada es de 0.6

**Linealidad :** Teniendo en cuenta el coeficiente de correlación de las curvas de calibración tenemos una linealidad de 0.999914 lo cual nos indica que es una linealidad aceptable para los estándares.

**Intervalo de trabajo:** El intervalo de trabajo para el método de nitrógeno amoniacal se definir un rango de trabajo de 3-100 ppm.

## 8 VALIDACION DE NITRÓGENO AMONIACAL POR DESTILACION

La técnica de validación tiene por objeto determinar de manera experimental y para las condiciones del laboratorio de la CRQ los valores de los parámetros que servirán como criterios en la validación para obtener métodos confiables como son la exactitud, la precisión, límite de detección, rechazo de datos, % de recuperación, incertidumbre.

Se siguió el procedimiento descrito por el ESTÁNDAR METHODS. Edición 21secciones 4500 A Y 4500 B para el método de nitrógeno amoniacal por destilación.

En la validación se utilizaron las siguientes muestras:

- ❖ Blanco de reactivos
- ❖ Estándar de concentración de baja = 3mg/lt
- ❖ Estándar de concentración media = 50 mg/lt
- ❖ Estándar de concentración de alta = 100 mg/lt
- ❖ Muestra de baja = Se utilizó la muestra de la quebrada el crucero, punto de monitoreo después de la entrada al relleno sanitario, al lado de la casa de mano izquierda antes del vertimiento doméstico.
- ❖ Muestra de alta = Se utilizó una muestra industrial de la curtiembre SIERRA PEREZ a la salida del sistema.
- ❖ Dilución de muestra de alta = se hizo una dilución de 25 en 50ml
- ❖ Muestra adicionada = se utilizó la muestra de concentración baja adicionándole 10ml del estándar de 100 mg/l.

Para la preparación del estándar de cloruro de amonio se siguió el procedimiento del METHODS. Edición 21secciones 4500 A Y 4500 B para el método de nitrógeno amoniacal por destilación.

Las muestras fueron recolectadas y se analizaron el mismo día de la recolección. Los estándares de concentración alta media y baja fueron preparados y preservados a 4<sup>0</sup> C, Lo mismo se hizo con las muestras; el blanco y la muestra adicionada fueron preparadas diariamente.

Es importante tener en cuenta el lavado previo del destilador para evitar trazas de amonio.

## 8.1 Condiciones iniciales de trabajo

Estas condiciones se establecieron con base en el protocolo del STANDARD METHODOS.

- ❖ Blanco de reactivos, contiene todos los reactivos que se utilizan en el método de análisis excepto la muestra, en este caso agua con bajo grado de contaminación, que es reemplazada por agua destilada.
- ❖ Soluciones estándar de Cloruro de amonio de 3.5.50.100 ppm, que se preparan cada vez que se realiza el ensayo.
- ❖ Muestra de agua natural
- ❖ Volumen de muestra 50ml
- ❖ Tiempo de destilación 6 min. ( en equipo de destilación )
- ❖ En la validación se utilizaron las siguientes muestras:
  - Blanco de reactivos
  - Estándar de concentración de baja = 3 mg/lt
  - Estándar de concentración media = 50 mg/lt
  - Estándar de concentración de alta = 100 mg/lt
  - Muestra de baja = Se utilizo la muestra de la quebrada el crucero, punto de monitoreo después de la entrada al relleno sanitario, al lado de la casa de mano izquierda antes del vertimiento domestico.
  - Muestra de alta = Se utilizo una muestra industrial de la curtiembre SIERRA PEREZ a la salida del sistema.
  - Dilución de muestra de alta = se hizo una dilución de 25 en 50ml
  - Muestra adicionada = se utilizo la muestra de concentración baja adicionándole 10ml del estándar de 100 mg/l.
- ❖ Las muestras fueron recolectadas y se analizaron el mismo día de la recolección. Los estándares de concentración alta media y baja fueron preparados y preservados a 4 grados C, Lo mismo se hizo con las muestras; el blanco y la muestra adicionada fueron preparadas diariamente.
- ❖ Es importante tener en cuenta el lavado previo del destilador para evitar trazas de amonio.

- ❖ Cada vez que se prenda el equipo se debe lavar para evitar trazas de amoníaco.

## **8.2 Resultados**

Para definir los parámetros a determinar en esta validación se corrieron ensayos por ocho días

**PARÁMETROS ESTADÍSTICOS DE LOS RESULTADOS DE NITROGENO AMONICAL A LAS MUESTRAS  
NATURALES Y ADICIONADO SIN RECHAZO DE DATOS**

SERIE	BLANCOS	ST BAJO	M BAJA	ST MEDIO	ST ALTO	M ALTA	DILUCION	ADICIONADO
1	0,52	3,0	3,5	48,6	98,4	101,4	48,2	16,0
	0,52	3,0	3,5	48,6	98,4	101,4	48,2	16,0
2	0,53	3,0	3,2	49,4	95,8	101,6	50,2	19,2
	0,53	2,9	3,2	49,4	95,8	101,6	50,2	19,2
3	0,52	3,0	3,1	49,8	98,4	98,4	50,4	19,8
	0,52	3,0	3,1	50,0	98,4	98,4	50,4	19,8
4	0,52	2,9	2,4	50,0	99,7	97,8	50,1	19,2
	0,52	3,0	2,4	50,0	99,7	97,8	50,1	19,2
5	0,52	2,9	2,5	50,0	98,4	98,4	50,0	19,2
	0,52	3,0	2,5	50,0	98,4	98,4	50,0	19,2
6	0,50	2,9	1,8	50,0	99,6	94,4	50,0	19,2
	0,50	3,0	1,8	50,0	99,6	94,4	50,0	19,2
7	0,53	2,9	1,2	50,0	99,8	97,1	50,1	19,2
	0,53	3,0	1,2	50,0	99,8	97,1	50,1	19,2
8	0,55	3,0	4,4	49,9	99,6	100,8	50,5	20,6
	0,55	3,0	4,4	49,9	99,6	100,8	50,5	20,5
Promedio	0,52	2,97	2,75	49,73	98,71	98,73	49,93	19,04
Desviación estándar	0,01	0,05	0,98	0,48	1,30	2,38	0,70	1,29
Cv %	0,03	0,02	0,35	0,01	0,01	0,02	0,01	0,07
% Error	N.A.	1,08	N.A.	0,54	1,29	N.A.	N.A.	N.A.
% Recupera	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	132%
Valor espera	0,50	5,00	N.A.	50	100	N.A.	N.A.	N.A.
Valor Máxim	0,55	3,00	4,37	50,01	99,80	101,56	50,50	20,60
Valor Mínim	0,50	2,90	1,16	48,62	95,76	94,35	48,20	15,96
Intervalo	0,05	0,10	3,21	1,39	4,04	7,21	2,30	4,64
No. Datos	16	16	16	16	16	16	16	16
<b>Criterio T</b>								
Valor T bajo	N.A.	1,43	1,63	2,31	2,26	1,84	2,48	2,39
Valor T alto	N.A.	0,69	1,66	0,58	0,84	1,19	0,82	1,21
T teórico 95	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44
<b>Limite de Confianza</b>								
t teórico 95%	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13
LIMITE INFERIOR DE	0,52	2,94	2,22	49,47	97,99	97,42	49,55	18,33
Desviación estándar de la distribución	0,00	0,01	0,25	0,12	0,34	0,61	0,18	0,33
Raiz de n-1	3,87	3,87	3,87	3,87	3,87	3,87	3,87	3,87
LIMITE SUPERIOR DE	0,53	2,99	3,29	49,99	99,42	100,03	50,32	19,74

Tabla 7: Parámetros estadísticos sin rechazo de datos

**PARÁMETROS ESTADÍSTICOS DE LOS RESULTADOS DE NITROGENO AMONICAL A LAS MUESTRAS  
NATURALES Y ADICIONADOS - RECHAZO DE DATOS**

SERIE	BLANCOS	ST BAJO	M BAJA	ST MEDIO	ST ALTO	M ALTA	DILUCION	ADICIONADO
1	0,52	3,0	3,2	48,6	98,4	101,6		19,6
	0,52	3,0	3,2	48,6	98,4	101,6		18,0
2	0,53	3,0	3,2	49,4	95,8	101,4	50,2	18,7
	0,53	2,9	2,6	49,4	95,8	101,4	50,2	18,7
3	0,52	3,0	3,2	49,8	98,4	98,4	50,4	19,3
	0,52	3,0	3,2	50,0	98,4	98,4	50,4	18,4
4	0,52	2,9	3,2	50,0	99,7	97,8	50,1	19,0
	0,52	3,0	2,6	50,0	99,7	97,8	50,1	18,4
5	0,52	2,9	3,2	50,0	98,4	98,4	50,0	17,7
	0,52	3,0	3,2	50,0	98,4	98,4	50,0	18,4
6	0,50	2,9	3,2	50,0	99,6		50,0	17,7
	0,50	3,0	2,6	50,0	99,6		50,0	18,4
7	0,53	2,9	2,6	50,0	99,8	97,1	50,1	18,0
	0,53	3,0	2,6	50,0	99,8	97,1	50,1	18,0
8	0,55	3,0	0,0	49,9	99,6	100,8	50,5	16,1
	0,55	3,0	0,0	49,9	99,6	100,8	50,5	16,2
Promedio	0,52	2,97	2,62	49,73	98,71	99,35	50,18	18,15
<b>Desviación estándar</b>	0,01	0,05	1,06	0,48	1,30	1,78	0,19	0,94
Cv %	0,03	0,02	0,41	0,01	0,01	0,02	0,00	0,05
% Error	N.A.	1,08	N.A.	0,54	1,29	N.A.	N.A.	N.A.
% Recuperación	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	124%
Valor esperado	0,50	5,00	N.A.	50	100	N.A.	N.A.	N.A.
Valor Máximo	0,55	3,00	3,22	50,01	99,80	101,60	50,50	19,60
Valor Mínimo	0,50	2,90	0,00	48,62	95,76	97,11	50,00	16,10
Intervalo								
No. Datos	16	16	16	16	16	16	16	16
<b>Criterio T</b>								
Valor T bajo	N.A.	1,43	2,46	2,31	2,26	1,26	0,96	2,18
Valor T alto	N.A.	0,69	0,57	0,58	0,84	1,26	1,73	1,54
T teórico 95%	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44
<b>Limite de Confianza (LC)</b>								
t teórico 95%	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13
LIMITE INFERIOR DE CONFIANZA	0,52	2,94	2,03	49,47	97,99	98,37	50,08	17,64
Desviación estándar de la distribución de la media	0,00	0,01	0,27	0,12	0,34	0,46	0,05	0,24
Raíz cuadrada de n-	3,87	3,87	3,87	3,87	3,87	3,87	3,87	3,87
LIMITE SUPERIOR DE CONFIANZA	0,53	2,99	3,20	49,99	99,42	100,33	50,28	18,67

Tabla 8: Parámetros estadísticos con rechazo de datos

De acuerdo a los datos obtenidos se analizaron las siguientes variables:

- ❖ **Rechazo de datos:** A los datos obtenidos se les aplico la prueba T, para el rechazo de datos, utilizando la siguiente formula:

$$T = (\text{Dato promedio} - \text{Dato bajo}) / \text{desviación estándar}$$

$$T = (\text{Dato alto} - \text{dato promedio}) / \text{desviación estándar}$$

Se utilizo un nivel de confianza del 95%, para n mediciones, permitiendo rechazar hasta dos valores si se excede el limite el valor es rechazado.

- ❖ **Cálculo del coeficiente de variación:** Método para evaluar la precisión, expresado como la variación de los resultados de los análisis de las muestras por duplicado, s utiliza la siguiente formula:

$$CV = \frac{S}{X} * 100$$

- ❖ **Cálculo de la exactitud:** Partiendo de que la exactitud nos indica la proximidad de una medida a su valor verdadero o aceptado como tal, esta proximidad la expresamos como porcentaje de error, se tendrán como punto de partida los estándares preparados en el laboratorio de aguas:

$$\% \text{ ERROR} = \frac{(\text{Valor experimental} - \text{Valor real})}{\text{Valor real}} * 100$$

- ❖ **Porcentaje de recuperación:** Se determinara para la muestra adicionada con un estándar de concentración conocida, se expresa como porcentaje de recuperación:

$$\% \text{ RECUPERACION} = \frac{(CMA - CM)}{CA} * 100$$

CMA = Concentración de la muestra adicionada.

CM = Concentración promedio de la muestra no adicionada.

CA = Concentración conocida adicionada a la muestra.

- ❖ **Limite de confianza (95%)** = Es el intervalo donde tenemos un 95 % de confianza que los datos están cercanos a la media, se expresa en limite inferior de confianza y limite superior de confianza, se calcula de la siguiente forma:

Como el nivel de confianza es del 95% en los extremos de la curva quedará un área de  $1 - 0.95 = 0.05$

Se busca en la tabla de t student, encabezado bilateral, el valor de  $t_{0.05}$  con  $n - 1$ , para definir los grados de libertad.  $n$  = numero de repeticiones. Luego reemplazamos en la formula:

**Limite inferior de confianza:** Valor medio – t student \* desviación estándar

**Limite superior de confianza:** Valor medio + t student \* desviación estándar

*Se realizó la prueba T para el rechazo de datos dudosos: El valor de T teórico para el tamaño de la muestra en todos los niveles de concentración fue 2.13 como se observa en la tabla 7 como se encontró valores que sobrepasaban el valor de T se hizo un rechazo de datos y el resultado esta consignado en la tabla 8. El rechazo de datos no afecta la calidad de los resultados debido a que se tienen datos suficientes para el análisis.*

*La variación de los resultados obtenidos fluctuó entre 0.00 % y 0.35 % valores inferiores al 10 % valor definido por el laboratorio como meta de calidad, la variación de los resultados obtenidos es inferior al 10% por lo tanto se aceptan los resultados.*

*La exactitud definida como porcentaje de error y aplicado a los niveles de concentración de estándar (estándares preparados en el laboratorio) y muestra natural adicionada con estándar, podemos observar que los porcentajes de error obtenidos no superan el 2%, lo que significa que los valores son estables y se encuentran todos en el intervalo del valor medio, en el laboratorio se acepta hasta un máximo del 10 % de error, para la validación se tuvo como meta un error del 5 %, de acuerdo a lo anterior se aceptan los valores obtenidos y se logro la meta de bajar el porcentaje de error para el nitrógeno amoniacal por destilación.*

*El porcentaje de recuperación que se obtuvo para la muestra natural de la quebrada el crucero adicionada con estándar de 12 mg/lit, el porcentaje de recuperación fue del 116%, con una desviación estándar de 1,29, lo que nos indica que no hay perdida de la muestra ni del estándar, aceptándose la recuperación obtenida por la estabilidad de los valores y de los resultados.*

### **8.3 Determinación de la incertidumbre**

La incertidumbre es la estimación que caracteriza a la dispersión de los valores que puede ser razonablemente atribuida al mesurando.

Es la estimación unida al resultado del ensayo que caracteriza el intervalo de valores dentro del cual se puede asegurar que se encuentra el verdadero valor.

Se expresa como una desviación típica resultante de combinar componentes tipo A que son las que se estiman mediante procesos estadísticos y las de tipo B que se aprecian por otros métodos, se multiplica por un factor de seguridad con el fin de tener una confianza razonable, en el que el valor obtenido está incluido en el intervalo.

Para el cálculo de la incertidumbre se debe tener en cuenta preparación de los estándares, reactivos y materiales, calibración de los equipos y material

INCERTIDUMBRE MATERIAL DE VIDRIO							
TEMPERATURA PROMEDIO LABORATORIO					3		
CONSTANTE DE EXPANSION					3,2E-04		
MATERIAL	VOLUMEN	DESVIACION	CALIBRACION	ESTANDAR	EXPANSION	COMBINADA	IER
BALON	1000	0,0436	0,4	0,2309	0,5543	0,6020	0,0006
BALON	100	0,0118	0,1	0,0577	0,0554	0,0809	0,0008
BALON	500	0,03094	0,0293	0,0169	0,2771	0,2794	0,0006
BALON	50	0,00828	0,0129	0,0074	0,0277	0,0299	0,0006
PIPETA	50	0,00792	0,004	0,0023	0,0277	0,0289	0,0006
PIPETA	25	0,0486	0,006	0,0035	0,0139	0,0507	0,0020
PIPETA	20	0,1256	0,0066	0,0038	0,0111	0,1261	0,0063
PIPETA	10	0,00792	0,004	0,0023	0,0055	0,0099	0,0010
PIPETA	5	0,01131	0,003	0,0017	0,0028	0,0118	0,0024
PIPETA	3	0,00426	0,0019	0,0011	0,0017	0,0047	0,0016
PIPETA	2	0,00774	0,0019	0,0011	0,0011	0,0079	0,0039
PIPETA	1	0,00529	0,0015	0,0009	0,0006	0,0054	0,0054
PIPETA	0,5	0,00865	0,0015	0,0009	0,0003	0,0087	0,0174
BURETA	25	0,01031	0,0062	0,0036	0,0139	0,0176	0,0007

INCERTIDUMBRE PREPARACION DE SOLUCIONES		
SOLUCION	CONCENTRACION	INCERTIDUMBRE
CLORURO DE AMONIO	100 ppm	0,02108
CLORURO DE AMONIO	50 ppm	0,02118
CLORURO DE AMONIO	5	0,02762
CLORURO DE AMONIO	3	0,02857
CLORURO DE AMONIO	1	0,02121
ACIDO BORICO		0,00375
INDICADOR MIXTO		0,82652
ACIDO SULFURICO		0,00060
BUFFER BORATOS		0,02137

<b>INCERTIDUMBRE DE REPRODUCIBILIDAD</b>				
<b>100 ppm</b>		INCERTIDUMBRE STANDAR	INCERTIDUMB REESTANDAR	IER
MEDIA	99,61	0,334863156	0,334863156	0,003
DESVIACION	0,58			
<b>50 ppm</b>				
MEDIA	49,73	0,277128129	0,277128129	0,006
DESVIACION	0,48			
<b>5 ppm</b>				
MEDIA	4,91	0,098149546	0,098149546	0,020
DESVIACION	0,17			
<b>3 ppm</b>				
MEDIA	3,07	0,024248711	0,024248711	0,008
DESVIACION	0,042			
<b>1ppm</b>				
MEDIA	0,97	0	0	0,000
DESVIACION	0			
<b>ADICIONADO</b>				
MEDIA	19,04	0,744781847	0,744781847	0,039
DESVIACION	1,29			

incertidumbre de la lectura	0,00582915	
incertidumbre adicionado		
incer recuperacion	0,74478185	
IER	0,03911669	
<b>INCERTIDUMBRE FINAL</b>		
INCERTIDUMBRE COMBINADA TOTAL= PREPARACION BUFFER BORATOS + PREPARACION ACIDO BORICO + PREPARACION INDICADOR MIXTO +		
<b>1. INCERTIDUMBRE COMBINADA TOTAL</b>		
100 PPM	0,882	0,00881907
50 PPM	0,884	0,01768514
5 PPM	0,905	0,01810154
3 PPM	0,894	0,0295345
1 PPM	0,879	0,08786841
<b>2. INCERTIDUMBRE EXPANDIDA</b>		
CONCENTRACION		
100	1,76	
50	1,77	
5	0,18	
3	0,18	
1	0,18	
PARA CONCENTRACION SE DEBE HALLAR LA INCERTIDUMBRE EXPANDIDA		
$U_{exp} = 2 \times \text{incertidumbre combinada total} \cdot \text{la}$ concentracion que se desea hallar		

Para llevar un control de los estándares que se utilizaron en la validación de la técnica se debe realizar las cartas de Control.

#### **8.4 Elaboración de cartas de control**

Para la validación de una técnica se debe elaborar cartas de control para la determinación de interferencias o problemas que se estén presentando en el laboratorio.

El laboratorio de aguas realizará cartas de control como herramientas que le permitan evaluar el monitoreo continuo de las técnicas analíticas

Las cartas de control tienen como objetivos:

- ❖ Identificar problemas en el laboratorio mediante cartas de control
- ❖ Tomar medidas correctivas cuando se identifiquen problemas
- ❖ Identificar y controlar las fuentes de error ya sean sistemáticos o aleatorios
- ❖ Reconocer cuando una técnica esta dentro o fuera de control

El siguiente procedimiento aplica para el laboratorio de aguas de la CRQ, para todas sus técnicas:

Carta de control: son herramientas estadísticas que se emplean para controlar y evaluar mediciones repetidas. Ayudan a indicar problemas serios con el sistema de calidad y tendencias hacia problemas futuros. Son construidas con una línea central, con el valor promedio de la característica que se controla, dos líneas correspondientes a los límites de confianza de  $\pm 2\sigma$ , llamadas límites de advertencia superior e inferior (LAS Y LAI), dos líneas correspondientes a los límites de confianza de  $3\pm\sigma$ , llamadas límites de control superior e inferior (LCS y LCI) y una línea quebrada que registra los datos que representan el estado del proceso. Si un punto cae entre los límites de  $2\sigma$  y los límites de  $3\sigma$ , es considerado como evidencia de posibles problemas con el método analítico. Por otro lado, un punto por fuera de los límites de  $3\sigma$ , es evidencia de la pérdida de control. Existen los siguientes tipos de cartas de control:

- ❖ En el laboratorio de aguas de la CRQ las cartas  $\bar{X}$  y  $\bar{R}$  son las más utilizadas.
  - Cartas  $\bar{X}$ : Las cartas  $\bar{X}$ , son cuadros de control en los cuales la línea central representa el valor real de una muestra estándar, o un valor real aproximado estimado como promedio aritmético ( $\bar{X}$ ), a través de análisis repetidos durante un tiempo con una muestra estandarizada o con muestras naturales

estables. Hacen posible el control de los errores sistemáticos y cuando se analizan blancos o testigos, el control del límite de detección. Los resultados obtenidos deben anotarse cada vez que se analicen un lote de muestras. Los límites superiores e inferiores de control (LSC y LIC), se determinaran como:

$$LSC = \bar{X} + 3 * 1/\sqrt{n} * S \quad \text{ó} \quad LSC = X + 3S$$

$$LIC = \bar{X} - 3 * 1/\sqrt{n} * S \quad \text{ó} \quad LIC = X - 3S$$

Donde:

$\bar{X}$  = Valor real o valor aproximado (promedio aritmético)

X = Valor promedio de los duplicados

n = Numero de muestra analizadas para la determinación de S

S = Desviación estándar

Con frecuencia se trazan los límites de advertencia (LSA y LIA), dichos límites se presentan como:

$$\bar{X} \pm 2 1/\sqrt{n} * S \quad \text{ó} \quad X \pm 2S$$

X = Valor promedio de los duplicados

- Carta de control  $\bar{R}$ : Son cuadros de control en los cuales el ámbito promedio entre las muestra duplicadas ( $\bar{R}$ ) es la línea central. El límite de control superior es 0 y el límite de control superior (LSC) se estima como:

$$LSC = 3.27 * \bar{R}$$

LSC: Limite superior de control

3.27: Constante reportada por la revista pacala, para estos cálculos.

R: promedio

Las cartas R, hacen posible el control de los errores aleatorios y cuando se analizan los blancos o testigos, se puede controlar el límite de detección.

- ❖ Empleo de las cartas de control para diferentes tipos de muestras

En el laboratorio de aguas de la CRQ se tienen cartas de control X y R para los siguientes parámetros: Alcalinidad ( $\text{CaCO}_3$ ), Cloruros ( $\text{Cl}^-$ ), Conductividad ( $\mu\text{S}/\text{cm.}^{-1}$ ), Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), Demanda Química de Oxígeno (DQO), Nitratos ( $\text{N-NO}_3$ ), Nitrógeno Amoniacal ( $\text{N-NH}_3$ ), Sulfatos

(SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>), Fosfatos (P-PO<sub>4</sub>), Sólidos suspendidos totales (SST), pH, dureza total (mg/lt CaCO<sub>3</sub>), calcio (mg/lt CaCO<sub>3</sub>),

Las cartas de control se emplean con análisis repetido para los siguientes tipos de muestras:

- ❖ Muestras sintéticas
- ❖ Muestras naturales estables
- ❖ Blanco o testigo de reactivos

Las soluciones utilizadas para llevar las cartas de control de muestras sintéticas son las siguientes:

Nombre de la Técnica	Muestra sintética o Estándar
DBO	(Glucosa - Ácido Glutámico)
DQO	Ptalato Ácido de Potasio
NO <sub>3</sub>	Nitrato de Potasio
NH <sub>3</sub>	Cloruro de Amonio
SO <sub>4</sub>	Sulfato de Sodio
PO <sub>4</sub>	Hidrogenoftalato de Potasio Anhidro
SST	Caolín
Conductividad	Cloruro de Potasio
Alcalinidad	Carbonato de Calcio
Cloruro	Cloruro de Sodio
Dureza Total	Carbonato de calcio
Calcio	Carbonato de calcio

Para el pH se elabora la carta de control con los datos de los estándares de pH 4 y pH 7.

Los datos de las cartas de control se registran en el respectivo formato FCCT 0206 (ver anexo al final del documento)

- ❖ Métodos y procedimientos:

Para la aplicación del procedimiento de elaboración de cartas, el laboratorio de aguas de la CRQ, basará su metodología con base en los lineamientos de la organización mundial de la salud proyecto PNUMA/OMS/UNESCO/OMM sobre el monitoreo mundial del agua y el programa de aseguramiento de la calidad de PACALA.

○ Carta  $\bar{X}$ :

- Analizar 20 estándares por duplicado de una concentración del analito determinado previamente (ver información registrada en la tabla anterior).
  - Calcular el promedio de cada duplicado.
  - Calcular la desviación estándar (S) de los promedios de los 20 datos.
  - Calcular la media aritmética ( $\bar{X}$ ) de los promedios de cada duplicado.
  - Calcular el límite superior de control (LSC), el límite inferior de control (LIC), el límite superior de advertencia (LSA) y el límite inferior de advertencia (LIA).
- 
- Para hacer el seguimiento una vez elaborada la carta de control con los 20 datos iniciales se verifican los resultados correspondientes con cada lote de muestras, comprobando que el valor promedio de los estándares no se salga de los límites ya establecidos.
  - Evaluar los datos teniendo en cuenta los siguientes criterios:

Si una medida excede los límites de control significa que hay un problema en el análisis, debe buscarse su origen y solución antes de continuar con los análisis de rutina y los datos que se hayan obtenido en esas condiciones no se deben reportar.

- Si un punto se ubica entre los límites de advertencia y de control es considerado como evidencia de posibles problemas en el método analítico. Si esta situación es repetitiva interrumpir los análisis, buscar las causas, corregir el problema y repetir los análisis.

- Se recomienda que los datos se ubiquen alternativamente por encima y por debajo de la línea central ( $\bar{X}$ ).

- Cuando se superan los límites de control y de advertencia se debe informar al coordinador, de tal manera que este pueda supervisar, tomar decisiones y aplicar las acciones correctivas adecuadas al caso.

- Cuando se obtengan otros 20 datos se elabora una nueva carta de control, calculando el promedio y los límites respectivos.

○ 2. Carta  $\bar{R}$ :

Para elaborar las cartas R se parte de los datos obtenidos para la carta X, aplicando el siguiente procedimiento:

- Para cada duplicado de estándares calcular el rango R, ósea su diferencia:

$$R = X_1 - X_2$$

- Al tener 20 valores de R para un determinado parámetro calcular el rango promedio ( $\bar{R}$ ) y el límite superior de control (LSC).
- Revisar los datos iniciales:
  - Si se encuentran valores de R mayores que el valor del límite superior de control (LSC) se deben descartar y recalculan a partir de los restantes valores.
- Una vez elaborada la carta R, se revisan los valores obtenidos en cada tanda de análisis y si el R da mayor que el límite superior de control (LSC), se considera el método fuera de control, los análisis se deben detener hasta resolver el problema y los datos obtenidos en esta tanda no podrán ser reportados.
- Cuando se obtengan otros 20 datos se elabora una nueva carta de control, calculando el promedio y los límites respectivos.

NOTA 1: En el caso de que los datos estén por fuera de los límites de control tanto en la carta X como en la R es necesario evaluar el problema, corregirlo y repetir los análisis correspondientes a ese lote.

NOTA 2: Cuando se disponga de valores teóricos para promedio y desviación estándar de muestras de control, estos datos son utilizados para elaborar las cartas, de lo contrario se utiliza la información obtenida experimentalmente, iniciando con la información de las validaciones de las técnicas.

Las cartas de control elaboradas en la validación se aprecian en el anexo número 4.

## 9 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 9.1 Conclusiones

- ❖ De acuerdo a los ensayos se pudo definir el tiempo de destilación, el tiempo de almacenamiento y la estandarización del equipo, la cantidad del ácido bórico del equipo, se determinó la exactitud definida como porcentaje de error podemos observar que los resultados para los estándares de cloruro de amonio no superan el 10% y son aceptables. La exactitud del método nos permite obtener resultados confiables. El límite de detección instrumental determinado para un nivel de confianza del 95% es de 0.06. El límite de cuantificación expresado como la menor cantidad que puede ser determinada es de 0.6. Teniendo en cuenta el coeficiente de correlación de las curvas de calibración tenemos una linealidad de 0.999914 lo cual nos indica que es una linealidad aceptable para los estándares. El intervalo de trabajo para el método de nitrógeno amoniacal se define un rango de trabajo de 3-100 ppm.
- ❖ El rango mínimo permitido por el método es de 5mg/L, pero se pudo disminuir el rango de trabajo desde 3mg/L. lo cual nos permite analizar muestras con un rango menor de concentración
- ❖ Para las condiciones de trabajo establecidas en el proceso de validación para la determinación de nitrógeno amoniacal expresada como mg/L de N-NH<sub>3</sub> por el método de destilación en el laboratorio de aguas de la corporación autónoma regional del Quindío se establecieron los siguientes parámetros estadísticos en cuanto a exactitud y precisión se refiere en porcentaje de error el método tiene errores que no sobrepasan el 1.29 %. lo que nos indica que son valores muy buenos para la determinación de nitrógeno amoniacal ya que no sobrepasan el 10% que es el permitido por el laboratorio. El porcentaje de recuperación en la muestra adicionada es aceptable. El método es muy sensible que se puede determinar concentraciones bajas.
- ❖ Se realizó la verificación del material volumétrico ya que es un material certificado y se debe tener en cuenta para la exactitud de los resultados.

- ❖ Se determinó el grado de incertidumbre para el método teniendo en cuenta todo lo realizado en la validación como son los estándares y las muestras naturales.
- ❖ Las muestras de concentración alta tienen un tiempo de vida de tres días y las de baja máximo dos de acuerdo con los ensayos realizados en la prevalidación. Las muestras para determinar nitrógeno amoniacal se deben analizar inmediatamente ya que de acuerdo a los ensayos realizados con la muestra preservada se presentaron problemas ya que consumía más reactivo en la titulación y aumentaba la concentración de la muestra.
- ❖ Durante el desarrollo de las labores realizadas en el laboratorio se pudo aplicar de manera continua, los conocimientos adquiridos en la Universidad. De igual manera, se adquirió destreza en el análisis de los parámetros analizados en el laboratorio, así mismo se ampliaron conocimientos en todas las actividades ejecutadas en el tiempo de pasantía.
- ❖ El método de nitrógeno amoniacal por destilación, validado en el laboratorio de aguas de la CRQ, es aplicable en el rango de 3 – 100mg/L con resultados confiables.

## 9.2 Recomendaciones

- ❖ Se recomienda revalidar el método anualmente para verificar todos los parámetros que proporcionan confiabilidad para determinar el nitrógeno amoniacal.
- ❖ En el caso de que al laboratorio ingresen muestras de agua potable se recomienda declorinarla antes del análisis como lo indica el procedimiento ya que el cloro que contiene es una interferencia grande porque no permite definir la concentración de nitrógeno amoniacal.

## BIBLIOGRAFIA

- ❖ STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTE WATER. 21TH EDITION 1992. Editado por Arnold E. Greenberg, Lenore S. Clesceri, Andrew D. Eaton.
- ❖ EATON D.andrew, CLESCERI S. leonore, RICE W.Eugene, GREENBERG G.Arnold. STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTE WATER. 12 TH EDITION 2005
- ❖ PROCEDIMIENTOS SIMPLIFICADOS DE ANALISIS QUIMICOS DE AGUAS RESIDUALES. Programa de control de calidad y desarrollo de los laboratorios. LIMA 1995.
- ❖ MANUAL DE CALIDAD DEL LABORATORIO DE AGUAS DE LA CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DEL QUINDÍO.
- ❖ MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE TÉCNICAS ANALÍTICAS DEL LABORATORIO DE AGUAS DE LA CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DEL QUINDÍO.
- ❖ NORMA TECNICA ISO/IEC 17025:2005
- ❖ INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES (IDEAM). Guía para la validación de técnicas analíticas, Bogotá, junio 24 de 2000.

## ANEXOS



Anexo 2: Modelos de formatos de verificación

MODELO DEL FORMATO DE VERIFICACIÓN DEL TERMOPAR Código  
FVTT 0206

Instrumento: Termopar T/p Tipo K, con indicador Atkins  
Technical Inc. 39658-K  
Fabricante: FLUKE  
Resolución equipo: 0.1°C hasta 155°C y 1°C de 155°C en adelante  
Empresa responsable  
de la calibración: THERMOMETRIC  
Reporte de  
Calibración No: 23004  
Fecha de calibración: 03/10/07  
Fecha de verificación: \_\_\_\_\_

Resultados de verificación interna

Temperatura indicada °C	Corrección a la indicación °C	Incertidumbre expandida de medición °C
OBSERVACION:		
En caso de presentarse desviaciones significativas en los resultados el termopar debe ser enviado a la empresa THERMOMETRIC para su nueva calibración		

Cálculos:

Corrección =  $V_v - V_m$ , donde:  $V_v$ : Valor verdadero;  $V_m$ : Valor promedio obtenido en la medición

Incertidumbre del termopar:

S resolución = Resolución o división de escala

$$4 \sqrt{3}$$

Incertidumbre expandida:

$$\mu = 2 (S \text{ Resolución})$$

---

Analista Laboratorio

---

Coordinador Laboratorio

Anexo 3: Modelo del formato de verificación y calibración de equipos  
Código FVET 0206

Equipo: \_\_\_\_\_

División de escala o Resolución: \_\_\_\_\_

Profundidad de inmersión: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

**RESULTADOS DE VERIFICACIÓN Y CALIBRACIÓN DE EQUIPOS**

No de lectura	Lectura dada por el equipo (°C)	Lectura dada por el patrón (°C)	Incertidumbre expandida de medición °C
1			
2			
3			
4			
Promedio			
S			

Observación:  
En caso de presentarse desviaciones significativas en los resultados enviar los equipos a la empresa THERMOMETRIC para su calibración

Factor de corrección del patrón: \_\_\_\_\_ °C

Cálculos:

Valor de mayor lectura para el patrón o termopar - Valor de menor lectura para el patrón o termopar. La diferencia de lo anterior, debe ser < 2 (división de escala) (equipo análogo): < 2 (resolución) para un equipo digital

**Si lo anterior no se cumple las lecturas deben repetirse.**

**$T_c \text{ patrón} = T \text{ patrón} + \text{corrección}$**

**Donde:**

**$T_c \text{ patrón}$ : temperatura corregida del patrón**

**$T \text{ patrón}$ : temperatura promedio leída por el patrón**

**Corrección: valor obtenido del certificado**

**$\text{Corrección} = T_c \text{ patrón} - T_m$**

**Donde:**

**$T_m$ : temperatura promedio leída por el equipo**

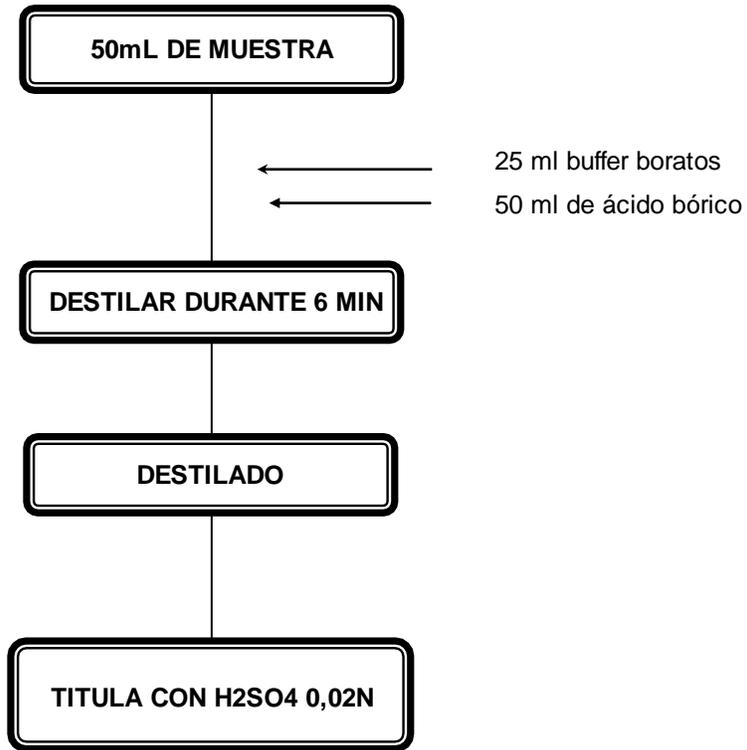
**Con el valor obtenido en la corrección, ajusto el equipo.**

Firmas:

\_\_\_\_\_  
Analista Laboratorio

\_\_\_\_\_  
Coordinador Laboratorio

Anexo 4: Metodología para la determinación del Nitrógeno amoniacal por destilación



Anexo 5: Estandarización de ácido sulfúrico 0.02 N con titulador automático



Anexo 6: Formato para elaborar cartas de control

No. SERIE	FECHA	X1	X2	X MEDIA
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
PROMEDIO				
DESV.EST				
LSC				
LIC				
LAS				
LAI				

Cálculos:

$$X = \frac{X_1 + X_2}{n}$$

$$X = \frac{\sum X}{n}$$

Límites de control:  $X \pm 3s$

Límites de advertencia:  $X \pm 2s$



## Anexo 7: Información de seguridad y toxicidad de los reactivos involucrados en la técnica

El laboratorio de aguas de la CRQ clasifica los reactivos de acuerdo al siguiente esquema:

### ➤ CODIGO NUMERICO

Las sustancias o reactivos son medidas así:

**0** : ninguno – nada\*

**1** : leve – ligero

**2** : mediano – moderado

**3** : severo – intenso

**4** : extremo

\* No es un dato científico en el estándar de referencias sugerido para sustancias peligrosas

En cada una de las cuatro categorías de riesgo se clasifican de acuerdo a:

**SALUD:** peligro o toxicidad de una sustancia si es inhalada, ingerida o absorbida, incluyendo el efecto humano/animal en procesos reproductivos.

**INFLAMABILIDAD:** tendencia de una sustancia a incendiarse

**REACTIVIDAD:** Potencial de una sustancia a explotar o reaccionar violentamente con aire, agua u otras sustancias.

**CONTACTO:** peligro de una sustancia expuesta a contacto con la piel, ojos y membranas mucosas.

Los símbolos de riesgo más utilizados en cada una de las categorías son:

### SALUD

Veneno

Causante de cáncer

Amenaza de vida





Radioactivo

INFLAMABILIDAD

Material inflamable



CONTACTO

Corrosivo



Amenaza de vida



REACTIVIDAD

Explosivo



Oxidación



Reactivo con agua



Reactivo con aire



➤ EQUIPO DE PROTECCIÓN PARA EL LABORATORIO

Gafas



Gafas y careta



Bata



de

lab.



Campana de extracción

Extintores



Guantes apropiados



➤ CODIGO DE ALMACENAMIENTO POR COLORES

AZUL: riesgo de salud, almacenar en un área segura de venenos

ROJO: riesgo de inflamabilidad, almacenar en el área de líquidos inflamables.

AMARILLO: riesgo de reactividad, almacenar separado y lejos de materiales inflamables o combustibles

BLANCO: riesgo de contacto, almacenar en un área a prueba de corrosión.

NARANJA: sustancias no clasificadas en alguna de las categorías de riesgo, almacenar en el área química

# CAS	REACTIVOS	HS	S	I	R	C	A
12125-02-9	REACTIVO ACIDO CLORURO DE AMONIO	Si	2	0	2	2	N
1303-96-4	1.2. TETRABORATO DE SODIO DECAHIDRATADO 1.3.	Si	2	0	1	2	N
10102-17-7	TIOSULFATO DE SODIO PENTAHIDRATADO	Si	1	0	0	1	N
10043-35-3	ACIDO BORICO	Si	2	0	1	2	N
2807-00-10	ACIDO SULFÚRICO 1N	Si	2	0	1	3	N
1310-73-2	HIDRÓXIDO DE SODIO	Si	3	0	2	4	B
	INDICADOR MIXTO	Si	3	4	2	2	R
	• ROJO DE METILO	Si	1	0	0	1	R
	• AZUL DE METILENO	Si	3	3	1	3	3
	• ALCOHOL ETILICO	Si	3	3	1	3	3

Las etiquetas de reactivos que además de algún color vienen rayadas son sustancias incompatibles con cualquier color que tenga etiqueta rayada. Estos productos (aproximadamente 40) podrían almacenarse con sustancias de cualquier color; pero lo mejor es almacenarlas aparte

Anexo 8: Medición de los estándares a diferentes concentraciones.

NUMERO DE ENSAYO	BLANCO	CONCENTRACION TEORICA EN ppm	VOL DE H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> GASTADO EN LA TITULACION (ml)	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL
1	0.5	5	1.25	4.87
2	0.5	10	2.0	9.74
3	0.5	20	3.6	20.1
4	0.5	50	8.0	48.72
5	0.5	75	11.9	74.1
6	0.5	100	15	94.25

Tabla 9: Ensayo de estándares a diferentes concentraciones de 5-100 p.p.m

**ENSAYO DE NITROGENO AMONICAL  
POR DESTILACION DE 5 -100 ppm**

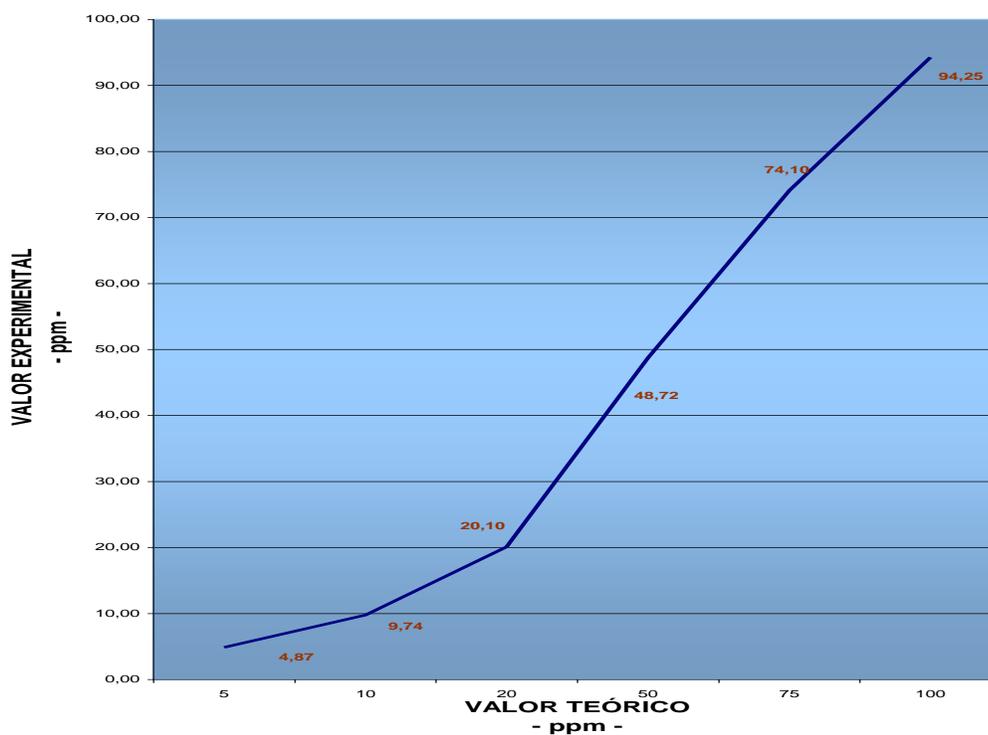


Gráfico 3: Ensayo de nitrógeno amoniacal por destilación de 5 a 100 p.p.m

NUMERO DE ENSAYO	BLANCO	CONCENTRACION TEORICA EN ppm	VOL DE H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> GASTADO EN LA TITULACION (ml)	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL
1	0.5	5	1.25	4.87
2	0.5	10	2.0	9.74
3	0.5	20	3.6	20.1
4	0.5	50	8.0	48.72
5	0.5	75	11.9	74.1
6	0.5	100	15	94.25

Tabla 10: Ensayo de nitrógeno amoniacal por destilación de 5 a 100 p.p.m

**ENSAYO DE NITROGENO AMONIACAL  
POR DESTILACION DE 5 -100 ppm**

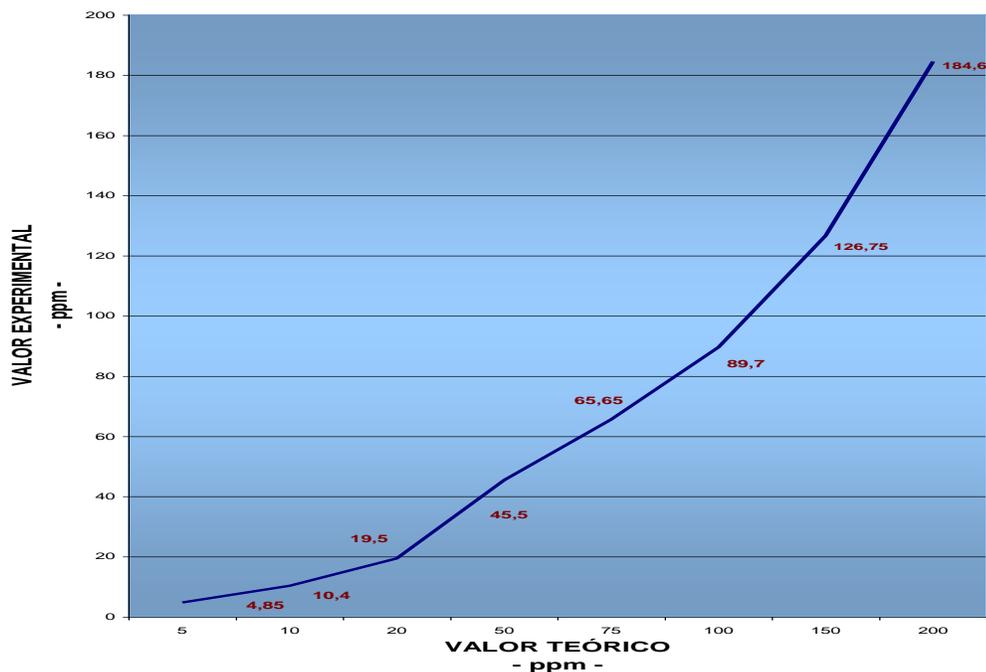


NUMERO DE ENSAYO	BLANCO	CONCENTRACION TEORICA EN ppm	VOL DE H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> GASTADO EN LA TITULACION (ml)	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL
1	0.5	5	1.3	4.85
2	0.5	10	2.1	10.4
3	0.5	20	3.5	19.5
4	0.5	50	7.5	45.5
5	0.5	75	3.6	65.65
6	0.5	100	14.3	89.7
7	0.5	150	20.75	126.75
8	0.5	200	28.9	184.6

Tabla 11: Ensayo de nitrógeno amoniaco por destilación de 5 a 200 p.p.m

NOTA: se corrió la curva con valores mínimos hasta valores por encima de los estipulados en el estándar

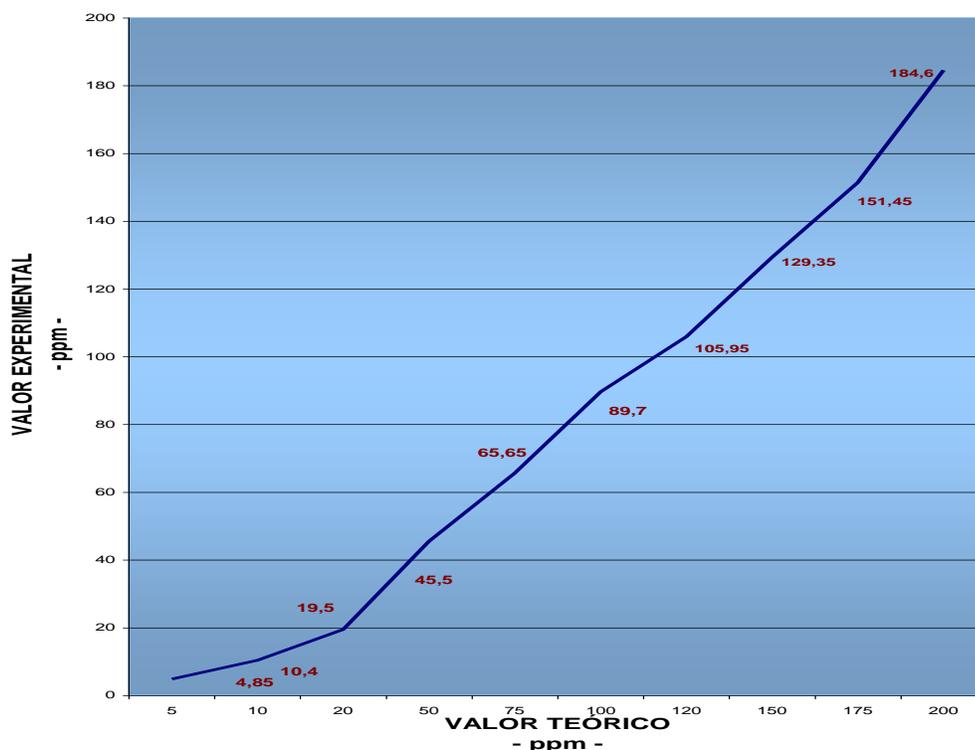
**ENSAYO DE NITROGENO AMONIACAL  
POR DESTILACION DE 5 - 200 ppm**



NUMERO DE ENSAYO	BLANCO	CONCENTRACION TEORICA EN ppm	VOL DE H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> GASTADO EN LA TITULACION (ml)	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL
1	0.5	5	1.3	4.85
2	0.5	10	2.1	10.4
3	0.5	20	3.5	19.5
4	0.5	50	7.5	45.5
5	0.5	75	3.6	65.65
6	0.5	100	14.3	89.7
7	0.5	120	16.8	105.95
8	0.5	150	20.4	129.35
7	0.5	175	23.8	151.45
8	0.5	200	28.9	184.6

Tabla 12: Ensayo de nitrógeno amoniacal por destilación de 5 a 200 p.p.m

**ENSAYO DE NITROGENO AMONIAICAL  
POR DESTILACION DE 5 - 200 ppm**

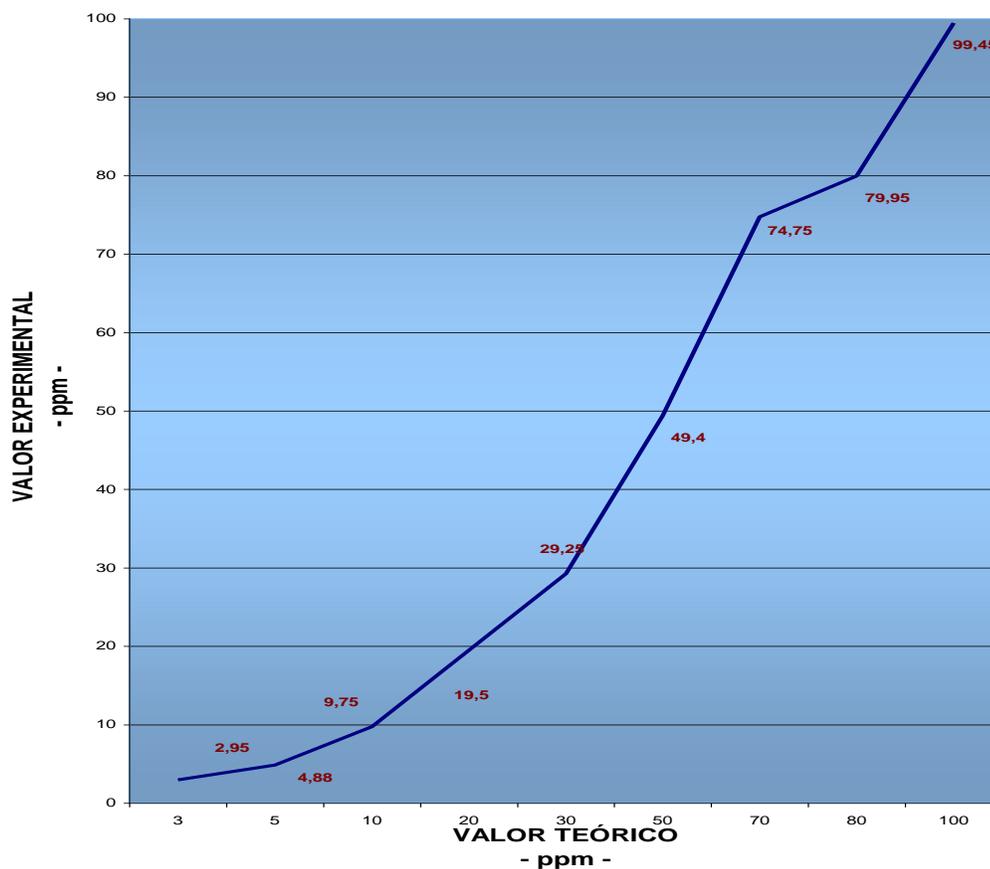


NUMERO DE ENSAYO	BLANCO	CONCENTRACION TEORICA EN ppm	VOL DE H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> GASTADO EN LA TITULACION (ml)	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL
1	0.5	3	0.95	2.95
2	0.5	5	1.25	4.875
3	0.5	10	2.0	9.75
4	0.5	20	3.5	19.5
5	0.5	30	5.0	29.25
6	0.5	50	8.1	49.4
7	0.5	70	12	74.75
8	0.5	80	12.8	79.95
9	0.5	100	15.8	99.45

Tabla 13: Ensayo de nitrógeno amoniacal por destilación de 5 a 100 p.p.m

NOTA: se corrió la curva con un valor de una concentración mínima de 3 ppm

**ENSAYO DE NITROGENO AMONICAL  
POR DESTILACION DE 5 -100 ppm**

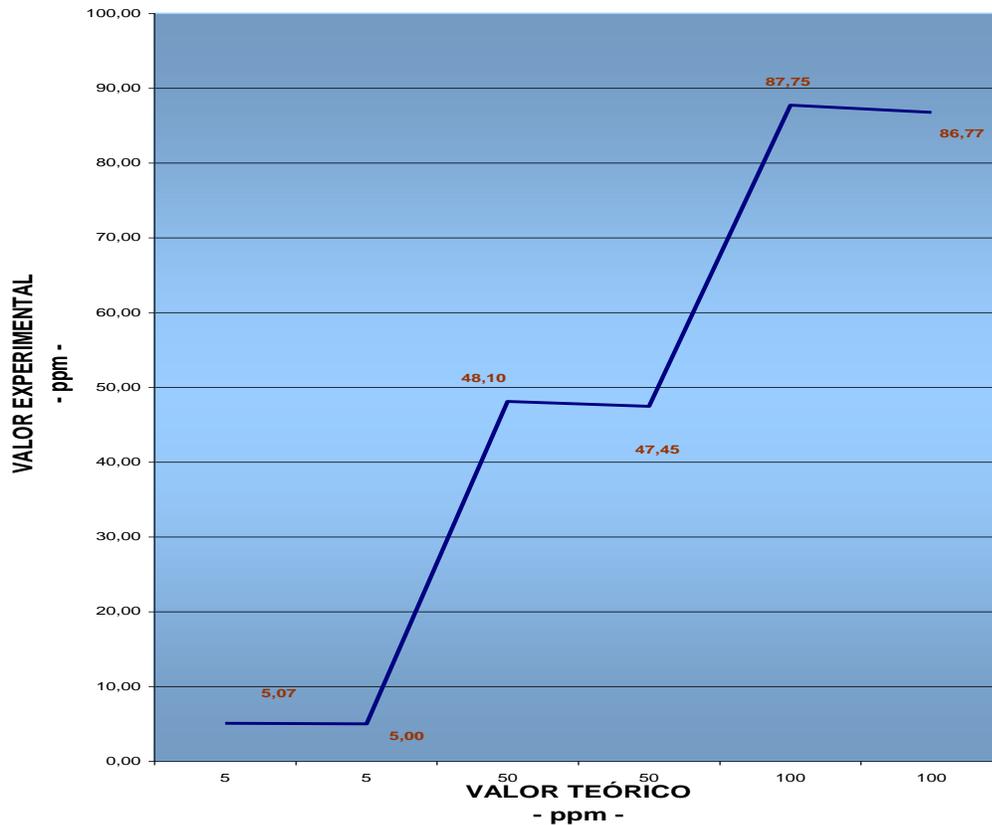


NUMERO DE ENSAYO	BLANCO	CONCENTRACION TEORICA EN ppm	VOL DE H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> GASTADO EN LA TITULACION (ml)	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL
1	0.5	5	1.28	5.07
2	0.5	5	1.27	5.00
3	0.5	10	7.9	48.1
4	0.5	10	7.8	47.45
5	0.5	100	14	87.75
6	0.5	100	13.85	86.77

Tabla 14: Ensayo de nitrógeno amoniacal por destilación de 5 a 100 p.p.m

NOTA: se corrió la curva tomando por duplicado en rangos bajo, medio, alto

**ENSAYO DE NITROGENO AMONICAL  
POR DESTILACION DE 5 -100 ppm  
Con repetición**



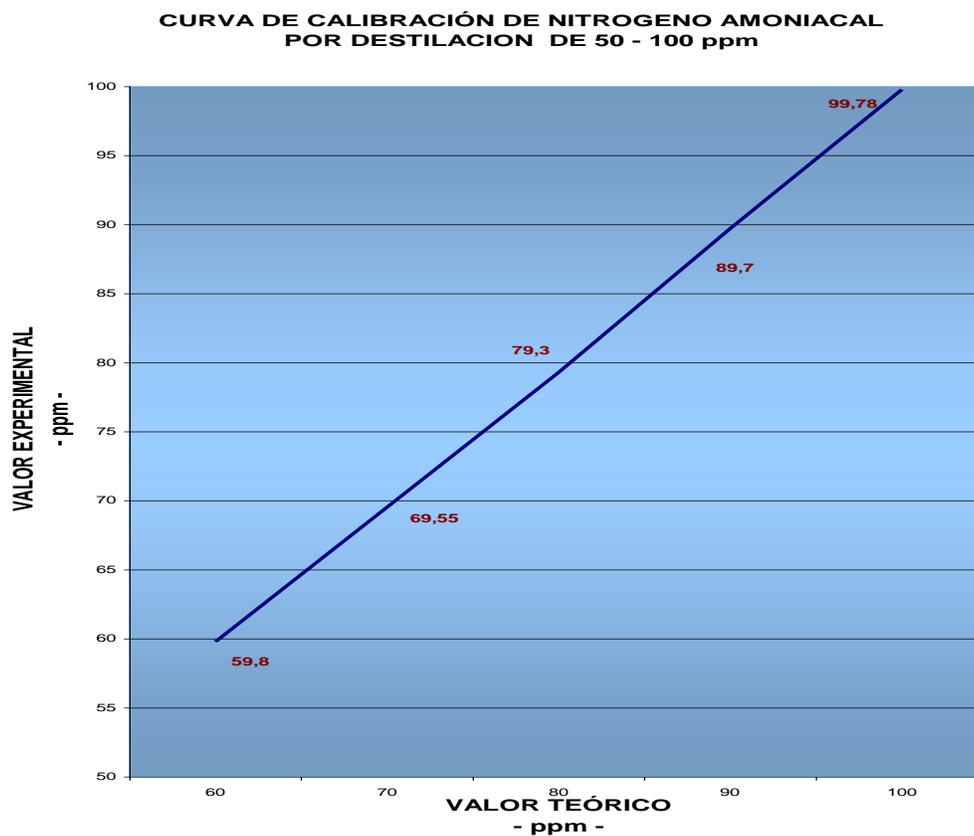
NUMERO DE ENSAYO	BLANCO	CONCENTRACION TEORICA EN ppm	VOL DE H2SO4 GASTADO EN LA TITULACION (ml)	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL
1	0.5	3	0.95	2.95
2	0.5	5	1.2	4.55
3	0.5	10	2.0	9.75
4	0.5	15	2.8	14.95
5	0.5	20	3.5	19.83
6	0.5	25	4.3	24.7
7	0.5	30	5.1	29.9
8	0.5	35	5.8	34.45
9	0.5	40	6.6	39.65
10	0.5	45	7.0	44.85
11	0.5	50	8.15	49.73

Tabla 15: Ensayo de nitrógeno amoniacal por destilación de 5 a 50 p.p.m

NUMERO DE ENSAYO	BLANCO	CONCENTRACION TEORICA EN ppm	VOL DE H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> GASTADO EN LA TITULACION (ml)	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL
1	0.5	60	9.7	59.8
2	0.5	70	11.2	69.55
3	0.5	80	12.7	79.3
4	0.5	90	14.3	89.7
5	0.5	100	15.85	99.78

Tabla 16: Ensayo de nitrógeno amoniacal por destilación de 60 a 100 p.p.m

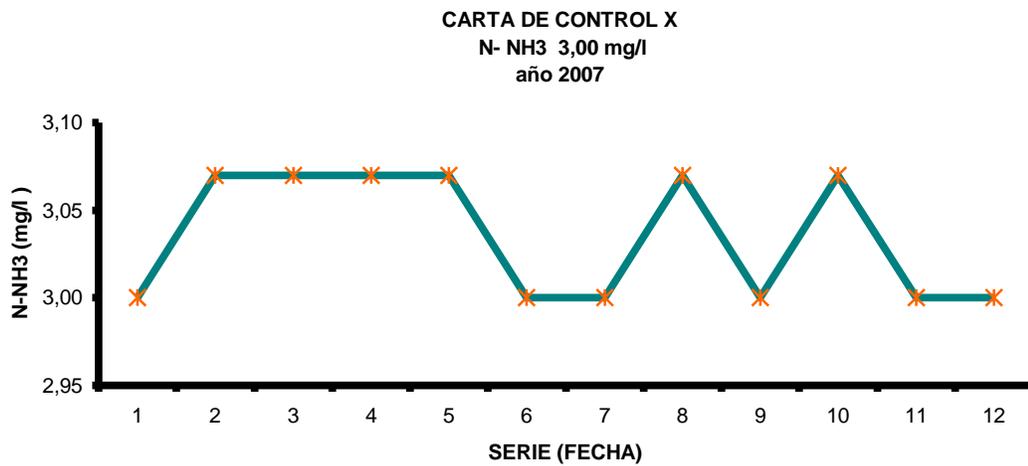
NOTA: se corrió la curva con los valores altos



Anexo 9: Cartas de control de los estándares del método nitrógeno amoniacal por destilación:

No. SERIE	X1	X2	X MEDIA
1	3	3	3,00
2	3,07	3,07	3,07
3	3,07	3,07	3,07
4	3,07	3,07	3,07
5	3,07	3,07	3,07
6	3	3	3,00
7	3	3	3,00
8	3,07	3,07	3,07
9	3	3	3,00
10	3,07	3,07	3,07
11	3	3	3,00
12	3	3	3,00
PROMEDIO			3,04
DESV.EST			0,04
LSC			3,14
LIC			2,93
LAS			3,11
LAI			2,96

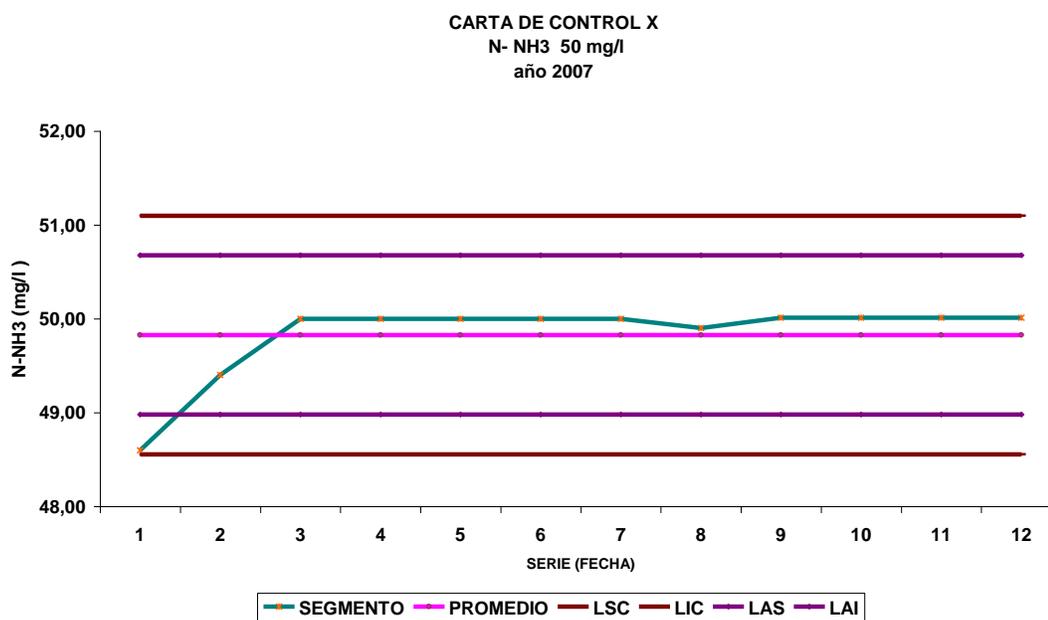
Tabla 17: Parámetros estadísticos para construir la carta x del estándar de 3mg/L de N-NH<sub>3</sub>



Datos para elaborar la carta X  
N-NH<sub>3</sub>

No. SERIE	X1	X2	X MEDIA
1	48,6	48,6	<b>48,60</b>
2	49,40	49,40	<b>49,40</b>
3	50,00	50,00	<b>50,00</b>
4	50,00	50,00	<b>50,00</b>
5	50,00	50,00	<b>50,00</b>
6	50,00	50,00	<b>50,00</b>
7	50,00	50,00	<b>50,00</b>
8	49,90	49,90	<b>49,90</b>
9	50,01	50,01	<b>50,01</b>
10	50,01	50,01	<b>50,01</b>
11	50,01	50,01	<b>50,01</b>
12	50,01	50,01	<b>50,01</b>
<b>PROMEDIO</b>			<b>49,83</b>
<b>DESV.EST</b>			<b>0,42</b>
<b>LSC</b>			<b>51,10</b>
<b>LIC</b>			<b>48,56</b>
<b>LAS</b>			<b>50,68</b>
<b>LAI</b>			<b>48,98</b>

Tabla 18: Carta de control X para N NH<sub>3</sub> Estándar 50 mg/L Año 2007



No. SERIE	X1	X2	X MEDIA
1	98,4	98,4	<b>98,40</b>
2	98,40	98,40	<b>98,40</b>
3	99,70	99,70	<b>99,70</b>
4	99,70	99,70	<b>99,70</b>
5	99,70	99,70	<b>99,70</b>
6	99,70	99,70	<b>99,70</b>
7	99,80	99,80	<b>99,80</b>
8	99,80	99,80	<b>99,80</b>
9	100,03	100,03	<b>100,03</b>
10	100,03	100,03	<b>100,03</b>
11	100,03	100,03	<b>100,03</b>
12	100,03	100,03	<b>100,03</b>
<b>PROMEDIO</b>			<b>99,61</b>
<b>DESV.EST</b>			<b>0,58</b>
<b>LSC</b>			<b>101,36</b>
<b>LIC</b>			<b>97,86</b>
<b>LAS</b>			<b>100,78</b>
<b>LAI</b>			<b>98,44</b>

Tabla 19: Carta de control X para N NH<sub>3</sub> Estándar 100 mg/L Año 2007

