

la descarga, hasta que se retira de ella; la relación de estos dos valores permite conocer el caudal en ese intervalo de tiempo. Este es un método sencillo y confiable.

Muestreo en la quebrada.

La muestra de la quebrada debe ser integrada, es decir, mezcla de muestras puntuales tomadas de diferentes puntos simultáneamente, o lo más cerca posible en un mismo ancho y a diferentes niveles de profundidad. Así se obtienen datos para un valor promedio del ancho y de lo profundo. Con esta información se calcula el área de la quebrada para usarla en la medida de caudal. Para la evaluación del caudal se puede utilizar una botella plástica con un poco de agua para igualar la velocidad de superficie y de profundidad; la velocidad se debe medir varias veces. La muestra de la quebrada se compone como las de proceso.

A continuación se presentan las condiciones en que se debe preservar la muestra, la cantidad necesaria según el análisis a realizar y el tiempo máximo de preservación para cada una de las variables.

Tabla A1. Preservación de muestras.

Parámetro	Recipiente	Vlr mínimo (ml)	Preservación	Tiempo máximo
Acidez	Plástico Vidrio (B)	100	Refrigeración	24 h/14 días
Alcalinidad	Plástico Vidrio	200	Refrigeración	24 h/14 días
Aceites y grasas	Vidrio boca ancha	1000	H ₂ SO ₄ , hasta pH<2 Refrigeración	24 horas
DBO5	Plástico Vidrio	1000	Refrigeración	6 h/48 h
DQO	Plástico Vidrio	100	H ₂ SO ₄ , hasta pH<2 Analizar tan pronto como sea posible	7 d/28 d
Cloruro	Plástico	100	No requerida	7 días
Cloro residual	Plástico Vidrio	500	Analizar inmediatamente	0.5 horas
Cianuro total	Plástico Vidrio	500	NaOH hasta pH>12 Refrigeración	24 h si hay sulfuros 14 días
Dureza	Plástico	100	HNO ₃ hasta pH<2	7 días

	Vidrio			
Metales	Plástico (A) Vidrio (A)		Para metales disueltos filtrar inmediatamente HNO ₃ hasta pH<2	6 meses
Cromo VI	Plástico (A) Vidrio (A)	300	Refrigerar	24 horas
Mercurio	Plástico (A) Vidrio (A)	500	HNO ₃ hasta pH<2 Refrigerar a 4°C	28 días
Boro	Plástico	100	No requiere	28 d/ 6 meses
Pesticidas	Vidrio (S)		Refrigerar 1000 mg ácido ascórbico/l si hay claro residual	7 días/14 días
Plaguicidas organoclorados	Vidrio ámbar boca angosta	1000		
Nitrógeno amoniacal	Plástico Vidrio	500	H ₂ SO ₄ , hasta pH<2 Refrigerar	7 días/28 días
Nitratos	Plástico Vidrio	100	Analizar tan pronto como sea posible	48 horas
Nitritos	Plástico Vidrio	200	H ₂ SO ₄ , hasta pH<2 Refrigerar	Ninguno/ 28 días
Nitrógeno orgánico	Plástico Vidrio	500	H ₂ SO ₄ , hasta pH<2 Refrigerar	7 días/28 días
Fenoles	Plástico Vidrio	500	H ₂ SO ₄ , hasta pH<2 Refrigerar	24 días
Carbón orgánico total	Vidrio ámbar	100	H ₂ SO ₄ , hasta pH<2 Refrigerar	Inmediatamente si es posible
Dióxido de carbono	Plástico Vidrio	100	Analizar inmediatamente	
Fosfato	Vidrio (A)	100	Para fosfato disuelto filtrar inmediatamente y refrigerar	48 horas
Sólidos totales	Plástico Vidrio	100	Refrigerar	7 días
Sólidos disueltos	Plástico Vidrio	100	Refrigerar	7 días
Sólidos suspendidos	Plástico Vidrio	100	Refrigerar	7 días
Sulfatos	Plástico Vidrio		Refrigerar	7 días
Sulfuros	Plástico Vidrio	100	Refrigerar Agregar 4 gotas de acetato de zinc 2N/100 ml y agregar NaOH a pH>9	
Oxígeno disuelto con electrodo			Analizar inmediatamente	
Oxígeno disuelto con Winkler	Botella Winkler	300	Fijar con sulfato de manganeso y álcali yoduro	8 horas
pH			Determinación en sitio	
Temperatura			Determinación en sitio	
Turbiedad	Plástico Vidrio		Analizar el mismo día Almacenar recipiente oscuro, refrigerar	24 horas/ 48 horas
Conductividad			Refrigerar	

Coliformes totales	Vidrio	100	Refrigerar	
Coliformes fecales	Vidrio	100	Refrigerar	
Color	Plástico Vidrio	500	Refrigerar	48 horas
Fluoruros			No requerida	7 días

(A): Enjuagado con 1 agua + 1 HNO₃.

(B): Vidrio de borosilicato.

(S): Vidrio enjuagado con solventes orgánicos.

ANEXO 2.

MÉTODOS DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

Los análisis físico - químicos realizados corresponden al libro Métodos para el Análisis de Aguas Potables y Residuales, APHA, AWWA, WPCF:

1. DQO total al bicromato. Método 5220.C titulométrico – requerimiento de oxígeno químico (ROQ).

Es una medida del contenido de materia orgánica de una muestra susceptible de oxidación por un oxidante químico fuerte. Se prefiere el método de reflujo de dicromato a los procedimientos que utilizan otros oxidantes debido a su mayor capacidad oxidante. Garantiza la oxidación de compuestos orgánicos volátiles como el amoníaco presente en la materia orgánica que contiene nitrógeno.

Para esta determinación se requiere homogeneizar las muestras que contengan sólidos suspendidos para lograr reproducibilidad en los resultados.

Entre las interferencias se encuentran compuestos alifáticos de cadena lineal volátiles, los cuales no se oxidan, por ser volátiles y no entran en contacto con el líquido oxidante. El hierro ferroso y el sulfuro se oxidan cuantitativamente bajo esta prueba (oxidación estequiométrica). La muestra se debe almacenar en frasco de cristal y entregar al laboratorio en el menor tiempo posible; las muestras que tengan sólidos precipitables se deben homogeneizar. Se deben realizar diluciones preliminares de las muestras que contengan ROQ altos para reducir el error inherente a la determinación de volúmenes pequeños de muestra.

2. DBO₅. Método 5210B. Prueba ROB 5 días. Requerimiento de Oxígeno Bioquímico.

La prueba mide el oxígeno utilizado durante un periodo de incubación para la degradación bioquímica de materia orgánica (requerimiento de C) y el oxígeno utilizado para oxidar materia orgánica (como sulfuros y el ion ferroso). Puede medir

también el oxígeno utilizado para oxidar las formas reducidas del nitrógeno (requerimiento de N).

3. Sólidos totales. Método 2540B. Secados a 103-105°C.

Se evaporan 50 ml de muestra, correctamente mezclada en una placa pesada, y seca a peso constante; se lleva al baño María hasta sequedad a 105°C y luego a la estufa a 103-105°C durante media hora, enfriar y pesar. El aumento de peso sobre el de la placa vacía representa los sólidos totales. Estos son los materiales suspendidos y disueltos en aguas residuales. Los sólidos totales incluyen suspendidos totales (porción de sólidos totales retenida en un filtro) y los sólidos disueltos totales (porción que atraviesa un filtro). Se debe evitar la descomposición microbiológica de los sólidos.

4. Sólidos totales suspendidos. Método 2540D. Evaporación y secado a 103-105°C.

Se filtra una muestra bien mezclada por un filtro estándar de fibra de vidrio y el residuo retenido en el mismo se seca a un peso constante a 105°C; el aumento de peso del filtro representa los sólidos totales en suspensión.

La presencia de partículas gruesas o flotantes o aglomerados sumergidos de materiales no homogéneos, deben homogeneizarse. Para las muestras ricas en sólidos disueltos, lavar con mucha agua el filtro con el fin de asegurar la eliminación del material disuelto.

El lavado se realiza con 20 ml de agua destilada tres veces.

5. Sólidos totales disueltos. Método 2540C.

La muestra del agua filtrada para sólidos suspendidos, es llevada al baño María en una cápsula, se evapora hasta sequedad, se lleva a la estufa a 105°C y luego se enfría y se pesa.

6. Aceites y grasas. Método 5520.D. Extracción Soxhlet.

Los aceites y grasas sólidas o viscosas presentes en las muestras líquidas se separan por filtración. Se realiza extracción en un aparato Soxhlet con un disolvente orgánico.

Se pesa el residuo que queda después de la evaporación del solvente para determinar el contenido de aceite y grasa. El método mide cuantitativamente grupos de sustancias con características físicas similares sobre la base de su solubilidad común en el disolvente. La muestra debe ser recogida en una botella de cristal de boca ancha y se debe acidular en el frasco de la muestra.

Se filtran 100 ml de muestra sobre papel de filtro, el cual es llevado al dedal de extracción; se realiza la extracción con el disolvente (170 ml) durante 4 horas, se lleva el papel a la estufa a 105°C durante 30 minutos, se enfría y se pesa el papel.

7. Determinación de nitrógeno. Método 4500 – Kjeldahl: nitrógeno orgánico y amoniacal.

El nitrógeno orgánico se encuentra en productos naturales como, proteína, péptidos, ácidos nucleicos y urea. Es el nutriente esencial para muchos microorganismos autótrofos fotosintéticos, y en algunos casos ha sido identificado como el determinante del crecimiento. El nitrito es un estado intermedio de la oxidación del nitrógeno, tanto en la oxidación del amoníaco a nitrato como en la reducción del nitrato. El amoníaco se encuentra en forma natural en las aguas residuales.

La muestra es sometida a una digestión ácida con calentamiento durante 45 minutos; luego se destila sobre ácido bórico y se titula con ácido.

8. Determinación de fósforo. Método 4500 P.D. cloruro estañoso: desarrollo de color.

Se forma ácido molibdofosfórico que se reduce con cloruro estañoso a azul de molibdeno de color intenso. La muestra se somete a digestión ácida fuerte durante media hora en ebullición, se enfría, se adiciona molibdato de amonio y el cloruro estañoso; leer absorbancia a 690 nm. Realizar curva patrón de fosfato.

9. Detergentes. Método 5540C. Surfactantes aniónicos como SAAM

Las moléculas del surfactante tienden a aglomerarse en las interfaces entre el medio acuoso y las otras fases del sistema. Se debe evitar la formación de espuma, porque

la concentración de surfactante es mayor en la fase de espuma que en el volumen de la fase acuosa.

Las sustancias activas para el azul de metileno (SAAM) llevan a cabo la transferencia del azul de metileno, un tinte catiónico, de una solución acuosa a un líquido orgánico inmiscible, hasta el equilibrio. Esto ocurre a través de la formación de un par iónico entre el anión SAAM y el catión azul de metileno. La intensidad del color azul resultante en la fase orgánica es una medida de la SAAM.

El método consiste en tres extracciones sucesivas en cloroformo a partir del medio acuoso y ácido que contenga azul de metileno en exceso, seguido de lavado por contracorriente con agua; se realiza la determinación por espectrofotometría 652 nm.

10. Determinación de almidones. Método polarimétrico.

Este método está referenciado en el Manual de Procedimiento de Laboratorio de Bromatología y Nutrición Animal, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín.

Consiste en la medida de la desviación de la luz en un plano polarizado por la muestra, esta medida se transforma en concentración; las muestras deben ser clarificadas con acetato de zinc y ferrocianuro de potasio e hidrolizadas con ácido clorhídrico.

11. Sólidos sedimentables. Método 2540-F

Se determinan como el volumen de sólidos en un litro del agua residual que sedimenta después de una hora en un cono Imhoff de 1 litro, los resultados se expresan en ml/l-h. Esta medida se lleva a cabo en la planta después de haber finalizado la caracterización.

Las medidas de caudal, oxígeno disuelto, temperatura y pH se realizan en la planta durante el proceso de caracterización, a través de electrodos de membrana, excepto el caudal, el cual se mide en forma manual volumétrica como se describió en el Anexo 1.

La medida de temperatura es importante debido a que temperaturas elevadas, que resultan de las descargas de agua caliente, pueden tener un impacto ecológico significativo.

ANEXO 3.

MÉTODOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Estos métodos están referenciados en el Manual de Métodos de Análisis Microbiológico. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín.

1. Recuento de coliformes totales y fecales. Método número más probable NMP/100 ml o prueba de los tubos múltiples de fermentación.

Son bacterias que producen ácido a partir de caldo lactosado, indicadoras de fallas en los tratamientos de aguas residuales industriales

Se diluyen 10 ml de la muestra en 90 ml de agua peptonada universal 0.1% p/v; se realizan diluciones por triplicado desde 10^2 hasta 10^{15} ; se adiciona 1 ml de cada dilución a un tubo con 10 ml de caldo LMX utilizando 3 tubos por dilución; incubar a 37°C durante 24 horas.

Si se observa cambio de color del medio amarillo transparente a azul-verdoso y presencia de turbidez es indicativo de la presencia de coliformes totales. Los tubos positivos se llevan a un cuarto oscuro y se iluminan con una lampara de luz ultravioleta. A los tubos que produzcan fluorescencia se les adicionan 3 gotas de reactivo de kovacs (reacciona con el indol). Si forma un color verde-azul fluorescente, se dice que el microorganismo produce indol, considerándose positivo para E. coli.

2. Bacillus totales o esporas aerobias

Se diluyen 10 ml de la muestra en 90 ml de agua peptonada universal 0.1% p/v; se realizan diluciones desde 10^1 hasta 10^{12} , se pasteriza 1 ml de la dilución a 80°C durante 10 minutos y se enfría rápidamente, con el fin de eliminar las formas vegetativas presentes. Luego cada ml es llevado a una caja de petri estéril; se adicionan de 10 a 15 ml. de agar nutritivo; mezclar e incubar a 35°C respectivamente, durante 48 horas. Envolver las cajas en papel vinipel.

3. Recuento de bacterias heterótrofas a 25°C y 32°C

Se diluyen 10 ml de la muestra en 90 ml de agua peptonada universal 0.1% p/v; se realizan diluciones desde 10^2 hasta 10^{12} ; se adiciona 1 ml de cada dilución a una caja de petri estéril, luego adicionar de 10 a 15 ml de agar nutritivo con 2% de glucosa; mezclar e incubar a 25°C y 32° C respectivamente, durante 24 horas. Envolver las cajas en papel vinipel.

4. Recuento de levaduras y hongos.

Se diluyen 10 ml de muestra en 90 ml de agua peptonada universal 0.1% p/v; se realizan diluciones desde 10^1 hasta 10^5 , se adiciona 1 ml de cada dilución a una caja de petri estéril; luego adicionar de 10 a 15 ml de agar YCG; mezclar e incubar a 22°C durante 5 días. Envolver las cajas en papel vinipel.

Para la determinación de hongos, al medio se le adiciona ácido láctico al 1% con el fin de hacer el medio mas específico para hongos y realizar un conteo distinto a la caja donde se realiza el de levaduras.

5. Recuento de bacterias sulfatorreductoras y anaerobias

Se siembra directamente 1 ml de muestra en una caja de petri estéril; luego se adicionan de 10 a 15 ml; de agar TSN (Agar triptona sulfito neomicina); se mezcla y se espera a que el medio solidifique, la caja es llevada a una cámara de anaerobiosis, donde se adiciona el anaerogen y el indicador de anaerobiosis y se incuba durante 72 horas. Las bacterias sulfatorreductoras forman colonias negras; la totalidad de las colonias formadas en esta caja (sulfatorreductoras y colonias blancas) indican la presencia total de bacterias anaerobias.

6. Recuento de bacterias fijadoras de nitrógeno

Se diluyen 10 ml de la muestra en 90 ml de agua peptonada universal 0.1% p/v; se realizan diluciones desde 10^1 hasta 10^{12} , se adiciona 1 ml de cada dilución a una caja de petri estéril, luego adicionar de 10 a 15 ml de agar nutritivo; mezclar e incubar a 22°C durante 5 días. Envolver las cajas en papel vinipel.