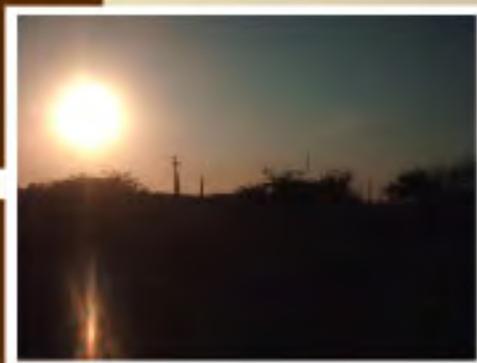




**ANALISIS
DE LAS
CARACTERISTICAS
FISICO-QUIMICAS
DE AGUAS Y SUELOS
DE CULTIVOS
ACUICOLAS
INTENSIVOS
Y SUPERINTENSIVOS**



ANALISIS DE LAS CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS DE AGUAS Y SUELOS DE CULTIVOS ACUICOLAS INTENSIVOS Y SUPERINTENSIVOS

Por:

**Sergio Andrés Orduz Tovar
Microbiólogo Industrial
CENIACUA**

**Edna Constanza Erazo
M. Sc. Acuicultura Marina
Zootecnista
CENIACUA**

CENIACUA-COLCIENCIAS

2009



Primera edición
Bogotá D.C, abril de 2009
Prohibida la reproducción o distribución
de este ejemplar por cualquier medio sin
la expresa autorización del autor

copyright © 2009 CENIACUA

Autores:

Sergio Andrés Orduz Tovar
Microbiólogo Industrial
CENIACUA

Edna Constanza Erazo
MSc. Acuacultura Marina
Zootecnista
CENIACUA

Diseño y Diagramación

Rosmery Pérez Ruiz
rosmery.perez@ceniagua.org
cel: 311 8083140
Bogotá, Colombia

AGRADECIMIENTOS

A todo el cuerpo de investigadores, tecnólogos, técnicos y operarios que conforman el personal de CENIACUA por su colaboración en cada una de las fases de este proyecto. En especial a Carlos Andrés Suárez, Marcela Salazar y Thomas Gitterle por su gestión y a Adriana Sofía Cortina por su trabajo en el laboratorio para el logro de este documento.

Agradecimiento especial a Katherine Álvarez Montes, Audrés Patricia González Montes, Karen Lorena Silva Montenegro y Diego Armando García Mejía quienes durante su pasantía profesional, colaboraron en la estandarización e implementación de los protocolos descritos en este documento.



TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN

ABREVIATURAS

1. DESCRIPCIÓN DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS DE AGUAS Y SUELOS
2. PROTOCOLOS IMPLEMENTADOS EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS DE AGUAS Y SUELOS DE CENIACUA – PUNTA CANOAS.
 - 2.1. PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRA DE AGUA EN PISCINAS DE CULTIVO
 - 2.2. PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRA DE SUELOS DE PISCINAS DE CULTIVO
 - 2.3. PROTOCOLOS PARA ANÁLISIS DE AGUAS
 - 2.3.1. Determinación de alcalinidad total
 - 2.3.2. Determinación de la demanda química de oxígeno (DQO)
 - 2.3.3. Determinación de Fósforo hidrosoluble
 - 2.3.4. Determinación de fósforo reactivo (PO_4^{3-})
 - 2.3.5. Determinación de Fósforo total y orgánico
 - 2.3.6. Determinación de amonio (N-NH_4)
 - 2.3.7. Determinación de Nitratos (N-NO_3)
 - 2.3.8. Determinación de nitritos (N-NO_2)
 - 2.3.9. Determinación de nitrógeno Kjeldahl
 - 2.3.10. Determinación de oxígeno disuelto (OD) por el Método de Winkler
 - 2.3.11. Determinación de conductividad eléctrica (CE)
 - 2.3.12. Determinación de pH
 - 2.3.13. Determinación del potencial de oxido reducción (ORP)
 - 2.3.14. Determinación de salinidad
 - 2.3.15. Determinación de sólidos sedimentables
 - 2.3.16. Determinación de sólidos suspendidos y disueltos
 - 2.3.17. Determinación de sólidos totales, fijos y volátiles
 - 2.4. PROTOCOLOS PARA ANÁLISIS DE SUELOS
 - 2.4.1. Determinación del contenido de humedad
 - 2.4.2. Determinación de carbono total
 - 2.4.3. Determinación del porcentaje de cenizas
 - 2.4.4. Determinación de densidad relativa
 - 2.4.5. Textura
 - 2.4.6. Nitrógeno total (Kjendahl)
 - 2.4.7. Preparación pasta y extracto de saturación
 - 2.4.8. Determinación de pH
 - 2.4.9. Determinación del tamaño en húmedo de grano
 - 2.4.10. Determinación del tamaño en seco de grano
- 2.5. TABLAS DE REFERENCIA DE PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS DE AGUAS DE CULTIVO DE CAMARÓN EN SISTEMAS INTENSIVOS Y SUPERINTENSIVOS CON BIO-FLOC (CENIACUA 2008-2009)

BIBLIOGRAFIA

ANEXOS

Anexo 1. Porcentaje de amonio no ionizado (NH_3) en solución acuosa para diferentes valores de pH y temperatura.

INDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Balanzas usadas en el laboratorio, a) Balanza analítica y b) Balanza gramera
- Figura 2.** a) Horno con rango de temperatura 20-170°C, b) nevera para almacenar muestras y reactivos
- Figura 3.** a) Campana extractora de gases y, b) Equipo de vacío para muestras
- Figura 4.** Equipos especializados. a) Espectrofotómetro UV-VIS, b) Shaker o agitador orbital, c) Tamizador y d) digestor.
- Figura 5.** a) UPS, b) Equipo multiparametro y c) Oxímetro de mesa.
- Figura 6.** Mantas de calentamiento con y sin agitación
- Figura 7.** Tubo de muestreo; consiste en un tubo PVC de mínimo 2.5 pulgadas cortado transversalmente y amarrado con abrazaderas.
- Figura 8.** Formas de realizar un muestreo de suelos.
- Figura 9.** Toma de muestra, se golpea el tubo para enterrarlo a 20 cm de profundidad
- Figura 10.** a) Apertura del tubo de muestreo, b) empaque de muestra
- Figura 11.** Secado de muestra a temperatura ambiente.
- Figura 12.** Equilibrio de Carbonatos
- Figura 13.** Cambio de color por titulación.
- Figura 14.** Cambio de color por titulación con solución FAS.
- Figura 15.** Cambio de color por reacción de fósforo con el Método de Vanadato-Molibdato.
- Figura 16.** Cambio de color por reacción con el amonio. La intensidad del color es proporcional a la concentración de amonio en la muestra.
- Figura 17.** Cuantificación de nitrato (NO₃) en muestras de agua, cabe notar que en esta técnica no se presenta cambio de color.
- Figura 18.** Cambio de color por reacción de nitritos (NO₂) por la técnica con 1-Naftil-etilendiamina.
- Figura 19.** Cambio de color de la muestra por digestión.
- Figura 20.** Proceso de destilación.
- Figura 21.** Cambio de color por titulación
- Figura 22.** Reacción química de consumo de oxígeno en el Método de Winkler.
- Figura 23.** Sedimentación de sales.
- Figura 24.** Solubilización de sales por adición de ácido.
- Figura 25.** Cambio de color por proceso de titulación.
- Figura 26.** Electrodo de Conductividad eléctrica, salinidad y sólidos totales disueltos.
- Figura 27.** Equipo Multiparámetro, (medidor de pH, Conductividad eléctrica, Potencial de oxidación y reducción y salinidad)
- Figura 28.** Electrodo medidor del Potencial de Oxidación Reducción (ORP)
- Figura 29.** Sedimentación de sólidos en conos Imhoff
- Figura 30.** Filtro de nitrocelulosa de 47 mm de diámetro y 0.45 µm de diámetro de poro
- Figura 31.** Crisoles de porcelana
- Figura 32.** Cambio de color por reacción del Carbono con el dicromato de potasio.
- Figura 33.** Proceso de enfriamiento de las cenizas dentro del desecador.
- Figura 34.** Determinación de densidad aparente.
- Figura 35.** Hidrómetro de Bouyoucos
- Figura 36.** Triángulo de suelos.
- Figura 37.** Cambio de color de la muestra por digestión.
- Figura 38.** Proceso de destilación.
- Figura 39.** Titulación de la muestra
- Figura 40.** Embudo de filtración Buchner
- Figura 41.** Filtros de papel
- Figura 42.** Agitación de muestras de suelos
- Figura 43.** Lectura de pH
- Figura 44.** Proceso de filtración (a) y lavado (b y c) por tamices de diferente tamaño
- Figura 45.** Resultado del filtrado del suelo.
- Figura 46.** Diferentes tamaños de grano, a) granos entre 53-63µm, b) granos entre 63-150 µm, c) granos entre 150-225µm, d) granos entre 250-500µm, e) granos entre 500µm-2mm y f) granos mayores a 2mm

INDICE DE TABLAS

- Tabla 1.** Preservantes usados para transporte o almacenamiento de muestras.
Tabla 2. Preparación de curva de calibración de fosfatos (PO_4^{-3})
Tabla 3. Preparación de curva de calibración de fosfatos (PO_4^{-3})
Tabla 4. Preparación de curva de calibración de fosfatos (PO_4^{-3})
Tabla 5. Preparación de curva de calibración de amonio (NH_4^+)
Tabla 6. Preparación de curva de calibración de nitratos (NO_3^-)
Tabla 7. Preparación de curva de calibración de nitritos (NO_2^-)
Tabla 8. Preparación de curva de calibración de carbono
Tabla 9. Registro densidades
Tabla 10. Tanques de concreto 125 m²(época seca)
Tabla 11. Tanques de concreto 125 m² (época lluviosa)
Tabla 12. Tanques de fibra de vidrio 50 m² (época seca)
Tabla 13. Tanques de fibra de vidrio 50 m² (época lluviosa)
Tabla 14. Piscinas superintensivas 500 m² (época seca)
Tabla 15. Piscinas superintensivas 500 m² (época lluviosa)

ABREVIATURAS

- **μL:** microlitros
- **μm:** micrómetros
- **Abs:** Absorbancia
- **CE:** Conductividad eléctrica
- **cm:** Centímetros
- **CT:** Carbono total
- **DQO:** Demanda Química de Oxígeno
- **g:** gramos
- **kg:** Kilogramos
- **M.O:** Materia orgánica
- **M:** Molaridad
- **mL:** mililitros
- **N:** Normalidad
- **NH₃:** Amoniacó
- **N-NH₄/NH₄⁺:** Amonio
- **N-NO₂/NO₂⁻:** Nitrito
- **N-NO₃/NO₃⁻:** Nitratos
- **OD:** Oxígeno disuelto
- **ORP:** Potencial de oxido reducción
- **ppm:** partes por millón, equivalente a mg/L
- **P-PO₄/PO₄⁻³:** Fosfatos
- **ppt:** Gramo por litro o partes por mil (en ingles)
- **VMo:** Vanadato molibdato.
- **d:** densidad
- **NT:** Nitrógeno total.
- **% v/v:** mililitros de soluto por cada 100 mL de mezcla.
- **% p/v:** gramos de soluto por cada 100 mL de solvente.
- **PT:** Fósforo total

INTRODUCCION

La intensificación de los sistemas de cultivo ha sido la tendencia de la acuicultura en los últimos años. Esta intensificación se debe a la dificultad en la consecución de tierras, a la formulación de estrictas políticas de conservación del medio ambiente y principalmente, a la necesidad de incrementar la productividad y competitividad de las industrias. En Colombia, se han venido aumentando, en forma paulatina, las densidades de siembra del *Penaeus vannamei*, cambiando la producción de los sistemas semi-intensivos tradicionales a sistemas intensivos, e inclusive súper intensivos. Esta intensificación torna a los cultivos más dependientes de la calidad del agua y del suelo. En sistemas de alta densidad, la dinámica de los compuestos nitrogenados, el carbono y demás nutrientes y su relación con las poblaciones de bacteria heterótrofas, fitoplancton y zooplancton, son primordiales para el rendimiento de las piscinas de cultivo.

CENIACUA ha trabajado desde el año 2001 en la implementación de sistemas super intensivos de producción de *P vannamei*, en presencia de biofloc bacteriano, una de las actividades de innovación tecnológica del sector productivo. Con el desarrollo de estos proyectos se identificó la necesidad de monitorear con mayor precisión la dinámica fisicoquímica de este tipo de cultivos.

En el año 2007, COLCIENCIAS a través del proyecto "Fortalecimiento del monitoreo de la calidad de aguas y suelos para acuicultura de Colombia" apoya el fortalecimiento del laboratorio de análisis de aguas y suelos de CENIACUA, por medio de la actualización técnica y la capacitación del cuerpo de investigadores de esta institución. En esta cartilla se hacen públicos los resultados de este proyecto de 18 meses de duración, que incluyen la descripción de los equipos disponibles, los protocolos de los Métodos que fueron implementados en el laboratorio y que actualmente se encuentran disponibles para el análisis de muestras provenientes del sector acuícola y la descripción del comportamiento de las variables analizadas durante dos épocas climáticas definidas (lluviosa y seca) en las diferentes áreas de cultivo de camarón de CENIACUA – Punta Canoa.

Esta cartilla está dirigida al personal técnico capacitado en análisis de aguas y suelos en explotaciones acuícolas.



1. DESCRIPCIÓN DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS DE AGUAS Y SUELOS

Los equipos básicos con los que debe contar un laboratorio de análisis de aguas y suelos son los siguientes:

Las balanzas (analítica y gramera) (figura 1), donde la primera tiene la sensibilidad adecuada para pesar pequeñas cantidades de reactivos, favoreciendo la precisión en los procesos analíticos, mientras que la segunda es de utilidad cuando se pesan grandes cantidades que pueden dañar o descalibrar la balanza analítica.

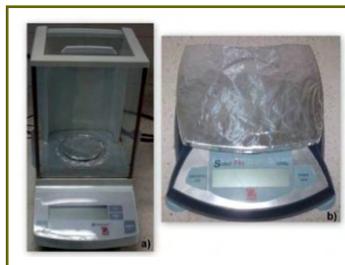


Figura 1. Balanzas usadas el al laboratorio, a) Balanza analítica y b) Balanza gramera

El horno de secado (hasta 170°C) (figura 2a) utilizado en los procesos previos de secado de los reactivos ya que estos pueden adquirir humedad generando falsos valores de peso o, materiales los cuales se requieren totalmente secos como crisoles.

La nevera (Figura 2b), equipo fundamental para la conservación en buen estado de muestras reactivos y/o soluciones de trabajo.

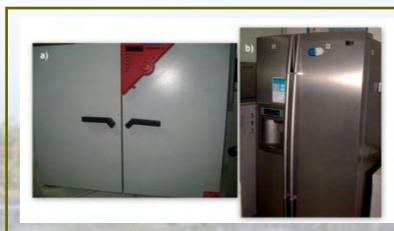


Figura 2. a) Horno con rango de temperatura 20-170°C, b) nevera para almacenar muestras y reactivos

La campana extractora de gases (figura 3a) ocupa un lugar muy importante en el laboratorio. Este equipo protege al personal de gases nocivos o de reacciones exotérmicas y se considera indispensable para el manejo de sustancias peligrosas y seguridad industrial.

El equipo de filtración de muestras (figura 3b), consiste en un motor de vacío acoplado a un soporte del filtro, este facilita el proceso de filtrado de muchas muestras favoreciendo la agilidad en los procesos y la entrega pronta de resultados.



Figura 3. a) Campana extractora de gases y, b) Equipo de vacío para muestras

En el laboratorio de química, el uso de equipos especializados incrementa las posibilidades de análisis. El espectrofotómetro UV-VIS (figura 4a) maneja longitudes de onda variable (110-1100nm) apropiadas para técnicas colorimétricas y espectrofotométricas (para análisis de nitritos, nitratos, amonio y fósforo). El Shaker o agitador orbital (figura 4b), suele ser de utilidad para mezclar algunas soluciones de difícil disolución, ó para análisis en suelos como el pH y pasta de saturación entre otros. Para suelos es también utilizado el tamizador, un equipo robusto que permite el proceso de tamizado separando los granos en suelos dependiendo de su tamaño (figura 4c).

El digestor, toma importancia para el análisis de nitrógeno y fósforo total (figura 4d). Este cuenta con varias hornillas que calientan balones donde está ubicada la muestra a digerir, este equipo debe manejarse en la cámara extractora de gases.

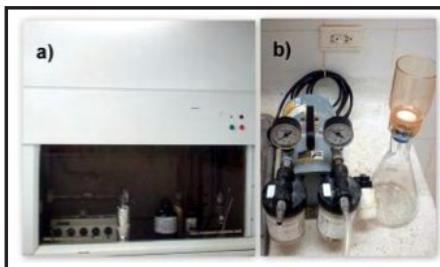


Figura 4. Equipos especializados. a) Espectrofotómetro UV-VIS, b) Shaker o agitador orbital, c) Tamizador y d) digestor.

Por último, existen equipos que no son indispensables pero son de gran utilidad, es el caso de la UPS (figura 5a), un equipo de regulación eléctrica y con capacidad de almacenar energía, con este se puede proteger equipos delicados como el pHmetro (figura 5b) oxímetro (figura 5c), el espectrofotómetro UV-VIS y el computador de registro de datos. Otro equipo útil son las mantas de calentamiento con o sin agitación orbital (figura 6), muchas pruebas requieren mantener temperaturas altas con agitación constante.



Figura 5. a) UPS, b) Equipo multiparametro y c) Oxímetro de mesa.



Figura 6. Mantas de calentamiento con y sin agitación

2. PROTOCOLOS IMPLEMENTADOS EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS DE AGUAS Y SUELOS DE CENIACUA – PUNTA CANOAS.

La cantidad de muestra, la forma de extracción y conservación de la misma, es determinante en el momento de analizar las características físicas y químicas de una piscina de cultivo. Un protocolo estandarizado de toma de muestra favorece la validación de los resultados de los análisis en cuestión.

2.1. PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRA DE AGUA EN PISCINAS DE CULTIVO

Alcance

Este procedimiento aplica para muestra de aguas en general.

Materiales e Insumos

- Botella de vidrio de 1 litro.
- Acido clorhídrico concentrado
- Acido sulfúrico concentrado
- Nevera de icopor
- Gel refrigerante

Pretratamiento de las botellas

- Las botellas de vidrio deben ser previamente lavadas con una solución de jabón Extran 5% v/v y enjuagar con abundante agua destilada.
- Enjuagar con una solución de acido sulfúrico 2 N o con acido clorhídrico 1%
- Enjuagar con abundante agua destilada.

Toma de muestra

- Sumergir la botella de vidrio de un litro a 20 cm de profundidad
- Dejar llenar totalmente.
- Agregar preservante (tabla 1) - en la hoja siguiente-
- Refrigerar inmediatamente en una nevera de icopor con gel refrigerante.

Precaución

En este procedimiento se manipulan acido fuertes, los cuales son altamente corrosivos, manéjese con precaución.

Bibliografía

- Boyd, C. 1992. Water Quality Pond Soil Analyses For Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University.
- Armada nacional, Dirección general de Cartagena. 1993. Manual de Técnicas Analíticas de Parámetros Físicos – Químicos y Contaminantes Marinos. Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas. Cartagena, Colombia.
- Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association. Washington DC.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1993. Office of research and development U.S. environmental protection agency. Cincinnati, Ohio

Tabla 1. Preservantes usados para transporte o almacenamiento de muestras.

DETERMINACIÓN	PRESERVANTE (1 LITRO)	TIEMPO DE PRESERVACIÓN PARA TRASPORTE
Nitratos	Refrigerar 4 °C	48 horas
Nitritos	1 mL de H ₂ SO ₄ conc.	7 días
	Refrigerar 4 °C (preferiblemente)	24 horas
Amonio	1 mL de H ₂ SO ₄ conc.	7 días
	1 mL de HCl 0.1N	5 días
	Refrigerar 4°C	24 horas
Nitrógeno Kjeldahl	1 mL H ₂ SO ₄ conc y refrigerar 4°C	5 días
Fósforo reactivo	Refrigerar 4°C	2 horas
	Botellas tratadas con I ₂	7 días
	2 mL de H ₂ SO ₄ conc.	7 días
Fósforo hidrolizable	Congelar -10°C	5 días
	Refrigerar a máx 4°C	24 horas
Fósforo total	1 mL HCl conc.	7 días
	Congelar -10°C	5 días
	Refrigerar a máx 4°C	24 horas
	1 mL de H ₂ SO ₄ conc.	7 días
Demanda Química de Oxígeno		
Oxígeno disuelto	Electrométrico, refrigerar a máx. 4°C	Tan pronto sea posible
	Winkler, 1 mL H ₂ SO ₄ conc	3 días
Alcalinidad	Refrigerar 4°C no destapar antes del análisis	Tan pronto sea posible
Sólidos Totales	Refrigerar 4 °C	Tan pronto sea posible
Sólidos suspendidos	Refrigerar 4 °C	Tan pronto sea posible
Sólidos volátiles	Refrigerar 4 °C	Tan pronto sea posible
Sólidos fijos	Refrigerar 4 °C	Tan pronto sea posible
Sólidos sedimentables	Refrigerar 4°C	Tan pronto sea posible
pH	Refrigerar 4°C en oscuridad	1 semana
Conductividad eléctrica	Refrigerar 4°C en oscuridad	1 semana
Salinidad	Refrigerar 4°C en oscuridad	1 semana
Potencial de Oxido Reducción	Refrigerar 4°C en oscuridad	1 semana
Sólidos totales disueltos	Refrigerar 4°C en oscuridad	1 semana

Nota.

Para realizar diferentes análisis, es importante utilizar diferentes botellas dependiendo de la necesidad de la conservación del analito. Una vez lleguen las muestras al laboratorio, almacenar refrigeradas y/o congeladas según sea el caso.

2.2. PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRA DE SUELOS DE PISCINAS DE CULTIVO

Alcance

Este procedimiento aplica para muestra de suelos de acuacultivos.

Materiales e insumos

- Bolsas plásticas Ziploc de 1 kg.
- Draga o tubo de muestreo (figura 7)

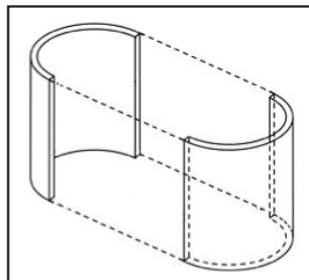


Figura 7. Tubo de muestreo; consiste en un tubo PVC de mínimo 2.5 pulgadas cortado transversalmente y amarrado con abrazaderas.

Toma de muestra

- Tomar una muestra homogénea de 1 kg de suelo de diferentes puntos de un área determinada siguiendo las recomendaciones estipuladas en la figura 8.

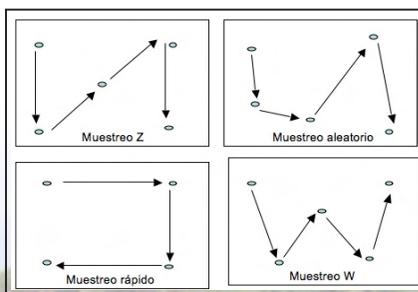


Figura 8. Formas de realizar un muestreo de suelos.

- Para cada punto de muestreo, debe ser tomado con una profundidad de aproximadamente 20 centímetros con una draga, sin embargo, el tubo de muestreo diseñado puede cumplir la misma función. Se debe golpear el tubo para enterarlo a la profundidad deseada (figura 9).



Figura 9. Toma de muestra, se golpea el tubo para enterarlo a 20 cm de profundidad

- Abrir el tubo, sacar la muestra y almacenarlo en bolsas plásticas ziploc de 1 kg, debe registrarse el lugar de toma de muestra y color de la muestra.



Figura 10. a) Apertura del tubo de muestreo, b) empaque de muestra

Trasporte.

Las muestras deben ser transportadas a la menor brevedad al laboratorio para ser procesadas, sin embargo, si el periodo de transporte es largo, deben ser almacenadas en lugares frescos.

Pre tratamiento.

- Las muestras deben ser secadas a temperatura ambiente sobre una superficie lisa (figura 11)



Figura 11. Secado de muestra a temperatura ambiente.

- Una vez secas macerarlas, retirar toda la grava (partículas mayores a 2 mm) tamizando la muestra por tamiz de 2 mm, almacenar con bolsas en un lugar fresco y oscuro.

2.3. PROTOCOLOS PARA ANÁLISIS DE AGUAS

2.3.1. Determinación de alcalinidad total

La alcalinidad es referida a la cantidad de carbonatos (CO_3^{2-}) presentes en la columna de agua, estos son muy importantes porque tienen un efecto buffer al acidificarse la columna de agua ya que pueden retener los protones (H^+) generados por la degradación de la materia orgánica (figura 12), en sistemas acuícolas, la disminución de la alcalinidad podría ocasionar una caída acelerada de pH que puede afectar la fisiología de los animales en cultivo.



Figura 12. Equilibrio de Carbonatos

El valor obtenido con el análisis de alcalinidad total, representa la máxima capacidad de retención de protones por los carbonatos en el sistema acuático y se usa titulación con verde de bromocresol como indicador de pH ya que este cambia de color a pH 4.2 que es el valor de máxima inmovilización de protones por carbonatos.

Objetivo

Determinar la alcalinidad total en mg/L de CaCO_3 de muestras de aguas utilizadas en cultivos acuícolas.

Alcance

Este procedimiento aplica para muestra de aguas utilizadas en la acuicultura.

Método

Alcalinidad total por titulación con verde de bromocresol

Equipos y accesorios

- Bureta de 25 mL
- Beacker 100 mL

Reactivos

- Acido clorhídrico 0.02 N
- Solución indicadora verde de bromocresol

Pre tratamiento

Si la muestra presenta gran cantidad de algas en suspensión, homogenizar y filtrar la muestra con malla de 120 μm ,

Procedimiento

- Tomar 20 mL de muestra filtrada.
- Agregar 2 o 3 gotas de indicador verde de bromocresol
- Titular con acido clorhídrico (HCl) 0.02 N previamente estandarizado, hasta notar un cambio de color (figura 13).

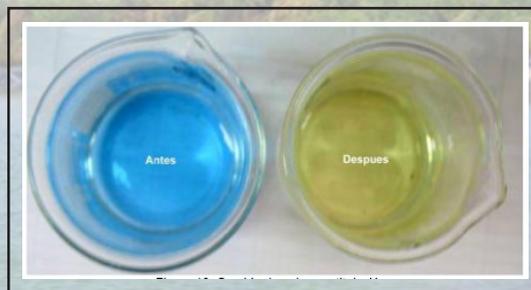


Figura 13. Cambio de color por titulación.

- Anotar el volumen en mililitros (mL) de HCl 0.02 N gastado en la titulación.
- Realizar los cálculos.

Cálculos.

La determinación de la alcalinidad total se realiza por medio de la siguiente ecuación.

$$\text{Alcalinidad total (mg/L CaCO}_3\text{)} = \frac{A \times N \times 50 \times 1000}{B}$$

Donde:

- A:** volumen (mL) de ácido gastado
N: normalidad del ácido
B: volumen (mL) de muestra titulada.

Interferencias

Sólidos suspendidos en grandes concentraciones pueden generar interpretaciones incorrectas del cambio de color del indicador de pH, estos sólidos pueden ser eliminados por filtración, algunos jabones y materia grasa pueden generar interferencias en el viraje de color del indicador.

Impacto ambiental generado en esta actividad

Este procedimiento no produce un impacto ambiental considerable, el HCl 0.02 N puede ser descartado diluyéndolo con abundante agua.

Impactos para la salud

En la preparación de reactivos se manipulan ácidos fuertes, manipular bajo campana extractora de gases y el uso de guantes de nitrilo es indispensable.

Preparación de soluciones y reactivos.**Ácido clorhídrico 0.02N**

- En un balón aforado de 250 mL agregar 100 mL de agua destilada.
- Agregar 420 μ L HCl concentrado y mezclar
- Aforar a 250 mL con agua destilada.
- Almacenar en un frasco limpio y etiquetar.
- Estandarizar el HCl con tris-hidroximetil. amino metano de la siguiente manera (*):
- Pesar una cantidad en gramos o miligramos de tris-hidroximetil. amino metano
- En un beaker de 100 mL, agregar 25 mL de agua destilada y el tris-hidroximetil, amino metano.
- Titular con HCl y registrar el volumen de HCl gastado en la titulación.
- Determinar la Normalidad del HCl a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Normalidad HCl} = \frac{W_{sal}}{mL(HCl) \times 121.14}$$

Donde:

W_{sal}: Peso (mg) del tris-hidroximetil, amino metano

mL(HCl): Mililitros de HCl gastados en la titulación.

(*) El ácido debe ser estandarizado cada vez que se prepara.

Solución de verde de bromocresol.

- Pesar 50 mg de verde de bromocresol en polvo
- Aforar a 50 mL con agua destilada
- Almacenar en un frasco ámbar limpio y etiquetar.

Bibliografía

- Boyd, C. 1992. Water Quality Pond Soil Analyses For Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University.
- Armada nacional, Dirección general de Cartagena. 1993. Manual de Técnicas Analíticas de Parámetros Físicos – Químicos y Contaminantes Marinos. Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas. Cartagena, Colombia.
- Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, method 2320. Washington DC.

2.3.2. Determinación de la demanda química de oxígeno (DQO)

La materia orgánica presente en aguas puede asociarse al grado de contaminación del sistema (Carga orgánica). La manera de medir la materia orgánica susceptible a la oxidación es por reacciones con dicromato de potasio catalizado con ácido sulfúrico, esta técnica es denominada Demanda Química de Oxígeno (DQO) y se fundamenta en la cuantificación del cromo residual después de reaccionar con compuestos carbonados. Este Método puede indicar de manera indirecta la cantidad de carbono disponible en el sistema lo que puede favorecer a los análisis de carbono en la columna de agua, sin embargo debe complementarse con el Método de cuantificación de CO₂ residual por digestión de la muestra mediante la técnica del dicromato de potasio.

Método

Oxidación con dicromato de potasio, catalizado con ácido sulfúrico, cuantificación de cromo residual por titulación con solución sulfato ferroso de amonio.

Objetivo

Determinar la Demanda Química de Oxígeno (DQO) como mg O₂/L en aguas.

Alcance

Este procedimiento aplica para muestras de aguas en general.

Equipos y accesorios

- Campana extractora de gases
- Manta de calentamiento con agitación magnética
- Pipetas volumétricas de 5 mL
- Pipetas volumétricas de 10 mL
- Pipetas aforadas de 10 mL
- Beacker de 100 mL
- Agitadores magnéticos
- Bureta de 25 mL
- Pipeta automática de 20-200 µL

Reactivos

- Agua destilada
- Solución de dicromato de potasio
- Ácido sulfúrico concentrado
- Solución FAS 0.25 M
- Indicador de ferroína

Recolección de muestra

Debe ser recolectada en frascos de vidrio, conservar con ácido sulfúrico concentrado, en proporción de 1 mL por litro y transportar refrigerados a 4°C (máximo).

Pre-tratamiento de la muestra

No es necesaria ningún pre tratamiento, pero antes de procesar debe ser homogenizada para poder tener una muestra representativa.

Procedimiento

- Tomar 10 mL de muestra y agregarlos en un beacker de 100mL
- Agregar 6 mL de solución de dicromato de potasio
- Agregar lentamente 14 mL ácido sulfúrico concentrado, agitar constantemente (La reacción es exotérmica y se liberan gases, manipular con precaución y bajo campana extractora de gases).
- Tapar el beacker y ubicarlo sobre una plancha de calentamiento precalentada a 150°C durante dos horas.
- Dejar enfriar
- Agregar 100 µL de indicador de ferroina
- Titular con solución FAS 0.25 M, hasta que la muestra torne color verde esmeralda.
- Tomar los mililitros gastados de solución FAS



Figura 14. Cambio de color por titulación con solución FAS.

Nota: Usar agua destilada como blanco.

Cálculos

$$\text{DQO: mg O}_2/\text{L} = \frac{(A-B) \times M \times 8000}{\text{mL muestra}}$$

Donde:

A: mL Fas gastados en Muestra

B: mL de FAS gastados en Blanco

M: Molaridad FAS

Calibración y mantenimiento

La solución FAS debe ser estandarizada con solución de dicromato de potasio con la siguiente fórmula:

$$\text{Molaridad sin FAS} = \frac{\text{volumen de } K_2Cr_2O_7 \text{ 0.0167M (mL)}}{\text{volumen de FAS gastado (mL)}} \times 0.10$$

Interferencias

Volátiles orgánicos de cadena corta no son oxidados considerablemente, ya que están disueltos en espacios gaseosos que no entran en contacto con la solución oxidante. Para esto el uso de sulfato de plata (Hg_2SO_4), sin embargo esta sal puede reaccionar con cloruros, yoduros y bromuros, produciendo precipitados que son oxidados parcialmente.

Impactos a la salud

Se manipulan reactivos altamente nocivos, como es el dicromato de potasio, al preparar las soluciones usar máscara de gases y guantes de nitrilo. Durante el procedimiento, la manipulación de solución de dicromato de potasio y ácido sulfúrico involucra uso constante de guantes de nitrilo y trabajar bajo campana extractora de gases.

Impactos ambientales

Este procedimiento produce impacto ambiental considerable, el cromo es considerado metal pesado, por lo cual deben ser descartados apropiadamente y enviados a su respectivo tratamiento a una empresa especializada.

Bioseguridad

Se debe tener precaución con las reacciones del Método, son exotérmicas y corrosivas, manejar todo bajo cámara extractora de gases.

Preparación de reactivos

Solución dicromato de potasio:

- Pesar 4.913 g de $K_2Cr_2O_7$ previamente seco durante 2 horas a $103^\circ C$
- Agregarlos en una balón aforado de 500 mL
- Agregar 100 mL de agua desionizada
- Agregar 167 mL de H_2SO_4 concentrado
- Mezclar, y aforar con agua desionizada.

Solución indicadora de ferroina:

- Pesar 1.485 g de 1-10-fenantrolina monohidratada
- Pesar 695 mg de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$
- Agregarlos a en un balón de 100 mL
- Diluir con 50 mL de agua destilada
- Aforar con agua destilada

Solución de sulfato ferroso de amonio (FAS) 0.25M:

- Pesar 49 g $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ y agregarlos a un balón aforado de 500 mL
- Agregar 100 mL de agua destilada
- Agregar 10 mL de H_2SO_4
- Aforar y almacenar en frasco ámbar

Solución hidrogeno ftalato de potasio (patrón):

- Disolver 425 mg de en 1000 mL de agua destilada
- Esta solución tiene una DQO teórica de 1.176 mg O₂/L

Bibliografía

- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 5220-B. American Public Health Association. Washington D.C.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1993. The determination of chemical oxygen demand by semi-automated colorimetry; Method 410.4. Office of research and development U.S. environmental protection agency. Cincinnati, Ohio

2.3.3. Determinación de Fósforo hidrosoluble

El fósforo es el tercer elemento de importancia para los organismos biológicos, sin embargo, su disponibilidad en ocasiones puede ser limitada, ya que puede estar acoplado por metales como el hierro, aluminio entre otros, que impiden su asimilación y por ende problemas en el desarrollo de sistemas biológicos. La forma de cuantificar este tipo de fósforo, llamado hidrosoluble, es la de someter la muestra a un proceso de hidrólisis con ácidos fuertes, de esta manera ser liberado y cuantificado con técnicas espectrofotométricas como Vanadato-Molibdato; es importante tener en cuenta que tipo de fósforo hidrosoluble se desea evaluar ya que son clasificados en dos grupos, disueltos y totales, los primeros se caracterizan por que son filtrables y suelen ser sales, mientras que los segundos equivalen al total disponible en la muestra sin importar que sean filtrables o no y se caracterizan por ser sales adheridas a partículas orgánicas o microorganismos.

Método

Determinación de fósforo hidrosoluble mediante hidrólisis ácida y cuantificación por espectrofotometría con el Método Vanadato Molibdato.

Objetivo

Determinar las concentraciones de fósforo hidrolizable reportados como ppm P-PO₄ (mg/L) en muestras de aguas utilizadas en acuicultura.

Alcance

Este procedimiento aplica a aguas en general.

Equipos y accesorios

- Bomba de vacío.
- Equipo de vacío.
- Filtro de nitrocelulosa con diámetro de poro de 0.45 µm.
- Tubos de muestra 25x100mm o beacker de 100 mL.
- Celdas 1 cm de longitud.
- Digestor.
- Balones kjeldahl de 100 mL.
- Espectrofotómetro UV-VIS que realice lecturas en longitud de onda de 400 nm
- Pipeta automática 100-1000 µL
- Pipetas volumétricas de 5 mL
- Guantes de nitrilo
- Campana extractora de gases.

Reactivos

- Agua destilada
- Solución de hidrólisis.
- Solución stock de fosfatos (P-PO₄).
- Solución patrón de fosfatos (P-PO₄).
- Reactivo Vanadato-Molibdato
- Indicador de pH de fenoftaleina
- Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 4 N

Pre tratamiento de la muestra

En caso de determinar fósforo hidrolizable disuelto, la muestra debe ser filtrada a 0.45µm con filtro de nitrocelulosa. Pero si se desea evaluar fósforo hidrolizable total, la filtración no debe ser realizada. En caso de tener alcalinidad superior a 500 mg CaCO₃/L, agregar 1 mL de solución de HCl 0.1N.

Preparación de la curva de calibración

Para preparar la curva de calibración de P-PO₄, se debe tomar alícuotas determinadas de la solución patrón y diluirlas con agua desionizada, con el fin de obtener 5 concentraciones que se encuentren entre 0-5 ppm (mg/L) de P-PO₄; en la tabla 2 se especifica el volumen de solución patrón necesaria y la concentración en ppm de P-PO₄. Esta curva debe ser renovada cada dos meses.

Tabla 2. Preparación de curva de calibración de fosfatos (PO₄⁻³)

Concentración (ppm) PO ₄ ⁻³	Volumen de soln patrón (mL)	Aforo (mL)
0.5	0.5	100
1.5	1.5	100
2.5	3.0	100
3.5	3.5	100
4.5	4.0	100

ANÁLISIS DE MUESTRA

Determinación de fósforo hidrosoluble total

- Mezclar 20 mL de muestra sin filtrar con 20 mL de agua destilada
- Agregar en balón de digestión kjeldahl de 100 mL
- Agregar 2 gotas de indicador de fenoftaleina
- Si no cambia de color, agregar 1 mL de solución de hidrólisis
- Si cambia de color agregar de a 1 mL de solución de hidrólisis hasta que el color desaparezca.
- Calentar a 90°C aproximadamente sin dejar secar durante una hora.
- Dejar enfriar a temperatura ambiente
- Agregar NaOH 4 N hasta que torne ligeramente rosado.
- Mezclar 20 mL de muestra hidrolizada con 20 mL de agua destilada
- Tomar 25 mL de muestra tratada
- Agregar 2.5 mL de solución de Vanadato-Molibdato.
- Esperar mínimo 4 minutos.
- Leer a 400 nm.
- La diferencia entre el fósforo determinado y el reactivo es equivalente al fósforo hidrolizable.

Nota: se debe determinar fósforo reactivo

**Se usa como blanco agua destilada esterilizada con vapor húmedo (120°C, 15 libras/m³, 15 minutos).*

Determinación de fósforo hidrosoluble filtrable

- Mezclar 20 mL de muestra previamente filtrada con 20 mL de agua destilada
- Proceder de igual manera que en fosforo hidrosoluble filtrable
- *Se usa como blanco agua destilada esterilizada con vapor húmedo (120°C, 15 libras/m³, 15 minutos).*

CÁLCULOS

Para determinar la concentración de fósforo hidrolizable en la muestra, reemplazar la diferencia de absorbancia leída en la ecuación de la recta obtenida en la curva de calibración.

$$\text{ppm fósforo hidrosoluble} = \left(\frac{\overline{abs} - b}{m} \right) - PR$$

Donde:

abs : Absorbancia a 400 nm.

b: intercepto de la recta.

m: pendiente de la recta

PR: fósforo reactivo

Los datos serán reportados en ppm de fósforo reactivo que equivalen a mg P-PO₄ reactivo/L.

Interferencias

Sólidos suspendidos en caso de determinar fósforo hidrolizable soluble, debe asegurarse los cambios de color del indicador, de lo contrario pueden generar falsos negativos. Materia orgánica disuelta, se produce interferencia positiva por silica y arsenatos, pero solo si la muestra es calentada. Interferencias negativas son producidas por fluoridos, toridium, bismuto, sulfuros, tiosulfatos, tiocianato, o exceso de molibdato. Un color azul puede ser causado por ion ferroso pero solo afectan los resultados si están con concentraciones mayores a 100 ppm de hierro. Las interferencias de sulfitos pueden ser removidas por oxidación con agua bromídica o puede ser controlada desde la toma de muestra (no debe tomarse muestra de la profundidad de la piscina).

Impacto ambiental

En este procedimiento los residuos generados pueden causar daños ambientales, el vanadio y el molibdato son considerados metales pesados, por lo cual deben ser descartados apropiadamente y enviados a su respectivo tratamiento a una empresa especializada

Bioseguridad

En este Método son utilizados ácidos fuertes en la hidrólisis, deben manejarse bajo campana extractora de gases y el uso de guantes de nitrilo es necesario, adicionalmente, la solución de Vanadato-molibdato es corrosiva y al contacto con superficies puede generar vapores ligeramente peligrosos, manejarlos con precaución y solo por personal autorizado, en caso de derrame, aplicar sobre este arena y luego recoger para ser descartados como metales pesados.

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES Y REACTIVOS**Solución de NaOH 4 N:**

- En un balón de 250 mL agregar 50 mL de agua destilada
- Agregar 40 gramos de NaOH concentrado
- Diluir agregando agua destilada poco a poco
- Aforar a 250 mL

Indicador de pH de fenoftaleina:

- Pesar 250 mg de fenoftaleina en polvo.
- Agregar 25 mL de alcohol absoluto
- Agregar 25 mL de agua destilada
- Mezclar y disolver
- Almacenar en frasco ámbar refrigerado

Solución Vanadato-Molibdato (VMO):

- **Solución A:**
- Pesar 25 gramos de molibdato de amonio y diluir en 300 mL de agua destilada.
- **Solución B:**
- Pesar 1.25 g de vanadato de amonio.
- Disolver en 300 mL de agua destilada caliente.
- Dejar enfriar.
- Agregar 330 mL de HCl concentrado.
- Dejar enfriar.
- Mezclar solución A y solución B, almacenar en frasco ámbar a temperatura ambiente.

Solución stock de fosfatos (P-PO₄):

- En un crisol, agregar 1 g de KH₂PO₄
- Secar en horno a 120°C durante mínimo 3 horas o a 60°C durante mínimo 7 horas.
- Pesar 143.2 mg de KH₂PO₄ y aforar a un litro con agua desionizada (esta solución tiene una concentración de 100 ppm de P-PO₄)

Solución patrón de fosfatos (P-PO₄):

- Tomar 10 mL de la solución stock y aforar a 100 mL con agua desionizada. (esta solución tiene una concentración de 10 ppm de P-PO₄).

Solución de hidrólisis:

- Agregar 20 mL de agua destilada en una probeta de 100 mL
- Adicionar por el borde 0.4 mL de ácido nítrico (H₂NO₃)
- Adicionar lentamente 30 mL de ácido sulfúrico (H₃SO₄)
- Completar a 100 mL con agua destilada
- Dejar enfriar a temperatura ambiente y almacenar en frasco ámbar

Nota: esa solución debe ser etiquetada en rojo

Bibliografía

- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500-B,C. American Public Health Association. Washington D.C.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1993. Phosphorous all forms (Colorimetric, Ascorbic Acid, Single Reagent); Method 365.2. Office of research and development U.S. environmental protection agency. Cincinnati, Ohio

2.3.4. Determinación de fósforo reactivo (PO₄⁻³)

El fósforo se encuentra ampliamente distribuido en aguas en forma de ortofosfatos, este puede reaccionar de manera inmediata con otros iones o puede ser utilizado como fuente de fósforo por algas y microorganismos; un exceso o defecto de este ión, puede producir una deficiencia en la relación C:N:P por lo cual puede limitar el desarrollo de microorganismos (algas y bacterias) afectando el cultivo acuícola ya que el fósforo es utilizado en el crecimiento de los animales y en la regulación de la sensibilidad osmótica. Adicionalmente, incrementos progresivos de las concentraciones de fósforo reactivo son un indicio de sobrealimentación en sistemas acuícolas sin embargo es necesario otros análisis físicoquímicos para confirmar dicha afirmación.

Método

Espectrofotométrico, determinación de fósforo reactivo mediante el Método Vanadato Molibdato.

Objetivo

Determinar las concentraciones de fósforo reactivo reportados como ppm P-PO₄ (mg/L) en muestras de aguas utilizadas en acuicultura.

Alcance

Este procedimiento aplica a aguas que ha sido previamente filtrada por membrana de nitrocelulosa con diámetro del poro de 0.45 µm.

Equipos y Accesorios

- Bomba de vacío.
- Equipo de vacío.
- Filtro de nitrocelulosa con diámetro de poro de 0.45 µm.
- Tubos de muestra 25x100mm o beacker de 100 mL.
- Espectrofotómetro UV-VIS que realice lectura en longitud de onda de 400 nm.
- Celda de 1 cm de longitud

- Pipeta automática de 100-1000 μL
- Pipeta de 5 mL

Reactivos

- Agua desionizada.
- Agua destilada.
- Reactivo de Vanadato-Molibdato.
- Solución stock de fosfatos (P-PO_4).
- Solución patrón de fosfatos (P-PO_4).

Recolección de muestra

La muestra debe ser almacenada en frascos de vidrio, previamente lavadas con ácido clorhídrico, nunca debe utilizarse frascos plásticos; procesar tan pronto sea posible, si requiere tiempos prolongados de transporte, conservar con ácido sulfúrico concentrado en relación de 1 mL por litro de muestra.

Pre tratamiento de la muestra

Si la muestra presenta gran cantidad de algas en suspensión, homogenizar la muestra y filtrarla con malla de 20 μm , posteriormente filtrar nuevamente con filtro de nitrocelulosa de diámetro poro de 0.45 μm .

Preparación de la curva de calibración

Para preparar la curva de calibración de P-PO_4 , se debe tomar alícuotas determinadas de la solución patrón y diluirlas con agua desionizada, con el fin de obtener 6 concentraciones que se encuentren entre 0-5 ppm (mg/L) de P-PO_4 ; en la tabla 3 se especifica el volumen de solución patrón necesaria y la concentración en ppm de P-PO_4 . La intensidad del color en la reacción es proporcional a la concentración de fósforo en la muestra (figura 15). Esta curva debe ser renovada cada dos meses.

Tabla 3. Preparación de curva de calibración de fosfatos (PO_4^{3-})

Concentración (ppm) PO_4^{3-}	Volumen de sin patrón (mL)	Aforo (mL)
0.5	0.5	100
1.5	1.5	100
2.5	3.0	100
3.5	3.5	100
4.5	4.0	100

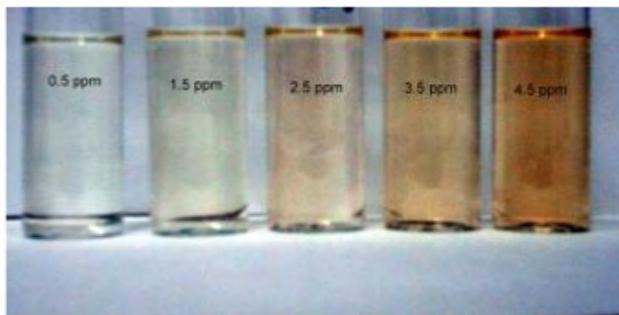


Figura 15. Cambio de color por reacción de fósforo con el Método de Vanadato-Molibdato.

Análisis de muestra

- Tomar 25 mL de muestra
- Agregar 2.5 mL de solución de Vanadato Molibdato (VMO)
- Leer a 400 nm, registrar

Si el pH de la muestra no se encuentra entre 5-9, regularlo con HCl 0.1 N. Se usa como blanco agua destilada esterilizada con vapor húmedo (120°C, 15 libras/m³, 15 minutos)

Cálculos

Para determinar la concentración de P-PO₄ en la muestra, reemplazar la diferencia de absorbancia leída en la ecuación de la recta obtenida en la curva de calibración.

$$\text{ppm P-PO}_4 = \frac{\text{abs} - b}{m}$$

Donde:

abs: Absorbancia a 400 nm

b: intercepto de la recta.

m: pendiente de la recta

En caso que la lectura de absorbancia de la muestra exceda el rango espectrofotométrico, diluir la muestra con agua destilada, y procesar nuevamente; debe tenerse en cuenta el factor de corrección, por el cual, se multiplicará el resultado obtenido al sustituir valores en la ecuación. Los datos serán reportados en ppm P-PO₄ que equivalen a mg P-PO₄/L.

Interferencias

Materia orgánica disuelta, se produce interferencia positiva por silica y arsenatos, pero solo si la muestra es calentada. Interferencias negativas son producidas por fluoridos, toridium, bismuto, sulfuros, tiosulfatos, tiocianato, o exceso de molibdato. Un color azul puede ser causado por iones ferrosos pero no afecta en los resultados en concentraciones menores a 100 ppm de hierro. Las interferencias de sulfitos pueden ser removidas por oxidación con agua bromídica o puede ser controlada desde la toma de muestra (no debe tomarse muestra de la profundidad de la piscina).

Impacto ambiental

Este procedimiento produce impacto ambiental considerable, el vanadio y el molibdato son considerados metales pesados, por lo cual deben ser descartados apropiadamente y enviarlos a su respectivo tratamiento a una empresa especializada.

Bioseguridad

La solución de Vanadato-molibdato es corrosiva y al contacto con superficies puede generar vapores ligeramente peligrosos, manejarlos con precaución y solo por personal autorizado, en caso de derrame, aplicar sobre este arena y luego recoger y descartar en metales pesados.

Preparación de soluciones y reactivos

Solución Vanadato-Molibdato (VMO):

- *Solución A:*
- Pesar 25 gramos de molibdato de amonio y diluir en 300 mL de agua destilada.
- *Solución B:*
- Pesar 1.25 g de vanadato de amonio.
- Disolver en 300 mL de agua destilada caliente.

- Dejar enfriar.
- Agregar 330 mL de HCl concentrado.
- Dejar enfriar.
- Mezclar solución A y solución B, almacenar en frasco ámbar a temperatura ambiente.

Solución stock de fosfatos (P-PO₄):

- En un crisol, agregar 1 g de KH₂PO₄
- Secar en horno a 120°C durante mínimo 3 horas o a 60°C durante mínimo 7 horas.
- Pesar 143.2 mg de KH₂PO₄ y aforar a un litro con agua desionizada (esta solución tiene una concentración de 100 ppm de P-PO₄)

Solución patrón de fosfatos (P-PO₄):

- Tomar 10 mL de la solución stock y aforar a 100 mL con agua desionizada. (esta solución tiene una concentración de 10 ppm de P-PO₄).

Bibliografía

- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500-C. American Public Health Association. Washington D.C.

2.3.5. Determinación de Fósforo total y orgánico

El fósforo es el tercer elemento de importancia para los organismos biológicos, sin embargo, su disponibilidad en ocasiones puede ser limitada, ya que puede estar acoplado por metales como el hierro, aluminio entre otros, o inmovilizado en biomasa. El fósforo total es la suma del reactivo, hidrolizable y orgánico que puede ser liberado realizando un proceso de digestión y posteriormente cuantificado con técnicas espectrofotométricas como Vanadato-Molibdato.

Método

Determinación de fósforo total y orgánico mediante digestión con persulfato de amonio y cuantificación por espectrofotometría con el Método Vanadato Molibdato.

Objetivo

Determinar las concentraciones de Fósforo total reportados como ppm P-PO₄ (mg/L) en muestras de aguas utilizadas en acuicultura.

Alcance

Este procedimiento aplica a aguas en general

Equipos y accesorios

- Bomba de vacío.
- Equipo de vacío.
- Filtro de nitrocelulosa con diámetro de poro de 0.45 µm.
- Tubos de muestra 25x100mm o beacker de 100 mL.
- Celdas 1 cm de longitud.
- Digestor.
- Balones Kjeldahl de 100 mL.
- Espectrofotómetro UV-VIS que realice lecturas en longitud de onda de 400 nm
- Pipeta automática 100-1000 µL
- Pipetas volumétricas de 5 mL
- Guantes de nitrilo
- Campana extractora de gases.

Reactivos

- Agua destilada
- Persulfato de amonio.
- Solución de H_2SO_4
- Solución stock de fosfatos ($P-PO_4$).
- Solución patrón de fosfatos ($P-PO_4$).
- Reactivo Vanadato-Molibdato
- Indicador de pH de fenoftaleina
- Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 4 N

Pre tratamiento de la muestra

En caso de determinar fósforo total disuelto, la muestra debe ser filtrada a $0.45 \mu m$ con filtro de nitrocelulosa. Si se desea evaluar fósforo total, la filtración no debe ser realizada. En caso de tener alcalinidad superior a $500 \text{ mg CaCO}_3/L$, agregar 1 mL de solución de HCl 0.1N.

Preparación de la curva de calibración

Para preparar la curva de calibración de $P-PO_4$, se debe tomar alicuotas determinadas de la solución patrón y diluirlas con agua desionizada, con el fin de obtener 5 concentraciones que se encuentren entre 0-5 ppm (mg/L) de $P-PO_4$; en la tabla 4 se especifica el volumen de solución patrón necesaria y la concentración en ppm de $P-PO_4$. Esta curva debe ser renovada cada dos meses.

Tabla 4. Preparación de curva de calibración de fosfatos (PO_4^{3-})

Concentración (ppm) PO_4^{3-}	Volumen de sin patrón (mL)	Aforo (mL)
0.5	0.5	100
1.5	1.5	100
2.5	3.0	100
3.5	3.5	100
4.5	4.0	100

Análisis de muestra

Determinación de fósforo total

- Tomar 50 mL de muestra sin filtrar
- Agregar en balón de digestión Kjeldahl de 100 mL
- Agregar 2 gotas de indicador de fenoftaleina
- Si torna rosa, agregar solución de H_2SO_4 hasta que el color desaparezca.
- Si no cambia de color agregar de a 1 mL de solución H_2SO_4
- Agregar 0.4 gramos Persulfato de amonio
- Calentar a $90^\circ C$ aproximadamente sin dejar secar durante una hora o hasta obtener un volumen final de 10 mL.
- Deja enfriar a temperatura ambiente agregar 2 gotas de fenoftaleina
- Agregar NaOH 4 N hasta que torne ligeramente rosado, y completar a 100 mL, puede formarse un precipitado, no se debe filtrar la muestra, este desaparecerá con el reactivo Vanadato-Molibdato.
- Tomar 25 mL de muestra tratada
- Agregar 2.5 mL de solución de Vanadato-Molibdato.

- Esperar mínimo 4 minutos.
- Leer a 400 nm.

Nota: se debe determinar fósforo reactivo

**Se usa como blanco agua destilada esterilizada con vapor húmedo (120°C, 15 libras/m³, 15 minutos).*

Determinación de fósforo total disuelto

- Mezclar 20 mL de muestra previamente filtrada con 20 mL de agua destilada
 - Proceder de igual manera que en el procedimiento anterior (Fósforo total).
- *Se usa como blanco agua destilada esterilizada con vapor húmedo (120°C, 15 libras/m³, 15 minutos).*

Determinación de fósforo orgánico

- Se determina por la diferencia del fósforo hidrolizable y el fósforo total.

Cálculos

Para determinar la concentración de fósforo total en la muestra, remplazar la diferencia de absorbancia leída en la ecuación de la recta obtenida en la curva de calibración.

$$\text{ppm fósforo Total (PT)} = \left(\frac{\overline{abs} - b}{m} \right)$$

Donde:

abs: Absorbancia a 400 nm.

b: intercepto de la recta.

m: pendiente de la recta

Para determinar fósforo orgánico:

$$\text{ppm fósforo orgánico} = \text{PT} - \text{PH}$$

Donde

PH: fósforo hidrolizable.

Los datos serán reportados en ppm de fósforo reactivo que equivalen a mg P-PO₄ reactivo/L.

Interferencias

Sólidos suspendidos en caso de determinar fósforo total soluble, debe asegurarse los cambios de color del indicador, de lo contrario pueden generar falsos negativos. Materia orgánica disuelta, se produce interferencia positiva por sílica y arsenatos, pero solo si la muestra es calentada. Interferencias negativas son producidas por fluoridos, toridium, bismuto, sulfuros, tiosulfatos, tiocianato, o exceso de molibdato. Un color azul puede ser causado por ion ferroso pero solo afectan los resultados si están con concentraciones mayores a 100 ppm de hierro. Las interferencias de sulfitos pueden ser removidas por oxidación con agua bromídica o puede ser controlada desde la toma de muestra (no debe tomarse muestra de la profundidad de la piscina).

Impacto ambiental

En este procedimiento los residuos generados pueden causar daños ambientales, el vanadio y el molibdato son considerados metales pesados, por lo cual deben ser descartados como residuos metales pesados y enviados a su respectivo tratamiento a una empresa especializada

Bioseguridad

En este Método son utilizados ácidos fuertes en la digestión, deben manejarse bajo campana extractora de gases y el uso de guantes de nitrilo es necesario, adicionalmente, la solución de Vanadato-molibdato es corrosiva y al contacto con superficies puede generar vapores ligeramente peligrosos, manejarlos con precaución y solo por personal autorizado, en caso de derrame, aplicar sobre este arena y luego recoger para ser descartados como metales pesados.

Preparación de soluciones y reactivos

Solución de NaOH 4 N:

- En un balón de 250 mL agregar 50 mL de agua destilada
- Agregar 40 gramos de NaOH concentrado
- Diluir agregando agua destilada poco a poco
- Aforar a 250 mL

Indicador de pH de fenoftaleina:

- Pesar 250 mg de fenoftaleina en polvo.
- Agregar 25 mL de alcohol absoluto
- Agregar 25 mL de agua destilada
- Mezclar y disolver
- Almacenar en frasco ámbar refrigerado

Solución Vanadato-Molibdato (VMO):

- *Solución A:*
- Pesar 25 gramos de molibdato de amonio y diluir en 300 mL de agua destilada.
- *Solución B:*
- Pesar 1.25 g de vanadato de amonio.
- Disolver en 300 mL de agua destilada caliente.
- Dejar enfriar.
- Agregar 330 mL de HCl concentrado.
- Dejar enfriar.
- Mezclar solución A y solución B, almacenar en frasco ámbar a temperatura ambiente.

Solución stock de fosfatos (P-PO₄):

- En un crisol, agregar 1 g de KH₂PO₄
- Secar en horno a 120°C durante mínimo 3 horas o a 60°C durante mínimo 7 horas.
- Pesar 143.2 mg de KH₂PO₄ y aforar a un litro con agua desionizada (esta solución tiene una concentración de 100 ppm de P-PO₄)

Solución patrón de fosfatos (P-PO₄):

- Tomar 10 mL de la solución stock y aforar a 100 mL con agua desionizada. (esta solución tiene una concentración de 10 ppm de P-PO₄).

Solución de H₂SO₄

- Tomar 300 mL de H₂SO₄ concentrado
- Diluir en 600 mL de agua destilada
- Completar a 1 litro

Bibliografía

- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500-B,C. American Public Health Association. Washington D.C.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1993. Phosphorous all forms (Colorimetric, Ascorbic Acid, Single Reagent); Method 365.2. Office of research and development U.S. environmental protection agency. Cincinnati, Ohio

2.3.6. Determinación de amonio (N-NH₄)

El ión amonio, es resultante de la reducción de nitratos u oxidación de materia orgánica razón por la cual su determinación es primordial en cultivos acuícolas, sin embargo dependiendo del pH del medio, sus concentraciones pueden variar transformándose en amoniaco, es decir, a pH mayores de 9.2, el amoniaco (NH₃) tiende a incrementar pero el amonio disminuye, mientras que a pH menores, el amonio (NH₄⁺) se aumenta y el amoniaco disminuye.

La técnica colorimétrica de cuantificación de amonio, azul de idiofenol (conocida también como fenato), se fundamenta en la reacción del amonio con el fenol favorecido por el ión hipoclorito en condiciones alcalinas, que como resultante, se produce azul de idiofenol. El citrato de sodio, sirve como quelante para iones como el Mg⁺⁺ y Ca⁺⁺ que pueden causar interferencias, mientras que el nitroprusiato favorece la intensidad del color en la reacción, la cual puede ser leída a 640 nm.

Método

Espectrofotométrico, determinación de amonio por el Método de azul de idiofenol o fenato.

Objetivo

Determinar las concentraciones de amonio reportados como ppm N-NH₄ (mg/L) en muestras de aguas utilizadas en acuicultura.

Alcance

Este procedimiento aplica a aguas usadas en acuicultura.

Equipos y accesorios

- Bomba de vacío.
- Equipo de vacío.
- Filtro de nitrocelulosa con diámetro de poro de 0.45 µm.
- Tubos de muestra 25x100mm o beacker de 100 mL.
- Espectrofotómetro UV-VIS que realice lectura en longitud de onda de 640 nm
- Celda de 1 cm de longitud
- Pipeta automática de 100-1000 µL

Reactivos

- Agua desionizada.
- Agua destilada.
- Solución de fenol
- Solución de nitroprusiato 0.5% (p/v)
- Reactivo alcalino
- Hipoclorito de Sodio 7% (v/v)
- Solución stock de amonio (N-NH₄).
- Solución patrón de amonio (N-NH₄).

Pre tratamiento de la muestra

Si la muestra presenta gran cantidad de algas en suspensión, homogenizar la muestra y filtrarla con malla de 20 µm, posteriormente filtrar nuevamente con filtro de nitrocelulosa de diámetro del poro de 0.45 µm.

PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

Para preparar la curva de calibración de N-NH₄, se debe tomar alícuotas determinadas de la solución patrón y diluirlas con agua desionizada, con el fin de obtener 5 concentraciones que se encuentren entre 0-2 ppm (mg/L) de N-NH₄; en la tabla 5 se especifica el volumen de solución patrón necesaria y la concentración en ppm de N-NH₄. Esta curva debe ser renovada cada dos meses.

Tabla 5. Preparación de curva de calibración de amonio (NH_4^+)

Concentración (ppm) NH_4^+	Volumen de sln patrón (mL)	Aforo (mL)
0.02	0.1	100
0.5	2.5	100
1	5	100
1.5	7.5	100
2	10	100

Análisis de muestra

- Tomar 25 mL de muestra
- Agregar 1 mL de solución de fenol
- Agregar 1 mL de solución de nitroprusiato
- Agregar 2.5 mL de solución oxidante
- Almacenar en oscuridad por una hora
- La muestra tornara azul. (figura 16)



Figura 16. Cambio de color por reacción con el amonio. La intensidad del color es proporcional a la concentración de amonio en la muestra.

- Leer a 640 nm, registrar
- Para determinar el amonio no ionizado llamado también amoniaco (NH_3), remitirse al anexo 1 y orientarse por la tabla. *Se usa como blanco agua destilada esterilizada con vapor húmedo (120°C, 15 libras/m³, 15 minutos).*

Cálculos

Para determinar la concentración de N- NH_4 en la muestra, reemplazar la diferencia de absorbancia leída en la ecuación de la recta obtenida en la curva de calibración.

$$\text{ppm N-NH}_4 = \frac{\text{abs} - b}{m}$$

Donde:

abs: Absorbancia a 640 nm

b: intercepto de la recta.

m: pendiente de la recta

En caso que la lectura de absorbancia en la muestra exceda el rango espectrofotométrico, diluirla con agua destilada, y procesar nuevamente; debe tenerse en cuenta el factor de corrección, por el cual, se multiplicará el resultado obtenido al sustituir valores en la ecuación. Los datos serán reportados en ppm N- NH_4 que equivalen a mg N- NH_4 /L.

Interferencias

Turbidez, sólidos suspendidos, dureza mayor a 400 mg $\text{CaCO}_3 - \text{MgCO}_3/\text{L}$; alcalinidad mayor a 500 mg CaCO_3/L . el nitrógeno trivalente no genera interferencias.

Impacto ambiental

En este procedimiento, se generan desechos tóxicos para el medio ambiente y para la salud humana, el fenol puede producir intoxicaciones en seres vivos ya que puede afectar el sistema nervioso central; para su correcto descarte, estos residuos deben ser almacenados en recipientes apropiados y enviados a una empresa que se encargue de su tratamiento.

Preparación de soluciones y reactivos

Solución de fenol:

- En un balón aforado de 500 mL, agregar 50 g fenol cristal.
- Aforar a 500 mL con etanol 95%.
- Almacenar en frasco ámbar refrigerado a 4°C

Solución de nitroprusiato:

- En un balón aforado de 500mL, agregar 2.5 g nitroprusiato.
- Aforar con agua desionizada a 500 mL.
- Almacenar en frasco ámbar refrigerado a 4°C

Solución alcalina:

- En un balón aforado de 500 mL, agregar 200 mL de agua desionizada
- Agregar 100 g de Citrato de Sodio, mezclar
- Agregar 5 g de NaOH, mezclar
- Aforar a 500 mL con agua desionizada
- Almacenar en frasco ámbar

Solución de hipoclorito 7 %

- Mezclar 58.3 mL de hipoclorito de sodio 12% (comercial) y aforar a 100 mL con agua destilada.

Solución oxidante

- Mezclar 60 mL de reactivo alcalino y 16 mL de solución de hipoclorito de sodio 7%

Solución stock de amonio (N-NH_4):

- En un crisol, agregar 1 g de NH_4Cl
- Secar en horno a 120°C durante mínimo 3 horas o a 60°C durante mínimo 7 horas.
- Pesar 594.44 mg de NH_4Cl y aforar a un litro con agua desionizada (esta solución tiene una concentración de 200 ppm de N-NH_4)

Solución patrón de amonio (N-NH_4):

- Tomar 10 mL de la solución stock y aforar a 100 mL con agua desionizada. (esta solución tiene una concentración de 20 ppm de N-NH_4).

Bibliografía

- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500-B. American Public Health Association. Washington D.C.
- Boyd, C. 1992. Water Quality and Pond Soil Analyses for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University.
- Garay, J; Panizzo, L; Lesmes, L; Ramírez, G; Sánchez, J. 1993. Manual de Técnicas Analíticas de Parámetros Físico-químicos y Contaminantes Marinos. Dirección General Marítima. Tercera edición. Armada Nacional de Colombia.

2.3.7. Determinación de Nitratos (N-NO₃)

El ión nitrato, es el estado mas oxidado en el ciclo de nitrógeno, en piscinas de acuicultura, bajo condiciones oxidativas favorables, tiende a ser mayor su concentración frente a los demás iones del ciclo del nitrógeno razón por la cual su determinación favorece un análisis ecológico del sistema.

La técnica de determinación de nitratos mediante espectrofotometría UV presenta ventaja frente a su homóloga "reducción por la columna de cadmio" ya que es económica y sencilla de realizar, lo cual favorece la entrega pronta de resultados con niveles de confiabilidad favorables. Sin embargo, presenta desventaja cuando existe materia orgánica en altas concentraciones, por lo que la muestra debe ser filtrada.

Se fundamenta en la absorción de la longitud de onda del ión nitrato (NO₃⁻) a 220 nm, sin embargo la materia orgánica puede generar interferencias por lo cual, se debe leer también a 275 nm, donde la absorbancia del haz de luz se da por el contenido de materia orgánica y no por el N-NO₃; al realizar la diferencia de la lectura de absorbancia en las dos longitudes de onda, el resultado obtenido representa la concentración de nitratos (N-NO₃). Se hace necesario acidificar la muestra con HCl 0.1 N cuando la alcalinidad es mayor a 1000 mg CaCO₃/L con el fin de prevenir interferencias por las altas concentraciones de hidróxidos o carbonatos presentes en la muestra. El cloro no afecta la lectura.

Método

Espectrofotométrico ultravioleta, determinación de nitratos por medio de ultravioleta.

Objetivo

Determinar las concentraciones de nitratos reportados como ppm N-NO₃ (mg/L) en muestras de aguas utilizadas en acuicultura.

Alcance

Este procedimiento aplica a aguas que han sido previamente filtradas por membrana de nitrocelulosa con diámetro del poro de 0.45 µm.

Equipos y accesorios

- Bomba de vacío.
- Equipo de vacío.
- Filtro de nitrocelulosa con diámetro de poro de 0.45 µm.
- Tubos de muestra 25x100mm o beacker de 100 mL.
- Celdas de cuarzo de 1 cm de longitud.
- Espectrofotómetro UV-VIS que realice lecturas en longitudes de onda de 220 nm y 275 nm.

Reactivos

- Agua desionizada.
- Agua destilada.
- Ácido clorhídrico 0.1 N.
- Solución stock de nitratos (N-NO₃).
- Solución patrón de nitratos (N-NO₃).

Recolección de muestra.

La muestra debe ser almacenada en frascos de vidrio, previamente lavados con ácido clorhídrico, procesar tan pronto sea posible, si requiere tiempos prolongados de transporte, conservar con ácido sulfúrico concentrado en relación de 1 mL por litro de muestra.

Pre tratamiento de la muestra

Si la muestra presenta gran cantidad de algas en suspensión, homogenizar y filtrar la muestra con malla de 20 µm, posteriormente filtrar nuevamente con filtro de nitrocelulosa de diámetro poro de 0.45 µm. En caso de tener alcalinidad superior a 500 mg CaCO₃/L, agregar 1 mL de solución de HCl 0.1N.

Preparación de la curva de calibración

Para preparar la curva de calibración de N-NO₃, se debe tomar alícuotas determinadas de la solución patrón y diluirlas con agua desionizada, con el fin de obtener 5 concentraciones que se encuentren entre 0-10 ppm (mg/L) de N-NO₃; en la tabla 6 se especifica el volumen de solución patrón necesaria y la concentración en ppm de N-NO₃. Esta curva debe ser renovada cada dos meses.

Tabla 6. Preparación de curva de calibración de nitratos (NO₃⁻)

Concentración (ppm) NO ₃ ⁻	Volumen de sln patrón (mL)	Aforo (mL)
0.5	2.5	100
2	10	100
5	25	100
7	35	100
10	50	100

Análisis de muestra

- Tomar 10 mL de muestra
- Leer a 220 nm, registrar
- Leer a 275 nm, registrar



Figura 17. Cuantificación de nitrato (NO₃) en muestras de agua, cabe notar que en esta técnica no se presenta cambio de color.

- Restar la absorbancia obtenida a 275 nm a la absorbancia obtenida a 220 nm.
- *Se usa como blanco agua destilada esterilizada con vapor húmedo (120°C, 15 libras/m³, 15 minutos).

Cálculos

Para determinar la concentración de N-NO₃ en la muestra, reemplazar la diferencia de absorbancia leída en la ecuación de la recta obtenida en la curva de calibración.

$$\text{ppm N-NO}_3 = \frac{\overline{abs} - b}{m}$$

Donde:

- abs:** Absorbancia corregida, la cual es equivalente a: **abs = abs(220nm)-abs(275nm)**
- b:** intercepto de la recta.
- m:** pendiente de la recta

Los datos serán reportados en ppm N-NO₃ que equivalen a mg N-NO₃/L.

Interferencias

Sólidos suspendidos, ión Cr⁺⁶; iones como cloritos y cloratos pueden causar interferencias pero estos no son comúnmente encontrados en aguas.

Impacto ambiental

En este procedimiento los residuos generados no producen un impacto ambiental considerable, en caso de utilizar HCl 0.1 N, los residuos deben descartarse como residuos ácidos sin embargo, pueden ser previamente diluidos con abundante agua y descartarlos.

Preparación de soluciones y reactivos

Ácido clorhídrico 0.1 N:

- En un balón aforado de 1000 mL, agregar 200 mL de agua desionizada.
- Agregar 8.4 mL de HCl concentrado
- Agregar agua desionizada y aforar a 1000 mL
- Estandarizar el HCl con tris-hidroximetil. amino metano de la siguiente manera (*):
- Pesar una cantidad en gramos o miligramos de tris-hidroximetil. amino metano
- En un beacker de 100 mL, agregar 25 mL de agua destilada y el tris-hidroximetil, amino metano.
- Titular con HCl y registrar el volumen de HCl gastado en la titulación.
- Determinar la Normalidad del HCl a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Normalidad HCl} = \frac{W_{sal}}{mL(HCl) \times 121.14}$$

Donde:

W_{sal}: Peso (mg) del tris-hidroximetil, amino metano

mL(HCl): Mililitros de HCl gastados en la titulación.

(*): El ácido debe ser estandarizado cada vez que se prepara.

Solución stock de nitratos (N-NO₃):

- En un crisol, agregar 1 g de KNO₃
- Secar en horno a 120°C durante mínimo 3 horas o a 60°C durante mínimo 7 horas.
- Pesar 326.2 mg de KNO₃ y aforar a un litro con agua desionizada (esta solución tiene una concentración de 200 ppm de N-NO₃)

Solución patrón de nitratos (N-NO₃):

- Tomar 10 mL de la solución stock y aforar a 100 mL con agua desionizada. (esta solución tiene una concentración de 20 ppm de N-NO₃).

Bibliografía

- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500-B. American Public Health Association. Washington D.C

2.3.8. Determinación de nitritos (N-NO₂)

El ión nitrito es el menos estable dentro del ciclo del nitrógeno, bajo condiciones diferentes y variables puede ser oxidado rápidamente a nitratos o reducido a amonio, su identificación y cuantificación favorece una interpretación de las condiciones del sistema indicando posibles cambios en un futuro cercano.

La técnica calorimétrica de cuantificación de nitritos, es ampliamente utilizada por laboratorios de referencia, se fundamenta en la reacción por acoplamiento de NO₂ con el N-(1-naftil)-etilendiamida usando como agente desionizante la sulfanilamida, formando un color rojo-rosado que puede ser leído a 540 nm.

Método

Espectrofotométrico, determinación de nitritos por medio del Método con 1-Naftil, etilendiamida

Objetivo

Determinar las concentraciones de nitritos reportados como ppm N-NO₂ (mg/L) en muestras de aguas utilizadas en acuicultura.

Alcance

Este procedimiento aplica a agua que ha sido previamente filtrada por membrana de nitrocelulosa con diámetro del poro de 0.45 µm.

Equipos y accesorios

- Bomba de vacío.
- Equipo de vacío.
- Filtro de nitrocelulosa con diámetro de poro de 0.45 µm.
- Tubos de muestra 25x100mm o beacker de 100 mL.
- Espectrofotómetro UV-VIS que realice lectura en longitud de onda de 540 nm
- Celda de 1 cm de longitud
- Pipeta automática de 100-1000 µL

Reactivos

- Agua desionizada.
- Agua destilada.
- Solución mixta de sulfanilamida y N-(1-naftil)- etilendiamida
- Solución stock de nitritos (N-NO₂).
- Solución patrón de nitritos (N-NO₂).

Recolección de muestra

La muestra debe ser recolectada en frascos de vidrio, no añadir conservante, refrigerar (preferiblemente congelar) la muestra y analizarla tan pronto sea posible.

Pre tratamiento de la muestra

Si la muestra presenta gran cantidad de algas en suspensión, homogenizar y filtrar con malla de 20 µm, posteriormente filtrar nuevamente con filtro de nitrocelulosa de diámetro poro de 0.45 µm.

Preparación de la curva de calibración

Para preparar la curva de calibración de N-NO₂, se debe tomar alícuotas determinadas de la solución patrón y diluirlas con agua desionizada, con el fin de obtener 5 concentraciones que se encuentren entre 0-2 ppm (mg/L) de N-NO₂; en la tabla 7 se especifica el volumen de solución patrón necesaria y la concentración en ppm de N-NO₂; la intensidad del color es proporcional a la concentración de nitritos en la muestra (figura 18). Esta curva debe ser renovada cada dos meses.

Tabla 7. Preparación de curva de calibración de nitritos (NO₂⁻)

Concentración (ppm) NO ₂ ⁻	Volumen de soln patrón (mL)	Aforo (mL)
0.02	0.1	100
0.1	0.5	100
0.9	4.5	100
1.4	7	100
2	10	100

Figura 18. Cambio de color por reacción de nitritos (NO₂) por la técnica con 1-Naftil-etilendiamina.



Análisis de muestra

- Tomar 25 mL de muestra
- Agregar 1 mL de solución mixta
- Leer a 540 nm, registrar

Si el pH de la muestra no se encuentra entre 5-9, regularlo con HCl 0.1 N. Se usa como blanco agua destilada esterilizada con vapor húmedo (120°C, 15 libras/m³, 15 minutos).

Cálculos

Para determinar la concentración de N-NO₂ en la muestra, sustituir la diferencia de absorbancia leída en la ecuación de la recta obtenida en la curva de calibración.

$$\text{ppm N-NO}_2 = \frac{\text{abs} - b}{m}$$

Donde:

abs: Absorbancia a 540 nm

b: intercepto de la recta.

m: pendiente de la recta

En caso que la lectura de absorbancia de la muestra exceda el rango espectrofotométrico, diluir la muestra con agua destilada, y procesar nuevamente; debe tenerse en cuenta el factor de corrección, por el cual, se multiplicará el resultado obtenido al sustituir valores en la ecuación. Los datos serán reportados en ppm N-NO₂ que equivalen a mg N-NO₂/L.

Interferencias

Sólidos suspendidos, ión Cu⁺² en concentraciones superiores a 0.1 mg/L, ión sulfuro en concentraciones superiores de 60 µg S²⁻/L; el NCl₃ puede causar una coloración roja intensa.

Impacto ambiental

Este procedimiento no producen un impacto ambiental considerable, los residuos generados pueden ser previamente diluidos con abundante agua y descartados.

Preparación de soluciones y reactivos

Ácido clorhídrico 0.1 N:

- En un balón aforado de 1000 mL, agregar 200 mL de agua desionizada.
- Agregar 8.4 mL de HCl concentrado
- Agregar agua desionizada y aforar a 1000 mL
- Estandarizar el HCl con tris-hidroximetil. amino metano de la siguiente manera (*):
- Pesarse una cantidad en mg de tris-hidroximetil. amino metano
- En un beacker de 100 mL, agregar 25 mL de agua destilada y el tris-hidroximetil, amino metano.

- Titular con HCl y registrar el volumen de HCl gastado en la titulación.
- Determinar la Normalidad del HCl a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Normalidad HCl} = \frac{W_{sal}}{mL(HCl) \times 121.14}$$

Donde:

Wsal: Peso (mg) del tris-hidroximetil-amino metano

mL(HCl): Mililitros de HCl gastados en la titulación.

(*) *El ácido debe ser estandarizado cada vez que se prepara.*

Solución stock de nitritos (N-NO₂):

- En un crisol, agregar 1 g de NaNO₂
- Secar en horno a 120°C durante mínimo 3 horas o a 60°C durante mínimo 7 horas.
- Pesar 300 mg de NaNO₂ y aforar a un litro con agua desionizada (esta solución tiene una concentración de 200 ppm de N-NO₂)

Solución patrón de nitritos (N-NO₂):

- Tomar 10 mL de la solución stock y aforar a 100 mL con agua desionizada. (esta solución tiene una concentración de 20 ppm de N-NO₂).

Reactivo mixto:

- En un balón aforado de 100 mL, agregar 50 mL de agua desionizada.
- Agregar 1 g de sulfanilamida, mezclar.
- Agregar 0.1 g de N-(1-naftil)-etilendiamida, mezclar
- Agregar 10 mL de Acido fosfórico concentrado y homogenizar.
- Aforar a 100 mL.

Bibliografía

- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500-B. American Public Health Association. Washington D.C.
- Boyd, C. 1992. Water Quality and Pond Soil Analyses for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University.
- Garay, J; Panizzo, L; Lesmes, L; Ramírez, G; Sánchez, J. 1993. Manual de Técnicas Analíticas de Parámetros Físico-químicos y Contaminantes Marinos. Dirección General Marítima. Tercera edición. Armada Nacional de Colombia.

2.3.9. Determinación de nitrógeno Kjeldahl

El nitrógeno es el segundo en importancia para nutrición de muchos sistemas biológicos, sin embargo, gran parte de este se encuentra inmovilizado en forma de nitrógeno orgánico, cuantificar el nitrógeno en este estado es de vital importancia, ya que generalmente la acción microbiológica es capaz de liberarlo, lo que puede generar incremento repentinos en las concentraciones de amonio que puede eutrofizar el agua permitiendo el crecimiento de algas con posible toxicidad para el animal del cultivo y consumir el oxígeno disuelto.

El Método Kjeldahl, oxida todo el nitrógeno orgánico hasta nitrógeno amoniacal, que queda retenido por el bajo pH de la solución, luego, al agregar una solución altamente alcalina, el pH del digerido incrementa y junto con calor, evaporan el amonio en forma de amoniaco, que por condensación se recibe en un medio ácido que nuevamente retiene en amonio que luego es cuantificado por titulación.

Método

Digestión por Kjendahl y cuantificación por titulación.

Objetivo

Determinar las concentraciones de nitrógeno amoniacal según Kjendahl amonio reportado como ppm N-NH₄ (mg/L) en muestras de aguas utilizadas en acuicultura.

Alcance

Este procedimiento aplica a aguas en general.

Equipos y accesorio

- Tubos de muestra 25x100mm o beacker de 100 mL
- Campana extractora de gases
- Digestor
- Micro destilador
- Pipeta automática de 100-1000 µL
- Buretra 25 mL

Reactivos

- Agua desionizada.
- Agua destilada.
- H₂SO₄ 0.02 N
- Solución de digestión
- Solución de ácido Bórico
- Indicador mixto
- Solución NaOH-Na₂S₂O₃

Pre tratamiento de la muestra

No es necesario ningún pre tratamiento de la muestra, sin embargo esta debe ser previamente homogenizada.

Análisis de muestra**Digestión**

- Tomar 25 mL de muestra
- Agregar 10 mL de solución de digestión
- Calentar gradualmente durante una hora, hasta evidenciar cambio de color a verde esmeralda.
- Dejar hervir por 15 minutos.

Figura 19. Cambio de color de la muestra por digestión.



Destilación.

- Enjuagar el balón con 15 mL de agua desionizada.
- Agregar la mezcla al colector de muestra del destilador
- Agregar lentamente por el colector de muestra, 10 mL de solución de hidróxido de sodio-tiosulfato.
- Abrir la llave de paso de agua del destilador y regular el flujo de agua.
- En un beakcer, agregar 15 mL de solución de ácido bórico con 2 gotas de indicador mixto, ubicarlo en la salida de destilación.
- Destilar la muestra hasta que el ácido bórico torne de morado a verde (figura 20)
- Completar a destilación hasta 40 mL
- Registrar el volumen de ácido consumido



Figura 20. Proceso de destilación.

Titulación.

- Titular la muestra del beaker de con H₂SO₄ 0.02N, hasta cambio de color a púrpura (figura 21).



Figura 21. Cambio de color por titulación

Nota: Debe realizarse un blanco con agua destilada.

Cálculos

Para determinar la concentración de N-NH₄ en la muestra, reemplazar la diferencia de absorbancia leída en la ecuación de la recta obtenida en la curva de calibración.

$$\text{ppm NH}_4\text{-N} = \frac{(A - B) \times 280}{C}$$

Donde:

- A:** volumen de H₂SO₄ gastado en la muestra
- B:** volumen de H₂SO₄ gastado en el blanco.
- C:** volumen (mL) de muestra

Interferencias

Sales inorgánicas pueden incrementar la temperatura sobre 400°C, temperatura en la que puede presentarse pérdida de nitrógeno, para esto agregar mayores cantidades de ácido sulfúrico. Los iones de color no interfieren en el Método. Si la cantidad de sólidos suspendidos es muy alta, el ácido puede ser consumido, afectando la relación sal-ácido generando temperaturas superiores a 400°C que pueden resultar en la pérdida del nitrógeno, para esto agregar mayores cantidades de solución de ácido sulfúrico.

Impacto ambiental

En este procedimiento, se generan desechos tóxicos para el medio ambiente y para la salud humana, la mezcla de ácidos fuertes y cobre obligan a descartar estos residuos como metales pesados y debe ser enviado a una empresa que se encargue de su tratamiento.

Preparación de soluciones y reactivos

Solución de digestión:

- Pesar 134 gramos de sulfato de potasio y diluir en 300 mL de agua desionizada.
- Pesar 7.3 gramos de sulfato de cobre y diluir en 300 mL de agua desionizada.
- Mezclar las soluciones y agregar 134 mL de ácido sulfúrico concentrado y completar a 1000 mL con agua desionizada.

Solución Ácido Bórico:

- En un balón aforado de 500 mL, agregar 20 g ácido bórico.
- Aforar a 500 mL con agua desionizada.
- Almacenar en frasco ámbar.

Solución indicadora:

- Pesar 100 mg de rojo de metilo y diluir en 50 mL de etanol.
- Pesar 50 mg de azul de metileno Y diluir en 25 mL de etanol.
- Mezclar las dos soluciones anteriores.
- Almacenar en frasco ámbar

13.4. Solución de Hidróxido de sodio y Tiosulfato de sodio:

- Pesar 250 g de hidróxido de sodio
- Pesar 12.5 g de tiosulfato de sodio
- Agregar 5 g de NaOH, mezclar
- Disolver y aforar a 500 mL con agua desionizada
- Se puede almacenar en un frasco plástico

Solución de Ácido Sulfúrico al 0.02 N

- Tomar 12.8 mL de ácido sulfúrico concentrado y llevar a 500 mL en un balón aforado con agua desionizada, esta solución será equivalente a 1N de H₂SO₄
- De la solución anterior tomar 10 mL y aforar a 500 mL en un balón aforado con agua desionizada, la solución termina con una normalidad de 0.02 H₂SO₄.

Bibliografía

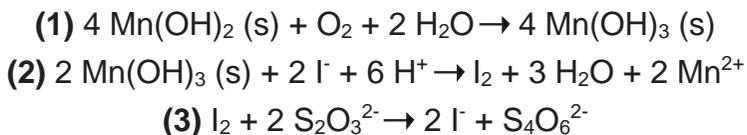
- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500-NH3B. American Public Health Association. Washington D.C.
- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500-N_{org}B. American Public Health Association. Washington D.C.

2.3.10. Determinación de oxígeno disuelto (OD) por el Método de Winkler

El Oxígeno disuelto (OD) es un requerimiento esencial para la mayoría de los organismos vivos presentes en el ecosistema acuático y depende de las actividades biológicas, químicas y físicas del sistema. A mayor actividad la disponibilidad de oxígeno se reduce, y pueden ser favorecidas condiciones anaerobias que no son apropiadas para cultivos acuícolas o sistemas acuáticos ya que son producidos metabolitos tóxicos como H₂S, metano, amonio entre otros, por esta razón es importante tener un control riguroso del OD.

Existen dos Métodos para determinar Oxígeno Disuelto; por medio de electrodos y el Método de Winkler, este último está basado en la oxidación y reducción del yodo (Figura 22) que es cuantificado por titulación y equivalente al oxígeno consumido; es decir, al oxígeno disuelto en la muestra.

Figura 22. Reacción química de consumo de oxígeno en el Método de Winkler.



Objetivo

Determinar la concentración de Oxígeno disuelto (OD) reportados como mg OD/L en muestras de aguas por el Método de Winkler.

Alcance

Este procedimiento aplica a aguas en general.

Equipos y accesorios

- Botellas Winkler 300 mL
- Pipetas volumétricas de 1 mL
- Beacker 100 mL
- Probeta de 25 mL
- Agitador Magnético
- Guantes de nitrilo
- Campana extractora de gases.
- Erlenmeyer 250 mL

Reactivos

- Agua destilada.
- Solución de Manganeso.
- Solución para OD (muestras saturadas o poco saturadas).
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Solución de tiosulfato de sodio 0.025M
- Solución de almidón 2%

Recolección de muestra.

La muestra debe ser recolectada preferiblemente en botellas Winkler, sumergiéndola totalmente evitando que quede aire; en caso de no tener, tomar la muestra en frascos de vidrio de mínimo 500 mL evitando el ingreso del aire. Para conservar la muestra por más de 8 horas; agregar 0.7 mL de H₂SO₄ concentrado y 1 mL de solución de azida sódica. Transportar las muestras refrigeradas (máximo 10°C) en oscuridad. Procesar tan pronto sea posible.

Análisis de la muestra

- Destapar cuidadosamente la botella Winkler
- Tomar la temperatura de la muestra
- Agregar cuidadosamente 1 mL de solución de Manganeso introduciendo la punta pipeta hasta el fondo de la botella.
- Agregar cuidadosamente 1 mL de solución para OD (muestras saturadas o poco saturadas) introduciendo la punta de la pipeta hasta el fondo de la botella.
- Tapar la botella, eliminando el exceso de muestra que quede sobre la tapa.
- Mezclar invirtiendo la botella constantemente durante 30 segundos.
- Dejar reposar hasta que todos los sólidos generados hallan precipitado (Figura 23).
- Destapar la botella Winkler y agregar cuidadosamente (bajo cámara extractora de gases) 1 mL de ácido sulfúrico concentrado introduciendo la punta de la pipeta hasta el fondo de la botella. Descartar el exceso de muestra que queda en la tapa
- Mezclar invirtiendo la botella constantemente hasta que todo el precipitado haya desaparecido, la muestra debe tomar color amarillo (Figura 24).



Figura 23.
Sedimentación de sales.



Figura 24. Solubilización
de sales por adición de ácido.

- Tomar 200 mL de muestra y agregarlo en un elermeyer
- Agregar aproximadamente 300 μ L de solución de almidón 2%. La muestra toma un color azul oscuro - negro
- Titular con Solución de tiosulfato de sodio 0.025M hasta que la muestra se torne transparente (Figura 25).
- Registrar el volumen de tiosulfato de sodio gastado en la titulación.



Figura 25. Cambio de color
por proceso de titulación.

Cálculos

Para 200 mL de muestra titulada, 1 mL de tiosulfato de sodio gastado es equivalente a 1 mg OD/L

Interferencias

Las Botellas Winkler no deben tener burbujas de aire, ya que pueden generar falsos positivos. Los nitratos pueden generar interferencias al reaccionar con yodo, para esto agregar azida sódica (2%p/v).

Impactos para la salud

En este procedimiento se manipulan ácidos fuertes, usar constantemente guantes de nitrilo y procesar la muestra bajo campana extractora de gases. En caso de derrame de reactivos, cubrir con arena absorbente y desechar la arena como residuo peligroso.

Impacto ambiental

En este procedimiento los residuos generados pueden registrar pH menores a 3, deben ser descartados como residuos tipo ácidos y enviados a su respectivo tratamiento a una empresa especializada

Bioseguridad

En este Método son utilizados ácidos fuertes, deben manejarse bajo campana extractora de gases y el uso de guantes de nitrilo es obligatorio.

Preparación de soluciones y reactivos

Solución de Manganeso:

- En un balón de 1000 mL agregar 36.4 gramos de sulfato manganeso.
- Aforar con agua destilada
- Almacenar en un frasco ámbar.

Solución para OD (saturado y poco saturado):

- Pesar 500 gramos de Hidróxido de sodio (NaOH) y agregarlos al frasco ámbar de 1 litro
- Pesar 170 gramos de Ioduro de Potasio (KI) y agregarlos al frasco ámbar
- Agregar 500 mL de agua destilada y poner en agitación a 120 rpm durante 15 minutos (**Precaución la mezcla es exotérmica, manipular cuidadosamente**)
- Agregar 500 mL de agua destilada y dejar en agitación hasta que todo este disuelto.

Solución de tiosulfato de sodio 0.025M:

- En un balón de 500 mL agregar 100 mL de agua destilada.
- Pesar y agregar 0.4 g de hidróxido de sodio (NaOH).
- Pesar y agregar 6.25 g de tiosulfato de sodio
- Adicionar 100 mL de agua destilada y mezclar hasta que todo este disuelto.
- Aforar y almacenar en un frasco ámbar.

Solución de almidón 2%:

- Pesar 2 gramos de almidón grado reactivo y aforar a 100 mL con agua destilada.
- Almacenar en frasco ámbar refrigerado a 4°C

Bibliografía

- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500-O,D. American Public Health Association. Washington D.C.

2.3.11. Determinación de conductividad eléctrica (CE)

Conductividad Eléctrica (CE) es la medida de la capacidad que tiene una solución de transmitir corriente eléctrica; las unidades de expresión son Siemens/cm o S/cm. Esta medida puede dar un valor presuntivo de la cantidad de iones inorgánicos presentes (calcio, magnesio, sodio, manganeso entre otros) lo que implica que este Método puede determinar de manera

presuntiva la cantidad de iones como el calcio y magnesio que son característicos de dureza en aguas, sin embargo no pueden ser diferenciados. La CE es útil porque con ella se puede establecer el grado de mineralización de una solución, esto quiere decir que puede ser determinada la cantidad de iones disponibles en cultivos acuícolas que son de vital importancia para la fisiología de animal.

La medición se realiza con un electrodo de Conductividad, el cual, registra el valor en mS/cm, con su respectiva corrección por temperatura.

Objetivo

Determinar Conductividad Eléctrica en muestras de aguas.

Método

Determinación de Conductividad Eléctrica (CE) medido en mS/cm mediante lectura con electrodos

Alcance

Este manual aplica muestras de aguas en general.

Materiales y equipos

- Becker 100 mL
- Electrodo de CE
- Varilla de vidrio



Figura 26. Electrodo de Conductividad eléctrica, salinidad y sólidos totales disueltos.

Reactivos

- Agua destilada
- Solución de calibración de 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$

Recolección de muestra

La muestra puede ser almacenada en frasco plástico y refrigerada, se recomienda realizar la lectura en el menor tiempo posible.

Pre tratamiento

No es necesario ningún tipo de pre tratamiento

Procedimiento

- En un beacker de 100 mL agregar 80 mL de muestra
- Mezclar con una varilla de vidrio
- Leer CE sumergiendo el electrodo, se debe esperar mínimo 30 segundos para que la lectura se estabilice.

Calibración y mantenimiento

- Debe realizarse una calibración diariamente antes de su uso con soluciones de calibración de 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Este procedimiento debe ser realizado por personal capacitado y autorizado.
- El electrodo de CE y temperatura debe ser lavado con agua destilada entre muestras, en caso de tener adherida materia orgánica en los electrodos, en necesario lavarlos con jabón alcalino para vidriera y enjuagar con abundante agua destilada.

Interferencias.

Es necesario realizar correcciones en la lectura de CE según la temperatura, para esto, el equipo tiene corrección automática, así que no es necesario realizar cálculos adicionales.

Estándares de bioseguridad

Una vez las muestras sean analizadas, deben ser mezcladas con una solución de hipoclorito de sodio al 7 % en relación 1:1 y posteriormente tratadas como residuos biológicos.

Bibliografía

• Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater; Method 2510B, American Public Health Association,. Washington DC.

2.3.12. Determinación de pH

El pH es definido como el inverso del logaritmo de la cantidad de hidrogeniones o protones (H^+) presentes en solución; este es importante ya que es la medida de acidificación de la muestra, y de este depende la capacidad de degradación biológica de la materia orgánica. En condiciones acidas, algunos organismos no tienen la capacidad de sobrevivir, es por eso que un control en este parámetro, puede favorecer la productividad de un sistema. El pH es determinado usando un electrodo de vidrio junto con un electrodo de temperatura.

Objetivo

Determinar el pH en muestras de aguas.

Método

Determinación de pH mediante lectura por electrodos

Alcance

Este manual aplica muestras de aguas en general.

Equipos y accesorios

- Becker 100 mL
- pH metro (figura 27)
- Varilla de vidrio



Figura 27. Equipo Multiparámetro, (medidor de pH, Conductividad eléctrica, Potencial de oxido reducción y salinidad)

Reactivos

- Agua destilada
- Solución buffer pH 4.00
- Solución buffer pH 7.00
- Solución buffer pH 10.00

Procedimiento

- En un beacker de 100 mL agregar 80 mL de muestra
- Mezclar con una varilla de vidrio
- Leer el pH sumergiendo el electrodo

Calibración y mantenimiento

- Debe realizarse una calibración diariamente con soluciones tampón de pH equivalente a 4.0, 7.0 y 10. Este procedimiento debe ser realizado por personal capacitado y autorizado.
- El electrodo de pH y temperatura debe ser lavado con agua destilada entre muestras, en caso de tener adherida materia orgánica en los electrodos, en necesario lavarlos con jabón alcalino para vidriera y enjuagar con abundante agua destilada.

Interferencias.

Es necesario realizar correcciones en la lectura de pH según de la temperatura, para esto, el equipo tiene corrección automática, así que no es necesario realizar cálculos adicionales.

Nota. Es importante leer el pH y la temperatura en conjunto, ya que de no hacerlo, puede generar errores en la lectura.

Estándares de bioseguridad

Una vez las muestras sean analizadas, deben ser mezcladas con una solución de hipoclorito de sodio al 7 % en relación 1:1 y posteriormente tratadas como residuos biológicos.

Bibliografía

- Boyd, C. 1992. Water Quality Pond Soil Analyses For Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University.
- Armada nacional, Dirección general de Cartagena. 1993. Manual de Técnicas Analíticas de Parámetros Físicos – Químicos y Contaminantes Marinos. Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas. Cartagena, Colombia.
- Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, method 2320. Washington DC.

2.3.13. Determinación del potencial de oxido reducción (ORP)

Todos los elementos químicos en función de su configuración electrónica pueden ceder electrones y quedar con carga positiva o ganar electrones y cargarse negativamente. Cuando un elemento cede un electrón se dice que se oxida y cuando lo gana se dice que se reduce.

El conjunto de un oxidante y un reductor se conoce como sistema redox. Entre ambos elementos existe una transferencia de electrones que genera una corriente eléctrica, marcada por una diferencia de potencial entre ambos.

La capacidad de oxidación o reducción de un constituyente inorgánico está controlada por factores biológicos y químicos como los microorganismos y el oxígeno, que estimulan la oxidación o reducción de estos constituyentes, por otra parte la materia orgánica esta reducida y tiende a oxidarse, para lo cual el oxígeno es fundamental. Al reducirse los niveles de oxígeno, la capacidad de transferencia de electrones disminuye, por lo cual, son usados otros aceptores finales de electrones en vez del oxígeno, es el caso de nitratos o sulfatos que son característicos de metabolismo anaerobio y por ende de la producción de metabolitos tóxicos como lo es el H₂S, metano, amonio, entre otros.

El Potencial de Oxido Reducción (ORP en ingles) es la medida del potencial de transferencia de electrones en una solución y es expresada en mV (miliVoltios), surge en importancia al dar información del tipo de reacción biológica que podría predominar en un sistema de cultivo acuícola, como ejemplo: nitrificación, amonificación, reducción de sulfatos, entre otros. Entonces al conocer esta medida y otros factores biológicos y químicos (Oxígeno y el pH), podría servir para determinar la acumulación de un ion inorgánico específico, y tomar así, medidas necesarias de ser caso.

El ORP es medido con un electrodo, quien entrega el resultado en mV corregido según la temperatura de la solución.

Objetivo

Determinar el potencial de oxido reducción en muestras de aguas.

Método

Determinación del Potencial de Oxido Reducción (ORP) medido en mV mediante lectura con electrodos

Alcance

Este manual aplica muestras de aguas en general.

Equipos y accesorios

- Becker 100 mL
- Electrodo medidor de ORP (figura 28)
- Varilla de vidrio

Figura 28. Electrodo medidor del Potencial de Oxido Reducción (ORP)



Reactivos

- Agua destilada
- Solución de calibración oxidante
- Solución de calibración de reducción

Procedimiento

- En un beacker de 100 mL agregar 80 mL de muestra
- Mezclar con una varilla de vidrio
- Leer ORP sumergiendo el electrodo

Calibración y mantenimiento

- Debe realizarse una calibración diariamente antes de su uso con soluciones de calibración de oxidación y de reducción. Este procedimiento debe ser realizado por personal capacitado y autorizado.
- El electrodo de ORP y temperatura debe ser lavado con agua destilada entre muestras, en caso de tener adherida materia orgánica en los electrodos, en necesario lavarlos con jabón alcalino para vidriera y enjuagarlos con abundante agua destilada.

Interferencias.

Es necesario realizar correcciones en la lectura de ORP según de la temperatura, para esto, el equipo tiene corrección automática, así que no es necesario realizar cálculos adicionales.

Bibliografía

- Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater; Method 2580, American Public Health Association,. Washington DC.

2.3.14. Determinación de salinidad

La salinidad es una propiedad natural de aguas marinas, está definida por la suma de todas las sales disueltas, pero se representa en función al NaCl. Su importancia radica ya que es el factor de regulación osmótica para muchas células y variaciones repentinas en la salinidad puede afectar funciones celulares.

El Método eléctrico se fundamenta en la cuantificación de los Sólidos Disueltos totales, multiplicados por un factor de corrección (0.6) y en función de la temperatura usando un electrodo, mientras que el uso del refractómetro se fundamenta en densidades del agua. La selección del Método radica en la disponibilidad del equipo, siendo en Método eléctrico más sensible y preciso.

Objetivo

Determinar la concentración de NaCl expresadas en partes por mil o g/L en muestras de agua.

Método

Determinación de Concentración de sal en función de NaCl por los Métodos de Conductividad Eléctrica (CE) y lectura en refractómetro.

Alcance

Este procedimiento aplica para aguas en general

Materiales y equipos

- Refractómetro
- Equipo Multiparámetro (Electrodo de CE)
- Varilla de vidrio

Reactivos

- Agua destilada
- Solución de calibración de 30 g/L de NaCl

Recolección de muestra

La muestra puede ser almacenada en frasco plástico y refrigerada, se recomienda realizar la lectura en el menor tiempo posible.

Procedimiento**Método por Refractómetro**

- Calibrar el refractómetro agregándole 1 mL de agua destilada, llevando la línea indicadora a cero.
- Colocar 1 mL la muestra sobre la superficie del refractómetro y leer la indicadora en la escala de ppm

Método por Conductímetro

- Revisar que el equipo este en correcto estado para la lectura de salinidad en g/L.
- Mezclar con una varilla de vidrio
- Leer Salinidad sumergiendo el electrodo, se debe esperar mínimo 30 segundos para que la lectura se estabilice.

Calibración y mantenimiento

- Debe realizarse una calibración diariamente antes de su uso con soluciones de calibración de 30 g/L. Este procedimiento debe ser realizado por personal capacitado y autorizado.
- El electrodo de CE y temperatura debe ser lavado con agua destilada entre muestras, en caso de tener adherida materia orgánica en los electrodos, en necesario lavarlos con jabón alcalino para vidriera y enjugar con abundante agua destilada.

Interferencias.

Al usar el Método eléctrico es necesario realizar correcciones en la lectura de salinidad según la temperatura, para esto, el equipo tiene corrección automática, así que no es necesario realizar cálculos adicionales.

Estándares de bioseguridad

Una vez las muestras sean analizadas, deben ser mezcladas con una solución de hipoclorito de sodio al 7 % en relación 1:1 y posteriormente tratadas como residuos biológicos.

Bibliografía

- Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater; Method 2520-B, American Public Health Association,. Washington DC.

2.3.15. Determinación de sólidos sedimentables

En la columna de agua, la presencia de material participado orgánico e inorgánico (llamados también sólidos sedimentables), pueden incrementar el consumo de oxígeno disuelto limitando las concentraciones de oxígeno y cambiando condiciones químicas como alcalinidad y pH; al evaluar los sólidos sedimentables es posible controlar el consumo de oxígeno y cambios bruscos de pH en el sistema evitando condiciones perjudiciales para el animal en producción.

El Método de sedimentación con conos imhoff es sencillo y económico, y en el caso de cultivos con altas concentraciones de sólidos en suspensión, suele ser más viable en comparación a su homologó, sólidos suspendidos totales, que puede generar errores.

Objetivo

Determinar la cantidad de sólidos sedimentables en cm^3/L de un cuerpo de agua utilizado en la acuicultura al permanece sin movimiento.

Método

Sedimentación por conos imhoff.

Objetivo

Determinar los sólidos sedimentables en muestras de aguas reportados como cm^3/L que es equivalente a mL/L .

Alcance

Este manual aplica a muestras de aguas en general.

Equipos

- Conos imhoff.

Recolección de muestra.

Debe ser tomada una muestra de más de 3 litros de la columna de agua trasportar refrigerada y en el menor tiempo posible.

Análisis de muestra

- En un cono imhoff, agregar un litro de muestra.
- Dejar reposar por una hora
- Leer en la cantidad de sólidos sedimentables (figura 29)
- Anotar y registrar como cm^3/L .



Figura 29. Sedimentación de sólidos en conos Imhoff

2.3.16. Determinación de sólidos suspendidos y disueltos

Determinar la cantidad de sólidos totales, fijos, y volátiles representados en g/L que se encuentran en los cuerpos de aguas utilizados acuicultura.

Método

Métodos de filtración y evaporación.

Alcance

Este manual aplica muestras de aguas en general.

Equipos:

- Balanza analítica
- Desecador
- Horno de 100-250°C

Materiales e insumos:

- Crisoles
- Probetas de 100 mL
- Pinzas
- Guantes resistentes al calor
- Recolector de muestras
- Crisoles
- Papel filtro de nitrocelulosa de 47 mm de diámetro y 0.45 µm de diámetro de poro.
- Equipo de vacío.



Figura 30. Filtro de nitrocelulosa de 47 mm de diámetro y 0.45 µm de diámetro de poro

Sólidos totales:

- Pesar el papel filtro (previamente seco a 60°C durante 2 horas)
- Filtrar 100 mL de muestra por medio de filtro de membrana de nitrocelulosa o vidrio de 0.45 µm de diámetro hasta dejar seco por completo el filtro.
- Tomar el papel y someterlo a 120°C por 1 hora.
- Pesar el papel filtro con muestra seca.
- Realizar los cálculos.

Calibración:

Realizar la calibración de la balanza analítica, pesando varias veces la pesa estándar, para obtener la media y la desviación estándar.

Cálculos:

La concentración en g/L de sólidos suspendidos y sólidos disueltos se determina a partir de las siguientes ecuaciones:

$$SS \text{ g/L: } (PMS - PPS) \times (1000/\text{mL muestra})$$

$$SD \text{ g/L: } (ST - SS) \times (1000/\text{mL muestra})$$

Donde:

SS: Sólidos suspendidos.

PMP: peso (g) de muestra más papel filtro seco.

PPS: peso (g) del papel filtro seco.

SD: sólidos suspendidos.

ST: sólidos totales

Impactos a la salud:

Precaución al momento de calcinar las muestras ya que se trabaja con altas temperaturas (120°C)

Bibliografía:

- Boyd, C. 1992. Water Quality Pond Soil Analyses For Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University.
- Armada nacional, Dirección general de Cartagena. 1993. Manual de Técnicas Analíticas de Parámetros Físicos – Químicos y Contaminantes Marinos. Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas. Cartagena, Colombia.
- Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association. Washington DC.

2.3.17. Determinación de sólidos totales, fijos y volátiles**Objetivo**

Determinar la cantidad de sólidos (totales, fijos, y volátiles) en g/L que se encuentran presentes en los cuerpos de aguas utilizados acuicultura.

Método

Métodos de evaporación y calcinación.

Alcance

Este manual aplica a muestras de aguas en general.

Equipos:

- Balanza analítica
- Desecador
- Horno de 100-250°C
- Muffla (500°C)

Materiales e insumos:

- Crisoles (Figura 31)



Figura 31. Crisoles de porcelana

- Pipetas aforadas (10 mL)
- Pinzas
- Guantes resistentes al calor
- Recolector de muestras

Recolección de muestra.

Las muestras deben ser almacenadas en recipientes de vidrio o plástico y refrigerar inmediatamente; procesar las muestras en el menor tiempo.

Procedimiento

Sólidos totales

- Recolección de muestra
- Pesarse el crisol vacío y previamente seco a 120°C por 24h
- Agregar 10 mL de la muestra y someter a 100°C durante una hora aproximadamente hasta que seque totalmente la muestra
- Enfriar en desecador con sílica gel.
- Pesarse el crisol nuevamente y realizar cálculos.

Sólidos fijos

- Inmediatamente se obtengan los sólidos totales llevar a la mufla a 500°C durante una hora y media
- Dejar enfriar 2 o 3 horas y llevar al desecador durante 15 minutos.
- Pesarse el contenido del crisol y realizar cálculos (numeral 10).

Sólidos volátiles

- La diferencia entre los sólidos totales y fijos son los sólidos volátiles.

Calibración:

Realizar la calibración de la balanza analítica, pesando varias veces la pesa estándar, para tener un control de la variación en la medida.

Cálculos

La concentración en g/L de sólidos totales, fijos y volátiles se determina a partir de las siguientes ecuaciones:

$$\text{Sólidos totales (ST) g/L} = (\text{PCS} - \text{PCV}) \times (1000/\text{mL muestra})$$

$$\text{Sólidos fijos (SF) g/L} = (\text{PCS} - \text{PCM}) \times (1000/\text{mL muestra})$$

$$\text{Sólidos volátiles (SV) g/L} = (\text{ST} - \text{SF}) \times (1000/\text{mL muestra})$$

Donde:

PF: peso (g) final

PCS: peso (g) del crisol con muestra después de sacado a 100°C

PCV: peso (g) del crisol vacío

PCM: peso (g) del crisol después de calcinación a 500°C.

Impactos a la salud

Precaución al momento de calcinar las muestras ya que se trabaja con altas temperaturas (500°C)

Bibliografía

- Boyd, C. 1992. Water Quality Pond Soil Analyses For Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University.
- Armada nacional, Dirección general de Cartagena. 1993. Manual de Técnicas Analíticas de Parámetros Físicos – Químicos y Contaminantes Marinos. Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas. Cartagena, Colombia.
- Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater, Method 2540-B,C,D. American Public Health Association. Washington DC.

2.4. PROTOCOLOS PARA ANÁLISIS DE SUELOS

2.4.1. Determinación del contenido de humedad

Objetivo

Determinar el contenido de humedad en muestra de suelos representados en porcentaje.

Método

Métodos de evaporación.

Alcance

Este manual aplica muestras de suelos en general.

Equipos

- Balanza analítica
- Desecador
- Horno de 100-250°C

Materiales e insumos

- Crisoles
- Pinzas
- Guantes resistentes al calor
- Bolsas plásticas Ziploc de un (1) kilogramo

Procedimiento:

- Recolección de muestra (ver protocolo)
- Pesar el crisol vacío y previamente seco a 120°C por 24h
- Agregar 15 gramos de suelo muestra en el crisol.
- Secar a 105°C por 24 horas.
- Enfriar en desecador
- Pesar el crisol nuevamente
- Realizar cálculos.

Nota: este procedimiento debe realizarse por triplicado.

Calibración:

Realizar la calibración de la balanza analítica, pesando varias veces la pesa estándar, para obtener la media y la desviación estándar.

Cálculos:

Contenido de humedad medido en porcentaje:

$$\%H = \frac{(W - S) \times 100}{W}$$

Donde:

%H: porcentaje de humedad.

W: peso de la muestra sin secar.

S: peso de la muestra seca a 105°C.

Impactos a la salud:

Precaución al momento de calcinar las muestras ya que se trabaja con altas temperaturas (105°C)

Bibliografía:

•Guzmán I; 1990. Métodos Analíticos del Laboratorio de Suelos. 5ª. Edición. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Bogotá.

2.4.2. Determinación de carbono total

El carbono es un elemento importante de suelos agrícolas por que con este se determina la posible cantidad de nutrientes en suelos, en acuicultura, la presencia de carbono total, indica acumulaciones de materia orgánica que puede desfavorecer el sistema y afectar la calidad del cultivo.

El Método por digestión para la determinación de carbono orgánico en suelos se fundamenta en la oxidación de la materia orgánica con el dicromato de potasio y el ácido sulfúrico, el cromo residual resultante de la oxidación del carbono orgánico se cuantifica por titulación o por espectrofotometría.

Objetivo

Determinar la concentración de carbono total expresada como porcentaje (g/kg)

Método

Digestión con dicromato de potasio y cuantificación por espectrofotometría.

Alcance

Este procedimiento aplica para muestras de suelos en general.

Equipos y accesorios

- Campana extractora de gases
- Pipetas volumétricas de 5 mL
- Pipetas volumétricas de 10 mL
- Pipetas aforadas de 10 mL
- Beacker de 100 mL
- Espectrofotómetro con longitud de onda de 600 nm
- Pipeta automática de 20-200 μ L

Reactivos

- Agua destilada
- Solución de dicromato de potasio 2N
- Ácido sulfúrico concentrado
- Glucosa grado reactivo

Recolección de muestra

Las muestras deben ser en bolsas Ziplock de 1 kg, si el tiempo de transporte es prolongado, refrigerar a 4°C. (máximo).

Pre-tratamiento de la muestra

Secar la muestra a temperatura ambiente y macerar levemente retirando las impurezas como pedazos de concha de molusco o madera. Si la muestra presenta partículas de gran tamaño, debe ser tamizada por tamiz de 2 mm (ver protocolo tamizado de suelos).

Preparación de la curva de calibración

Para preparar la curva de calibración de C, se debe pesar una cantidad conocida de glucosa, que sea equivalente en porcentaje a carbono, con el fin de obtener 5 concentraciones que se encuentren entre 0-6 %C; en la tabla 8 se especifica la cantidad de glucosa necesaria. Esta curva debe ser renovada cada dos meses.

Tabla 8. Preparación de curva de calibración de carbono

% de carbono	Gramos de glucosa
0	0
1	0.025
2	0.05
4	0.1
5.5	0.1375

Procedimiento

- Tomar 1 g de muestra y agregarlos en un beacker de 100mL
- Agregar 20 mL de solución de dicromato de potasio 2N
- Agregar 20 mL lentamente de ácido sulfúrico concentrado, agitar constantemente (**La reacción es exotérmica y se liberan gases, manipular con precaución y bajo campana extractora de gases**).
- Dejar enfriar
- Filtrar con malla de fibra de vidrio
- Aforar a 100 mL y mezclar, la muestra tronara roja a verde, mientras mayor la concentración más oscuro será el color (figura 32).
- Leer Absorbancia en espectrofotómetro a 600 nm.

Nota: Se debe preparar un blanco procesando sin muestra.

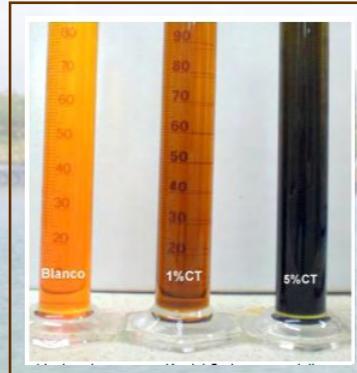


Figura 32. Cambio de color por reacción del Carbono con el dicromato de potasio.

Cálculos

$$\%C = \frac{Abs(600nm) - b}{m}$$

Donde

b: Intercepto de la recta

m: pendiente

Para determinar el porcentaje de materia orgánica:

$$\% M.O. = \%C \times 1.724$$

Calibración y mantenimiento

La curva de calibración debe realizarse cada dos meses o si al procedimiento se le realiza algún cambio.

Interferencias

Volátiles orgánicos de cadena corta no son oxidados considerablemente, ya que estos están disueltos en espacios gaseosos que no entran en contacto con la solución oxidante. Para esto el uso de sulfato de plata (Hg_2SO_4), sin embargo esta sal puede reaccionar con cloruros, ioduros y bromuros, produciendo precipitados que son oxidados parcialmente.

Impactos a la salud

Al macerar las muestras de suelo, este puede generar polvo el cual puede ocasionar molestias respiratorias; se sugiere el uso del tapabocas para el desarrollo de este procedimiento.

Se manipulan reactivos altamente nocivos, como es el dicromato de potasio, al preparar las soluciones usar máscara de gases y guantes de nitrilo. Durante el procedimiento, la manipulación de solución de dicromato de potasio y ácido sulfúrico involucra uso constante de guantes de nitrilo y trabajar bajo campana extractora de gases.

Impactos ambientales

Este procedimiento se producen impacto ambiental considerable, el dicromato de potasio es considerado metal pesado, por lo cual deben ser descartados y enviados a su respectivo tratamiento a una empresa especializada.

Bioseguridad

Una vez analizada las muestras, deben ser sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio al 7% en relación 1:1 y posteriormente tratadas como residuos biológicos.

Preparación de reactivos

• Solución dicromato de potasio 2 N:

- Pesar 49 g de $K_2Cr_2O_7$ previamente seco durante 2 horas a $103^\circ C$
- Agregarlos en una balón aforado de 500 mL
- Agregar 100 mL de agua desionizada
- Mezclar y aforar con agua desionizada.

Bibliografía

- Boyd, C. 1992. Water Quality and Pond Soil Analyses for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University.
- Guzmán I; 1990. Métodos Analíticos del Laboratorio de Suelos. 5ª. Edición. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Bogotá.

2.4.3. Determinación del porcentaje de cenizas

Objetivo

Determinar el porcentaje de cenizas en muestras de suelos.

Alcance

Este procedimiento aplica para muestras de suelo, previamente secadas y tamizadas con malla de 2mm.

Materiales y equipos

- Crisoles
- Balanza analítica
- Mufla

- Desecador
- Espátula
- Pinzas

Pre-tratamiento de la muestra

Secar la muestra a temperatura ambiente y macerar levemente retirando las impurezas como pedazos de concha de moluscos o madera. Si la muestra presenta partículas de gran tamaño, debe ser tamizada por tamiz de 2 mm (ver protocolo tamizado de suelos).

Procedimiento

- Pesar un crisol completamente limpio y seco
- Agregar 2 gramos de muestra de suelo, previamente secada, macerada y tamizada al crisol.
- Secar la muestra en la mufla a 500 °C por 1.5 horas
- Dejar enfriar en desecador (figura 33)
- Pesar nuevamente.



Figura 33. Proceso de enfriamiento de las cenizas dentro del desecador.

Los cálculos se realizan de la siguiente manera:

$$\% \text{cenizas} = \frac{(W_c - W_b) * 100}{(W_a - W_b)}$$

Donde:

W_a : peso del crisol + muestra

W_b : peso del crisol vacío

W_c : peso del crisol + muestra después de mufla

Calibración y mantenimiento

- Debe realizarse calibración de la balanza antes de su uso con una pesa estándar calibrada de 20 gramos.
- Se debe realizar mantenimiento preventivo a la mufla.

Impactos a la salud

Al macerar las muestras de suelo, este puede generar polvo el cual puede ocasionar molestias respiratorias; se sugiere el uso del tapabocas para el desarrollo de este procedimiento.

Tener precaución al calcinar la muestra pues se manejan altas temperaturas. Utilizar pinzas para el manejo de los crisoles calientes

Bioseguridad

Una vez analizadas las muestras, deben ser sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio al 7% en relación 1:1 y posteriormente tratadas como residuos biológicos.

Bibliografía

Guzmán I; 1990. Métodos Analíticos del Laboratorio de Suelos. 5ª. Edición. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Bogotá.

2.4.4. Determinación de densidad relativa**Objetivo**

Determinar la densidad de muestras relativa de suelos.

Alcance

Este procedimiento aplica para muestras de suelo, previamente secadas y tamizadas con malla de 2mm.

Materiales y equipos

- Probeta volumétrica 10 mL
- Balanza analítica
- Espátula

Pre-tratamiento de la muestra

Secar la muestra a temperatura ambiente y macerar levemente retirando las impurezas como pedazos de concha de molusco o madera. Si la muestra presenta partículas de gran tamaño, debe ser tamizada por tamiz de 2 mm (ver protocolo tamizado de suelos).

Procedimiento

- Pesar 10 g de suelo previamente secado y tamizado.
- Verter la muestra anterior en una probeta de 10 mL, completamente limpia y seca (figura 34). No dejar perder muestra.
- Compactar la muestra con golpes suaves y constantes de la probeta sobre una superficie plana por aproximadamente 1 min.
- Medir el volumen ocupado por la muestra de suelo.
- Pesar la muestra utilizada.
- Realizar los siguientes cálculos

$$\text{Densidad del suelo (d)} = \frac{\text{Gramos de suelo (g)}}{\text{Volumen ocupado (ml)}}$$

Los valores se reportaran como g/mL

Calibración y mantenimiento

- Debe realizarse calibración de la balanza antes de su uso con una pesa estándar calibrada de 20 gramos.

Impactos a la salud

Al macerar las muestras de suelo puede generar polvo el cual puede ocasionar molestias respiratorias; se recomienda el uso del tapabocas en el desarrollo de este procedimiento.



Figura 34. Determinación de densidad aparente.

Impactos ambientales

El desarrollo de este procedimiento no genera ningún impacto sobre el ambiente, debido a que no se emplean reactivos ni sustancias nocivas.

Bioseguridad

Una vez analizada las muestras, deben ser sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio al 7% en relación 1:1 y posteriormente tratadas como residuos biológicos.

Bibliografía

• Guzmán I; 1990. Métodos Analíticos del Laboratorio de Suelos. 5ª. Edición. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Bogotá.

2.4.5. Textura en suelos

Se define textura a la clasificación de los suelos según la concentración de arena, limo y arcilla. La textura del suelo es un factor importante ya que define los posibles usos del suelo y las condiciones del mismo dependiendo de su capacidad de retención de agua. El método utilizado, favorece la solubilización de las partículas permitiendo generar diferentes densidades en una solución a diferentes tiempos y por medio de estas, se puede definir lo los porcentajes de arena, limo y arcilla.

Objetivo

Determinar la textura de un suelo húmedo.

Método

Determinación textura con solubilización de la muestra en Hexametáfosfato de sodio.

Alcance

Este procedimiento aplica para suelos en general

Materiales y equipos

• Hidrómetro de Bouyoucus



Figura 35. Hidrómetro de Bouyoucus

- Cronometro
- Probeta de 500 mL
- Varilla de vidrio

Reactivos

- Agua destilada
- Solución de dispersante

Recolección de muestra

La muestra puede ser almacenada en bolsas Ziploc con sello hermético y refrigerarlas inmediatamente.

Procedimiento

- Tomar 100 g de muestra, y diluirle en relación 2/3 con agua destilada.
- Agregar 50 mL del agente dispersante
- Agitar durante a 220 rpm durante 12 horas.
- Trasferir a una probeta de 500 mL y agitar con una varilla de vidrio.

- Sumergir el hidrómetro de Bouyoucus
- Leer la densidad y temperatura a 0, 40 minutos y nuevamente a las 2 horas.
- Completar la tabla 9.

Tabla 9. Registro densidades

Tiempo (minutos)	Densidad (δ)
0	
4	
120	

- Corregir la densidad según la temperatura, si esta está por debajo de 20°C restar 0.36 g/L y si esta sobre 20°C agregar 0.36 g/L al resultado.
- Simultáneamente, tomar dos replicas 50 gramos de muestra
- La réplica 1: pesar y secar a temperatura ambiente, pesar nuevamente
- La réplica dos: pesar y secar la muestra en horno 105°C durante 24 horas, pesar nuevamente.
- Determinar el porcentaje de peso seco, según la siguiente formula

$$\text{Porcentaje de peso seco (\%PPS)} = \frac{WA}{WB} * 100$$

Donde:

WA: peso de suelo seco en Horno

WB: peso de suelo seco a temperatura ambiente.

- Determinar el porcentaje de arena, limo y arcilla con las siguientes formulas.

$$\text{Peso seco de suelo (PPS)} = \frac{50 * PPS}{100}$$

$$\% \text{Arcilla y limo} = \frac{d \text{ corregida } 40 \text{ seg}}{PPS} * 100$$

$$\% \text{Arcilla (Granos menores a } .002 \text{ mm)} = \frac{d \text{ corregida } 40 \text{ seg}}{PPS} * 100$$

$$\% \text{Limo (granos entre } 0.05\text{-}0.002\text{)mm} = (\% \text{Arcilla y limo}) - \% \text{Arcilla}$$

$$\% \text{Arena (Granos de } 2\text{-}0.05\text{mm)} = 100 - (\% \text{Arcilla} + \% \text{Limo})$$

Donde:

d: Densidad

A: Lectura corregida con temperatura.

PPS: Peso seco de la muestra

- Determinar el tipo de suelo usando el triangulo de suelos (figura 2) situándose en las flechas y los porcentajes de arena, limo y arcilla.

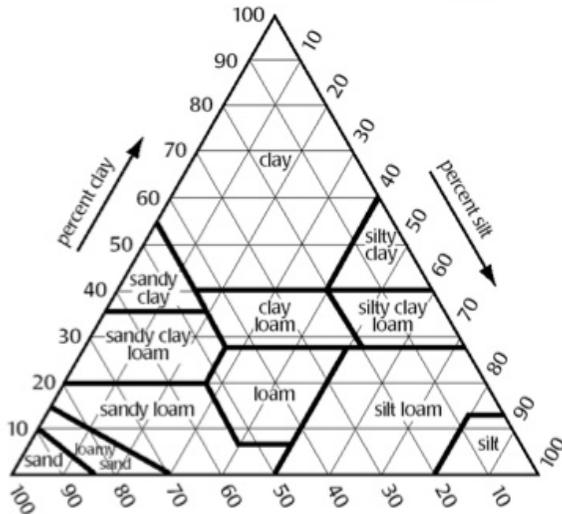


Figura 36. Triángulo de suelos (Boyd, 1992).

Interferencias.

Al usar el Método eléctrico es necesario realizar correcciones en la lectura de salinidad según la temperatura, para esto, el equipo tiene corrección automática, así que no es necesario realizar cálculos adicionales.

Estándares de bioseguridad

Una vez las muestras sean analizadas, deben ser mezcladas con una solución de hipoclorito de sodio al 7 % en relación 1:1 y posteriormente tratadas como residuos biológicos.

Preparación de reactivos

• Solución dispersante:

- Pesar 35.7 g de Hexametáfosfato de sodio ((NaPO_4)₆) y 7.94 g de carbonato de sodio (Na_2CO_3).
- Diluir en 1 litro de agua destilada.

Bibliografía

- Boyd C. 1992. Water quality ponds soil analyses for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University.
- Guzmán I; 1990. Métodos Analíticos del Laboratorio de Suelos. 5ª. Edición. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Bogotá.

2.4.6. Nitrógeno total en suelos (Kjendahl)

Las concentraciones de nitrógeno en suelos son de vital importancia por que delimitan la capacidad de las bacterias para degradar materia orgánica. En sistemas acuícolas, la cantidad de materia orgánica generada depende de la actividad metabólica de la especie en cultivo y del alimento suministrado. Cosechadas la piscinas, la cantidad de materia orgánica restante en los suelos genera problemas de calidad de aguas, por lo cual, controlar dichas concentraciones es importante, si se evalúan las concentraciones de nitrógeno puede ser estimulada la degradación natural de la materia orgánica presente.

El Método Kjeldahl, oxida todo el nitrógeno orgánico hasta nitrógeno amoniacal, que queda retenido por el bajo pH de la solución, luego, al agregar una solución altamente alcalina, el pH del digerido incrementa y junto con calor, evaporan el amonio en forma de amoniaco, que por condensación se recibe en un medio ácido que nuevamente retiene en amonio que luego es cuantificado por titulación.

Método

Digestión por Kjendahl y cuantificación por titulación.

Objetivo

Determinar las concentraciones de nitrógeno amoniacal según Kjendahl amonio reportado como ppm N-NH₄ (mg/L) en muestras de aguas utilizadas en acuicultura.

Alcance

Este procedimiento aplica a aguas en general.

Equipos y accesorios

- Tubos de muestra 25x100mm o beacker de 100 mL.
- Campana extractora de gases
- Digestor
- Micro destilador
- Pipeta automática de 100-1000 µL
- Buretra 25 mL

Reactivos

- Agua desionizada.
- Agua destilada.
- H₂SO₄ 0.02 N
- Sulfato de potasio KSO₄
- Sulfato de cobre CuSO₄
- Solución de acido Bórico 4%p/v
- Indicador mixto
- Solución NaOH-Na₂S₂O₃

Pre tratamiento de la muestra

La muestra debe ser secada a temperatura ambiente, macerada y tamizada por tamiz de 2 mm.

Análisis de muestra**Digestión**

- Tomar 0.25 gramos de la muestra de suelo.
- Agregar 0.15 gramos de Sulfato de Cobre.
- Agregar 2.5 gramos de Sulfato de potasio.
- Agregar 7.5 mL de Acido Sulfúrico concentrado.
- Colocar los balones en el digestor y prender.
- Esperar a que la muestra cambie a color verdoso azulado.
- Dejar hervir por 15 minutos



Figura 37. Cambio de color de la muestra por digestión.

Destilación.

- Enjuagar el balón con 15 mL de agua desionizada.
- Agregar la mezcla al colector de muestra del destilador
- Agregar lentamente por el colector de muestra, 10 mL de solución de hidróxido de sodio-tiosulfato.
- Abrir la llave de paso de agua del destilador y regular el flujo de agua.
- En un beaker, agregar 15 mL de solución de ácido bórico con 2 gotas de indicador mixto, ubicarlo en la salida de destilación (figura 38).
- Destilar la muestra hasta que el ácido bórico torne de morado a verde).
- Completar a destilación hasta 40 mL



Figura 38. Proceso de destilación.

Titulación.

- Titular la muestra del beaker de con H_2SO_4 0.02N, hasta cambio de color a púrpura (figura 39).
- Registrar el volumen de ácido consumido

Nota: Debe realizarse un blanco con agua destilada.



Figura 39. Titulación de la muestra

Cálculos

Para determinar la concentración de $N-NH_4$ en la muestra, reemplazar la diferencia de absorbancia leída en la ecuación de la recta obtenida en la curva de calibración.

$$\%N = (V1 - V2) \cdot N \cdot 0.014 \cdot \left(\frac{100 + P_w}{P_m} \right)$$

Donde:

N: Normalidad del ácido H_2SO_4 gastado en la muestra

V2: volumen de H_2SO_4 gastado en el blanco.

V1: volumen de H_2SO_4 gastado en el muestra

Pm: peso (gramos) de muestra

Pw: %humedad del suelo

Interferencias

Sales inorgánicas pueden incrementar la temperatura sobre 400°C, temperatura en la que puede presentarse pérdida de nitrógeno, para esto agregar mayores cantidades de ácido sulfúrico. Los iones de color no interfieren en el Método. Si la cantidad de sólidos suspendidos es muy alta, el ácido puede ser consumido, afectando la relación sal-ácido generando temperaturas superiores a 400°C que pueden resultar en la pérdida del nitrógeno, para esto agregar mayores cantidades de solución de ácido sulfúrico.

Impacto ambiental

En este procedimiento, se generan desechos tóxicos para el medio ambiente y para la salud humana, la mezcla de ácidos fuertes y cobre obligan a descartar estos residuos como metales pesados y debe ser enviado a una empresa que se encargue de su tratamiento.

Preparación de soluciones y reactivos

Solución Ácido Bórico:

- En un balón aforado de 500 mL, agregar 20 g ácido bórico.
- Aforar a 500 mL con agua desionizada.
- Almacenar en frasco ámbar.

Solución indicadora:

- Pesar 100 mg de rojo de metilo y diluir en 50 mL de etanol.
- Pesar 50 mg de azul de metileno Y diluir en 25 mL de etanol.
- Mezclar las dos soluciones anteriores.
- Almacenar en frasco ámbar

Solución de Hidróxido de sodio y Tiosulfato de sodio:

- Pesar 250 g de hidróxido de sodio
- Pesar 12.5 g de tiosulfato de sodio
- Agregar 5 g de NaOH, mezclar
- Disolver y aforar a 500 mL con agua desionizada
- Se puede almacenar en un frasco plástico

Solución de Ácido Sulfúrico al 0.02 N

- Tomar 12.8 mL de ácido sulfúrico concentrado y llevar a 500 mL en un balón aforado con agua desionizada, esta solución será equivalente a 1N de H_2SO_4
- De la solución anterior tomar 10 mL y aforar a 500 mL en un balón aforado con agua desionizada, la solución termina con una normalidad de 0.02 H_2SO_4 .

Bibliografía

- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500-NH3B. American Public Health Association. Washington D.C.
- Métodos analíticos del laboratorio de suelos. 5ª edición, instituto Geográfico Agustín Codazzi. Bogotá 1990

2.4.7. Preparación pasta y extracto de saturación

Se define pasta de saturación a la mezcla del suelo con agua a punto de saturación húmeda y favorece la solubilización de nutrientes. El extracto obtenido se llama extracto de saturación y sirve para cuantificar nutrientes solubles que estén presentes en el.

Objetivo

Obtener un extracto de la muestra de suelo donde estén solubilizados los analitos de estudio.

Alcance

Este procedimiento aplica para muestras de suelo en general, previamente secadas y tamizadas con malla de 2mm.

Materiales y equipos

- Beaker
- Espátula
- Embudo Buchner (figura 40)
- Filtros de papel (figura 41)
- Bomba de vacío
- Erlenmeyer

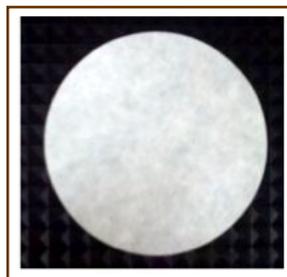


Figura 40. Embudo de filtración Buchner



Figura 41. Filtros de papel

Pre-tratamiento de la muestra

Secar la muestra a temperatura ambiente y macerar levemente retirando las impurezas como pedazos de concha de molusco o madera. Si la muestra presenta partículas de gran tamaño, debe ser tamizada por malla de 2 mm (ver protocolo tamizado de suelos).

Procedimiento

- Tomar una cantidad determinada de muestra de suelo (previamente secada, macerada y tamizada) y mezclarla en un beaker con agua destilada en una proporción agua/suelo 2:1.
- Homogenizar la muestra, agitándola con una varilla de vidrio hasta que tome una consistencia pastosa.
- Filtrar al vacío en un embudo Buchner con papel filtro
- Si la solución es muy turbia después del filtrado, filtrar nuevamente a través de filtro de nitrocelulosa con poro de 0.45mm, para la obtención del extracto final.

Calibración y mantenimiento

Debe realizarse mantenimiento periódico a la bomba de vacío con el fin de prevenir fallas y/o accidentes durante el procedimiento.

Impactos a la salud

Al macerar las muestras de suelo, este puede generar polvo el cual puede ocasionar molestias respiratorias; se sugiere el uso del tapabocas para el desarrollo de este procedimiento.

Impactos ambientales

El desarrollo de este procedimiento no genera ningún impacto sobre el ambiente, debido a que no se emplean reactivos ni sustancias nocivas.

Bioseguridad

Una vez analizada las muestras, deben ser sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio al 7% en relación 1:1 y posteriormente tratadas como residuos biológicos.

Bibliografía

- Guzmán I; 1990. Métodos Analíticos del Laboratorio de Suelos. 5ª. Edición. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Bogotá.

2.4.8. Determinación de pH

Introducción

El pH es definido como el inverso del logaritmo de la cantidad de hidrogeniones o protones (H^+) presentes en solución, sin embargo en condiciones normales, la totalidad de los hidrogeniones no suelen ser liberadas, para lo cual debe estimularse la disociación de estos iones con sales que permitan el intercambio iónico; esta capacidad de liberar hidrogeniones adicionales, se le llama pH potencial de la muestra. El pH es determinado usando un electrodo de vidrio junto con un electrodo de temperatura.

El pH es importante ya que es la medida de acidificación de la muestra, y de este depende la capacidad de degradación biológica de la materia orgánica. En condiciones acidas, algunos organismos no tienen la capacidad de sobrevivir, es por eso que un control en este parámetro, puede favorecer la productividad de un sistema.

Objetivo

Determinar el pH en muestras de suelos húmedo y seco.

Método

Determinación de pH mediante solubilización en agua destilada y en solución de Cloruro de Calcio KCl 1N

Alcance

Este manual aplica muestras de suelos en general.

Equipos y accesorios

- Agitador orbital
- Becker 100 mL
- pH metro
- Cronometro o temporizador.
- Varilla de vidrio
- Probeta de 25 mL

Reactivos

- Agua destilada
- Solución de cloruro de potasio (KCl) 1N
- Solución buffer pH 4.00
- Solución buffer pH 7.00
- Solución buffer pH 10.00

Recolección de muestra

La muestra puede ser almacenada en bolsas plásticas Ziploc con sello hermético y refrigerarlas inmediatamente.

Procedimiento

Determinación de pH real

pH en solución agua suelo 1:1

- En una probeta de 25 mL agregar suelo hasta completar 20 mL en volumen.
- El suelo medido, agregarlo en un beacker de 100 mL
- A este agregarle 20 mL de agua destilada
- Mezclar con una varilla de vidrio
- Agitar durante 30 minutos a 150 rpm (figura 42) - hoja siguiente-
- Dejar reposar durante 15 min
- Sumergir el electrodo en el sobrenadante y leer el pH. (figura 43) - hoja siguiente-



Figura 42. Agitación de muestras de suelos



Figura 43. Lectura de pH

pH en solución agua suelo 2:1

- En una probeta de 25 mL agregar suelo hasta completar 20 mL en volumen.
- El suelo medido, agregarlo en un beacker de 100 mL
- A este agregarle 40 mL de agua destilada
- Mezclar con una varilla de vidrio
- Agitar durante 30 minutos a 150 rpm
- Dejar reposar durante 15 min
- Sumergir el electrodo en el sobrenadante y leer el pH.

Determinación de pH potencial.

- En una probeta de 25 mL agregar suelo hasta completar 20 mL en volumen.
- El suelo medido, agregarlo en un beacker de 100 mL
- A este agregarle 20 mL de solución de KCl 1N
- Mezclar con una varilla de vidrio
- Agitar durante 30 minutos a 150 rpm
- Dejar reposar durante 15 min
- Sumergir el electrodo en el sobrenadante y leer el pH.

Nota: Este procedimiento puede realizarse en peso húmedo y peso seco.

Calibración y mantenimiento

- Debe realizarse una calibración diariamente antes de su uso con soluciones tampón de pH equivalente a 4.0, 7.0 y 10. Este procedimiento debe ser realizado por personal capacitado y autorizado.
- El electrodo de pH y temperatura debe ser lavado con agua destilada entre muestras, en caso de tener adherida materia orgánica en los electrodos, en necesario lavarlos con jabón alcalino para vidriera y jugarlos con abundante agua destilada.

Interferencias.

Es necesario realizar correcciones en la lectura de pH según de la temperatura, para esto, el equipo tiene corrección automática, así que no es necesario realizar cálculos adicionales.

Nota. Es importante leer el pH y la temperatura en conjunto, ya que de no hacerlo, puede generar errores en la lectura.

Impactos a la salud

Al macerar las muestras de suelo, estas pueden generar polvo que pueden ocasionar rinitis, se sugiere el uso de tapa bocas el momento de procesar dichas muestras.

Estándares de bioseguridad

Una vez las muestras sean analizadas, deben ser sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio al 7 % en relación 1:1 y posteriormente tratadas como residuos biológicos.

Preparación de soluciones.

Solución de KCl 1 N:

- Pesar 74.5 g de KCl previamente seco durante mínimo 8 horas a 120°C
- Agregar en un balón aforado de 1 litro
- Agregar 500 mL de agua destilada
- Mezclar hasta diluir bien la sal
- Aforar a 1 litro con agua destilada.

Bibliografía

- Boyd, C. 1992. Water Quality Pond Soil Analyses For Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University.
- Métodos analíticos del laboratorio de suelos. 5ª edición, instituto Geográfico Agustín Codazzi. Bogotá 1990.

2.4.9. Determinación del tamaño en húmedo de grano

Objetivo

Determinar el tamaño de partículas en solución de 2mm, 500 μm , 250 μm , 125 μm , 63 μm y 53 μm , presentes en una muestra de suelo.

Método

Tamizaje

Alcance

Este manual aplica a muestras de suelo en general

Equipos

Balanza analítica
Tamizador

Materiales e insumos

Frascos recolectores de muestras
Papel reciclable
Vasos de precipitado
Crisoles
Horno 120 °C

Desarrollo

- Pesar los frascos recolectores de muestras limpios, secos y vacíos
- Recolectar la muestra de suelo a analizar
- Pesar los frascos con la muestra de suelo a analizar
- Solubilizar la muestra en 5 litros de agua
- Filtrar la muestra por tamiz de 2mm, 500 μm , 250 μm , 125 μm , 63 μm y 53 μm lavando continuamente con 15 litros de agua para permitir el paso de todas las partículas a través de los tamices (figura 44).



Figura 44. Proceso de filtración (a) y lavado (b y c) por tamices de diferente tamaño

- Secar los tamices a temperatura ambiente
- Recolectar la muestra seca de cada tamiz en vasos recolectores limpios, secos y vacíos.
- Determinar el tamaño de partículas que posee la muestra de suelo analizada.
- Simultáneamente, el filtrado (el que queda en el balde de recepción, figura 45) tomar 5 muestras de 50 mL cada una.



Figura 45. Resultado del filtrado del suelo.

- Agregarlas en crisoles previamente secos a 120°C por una hora y pesados hasta secar completamente
- Determinar el porcentaje de partículas menores a 53 μm
- Determinar el tamaño de partículas que posee la muestra de suelo analizada. Ver cálculos.
- Determinar el porcentaje de perdida. Ver cálculos (8).

Cálculos

Peso de muestra a analizar

El peso de la muestra de suelo a analizar se puede calcular a partir de la ecuación:

$$WMA = WFM - WFV$$

Donde:

WMA = peso (g) de muestra de suelo a analizar

WFM = peso (g) del frasco recolector + muestra

WFV = peso (g) del frasco recolector de muestra vacío

Peso de partículas

Peso de partículas > 2mm:

$$WTP (>2\text{mm}) = WVM - WVV$$

Donde:

WTP = peso (g) de partículas > 2 mm

WVM = peso (g) del vaso recolector de muestra + muestra

WVV = peso (g) del vaso recolector vacío

Peso de tamaño de partículas entre 500 y 250 μm

$$WTP (\text{entre } 500 \text{ y } 250 \mu\text{m}) = WVM - WVV$$

Donde:

WTP = peso (g) de partículas entre 500 y 250 μm

WVM = peso (g) del vaso recolector + muestra

WVV = peso (g) del vaso recolector vacío

Peso de tamaño de partículas entre 250 y 125 μm

$$WTP (\text{entre } 250 \text{ y } 150 \mu\text{m}) = WVM - WVV$$

Donde:

WTP = peso (g) de partículas entre 250 y 125 μm

WVM = peso (g) del vaso de recolector + muestra

WVV = peso (g) del vaso recolector vacío

Peso de tamaño de partículas entre 150 y 63 μm

$$WTP (\text{entre } 150 \text{ y } 63 \mu\text{m}) = WVM - WVV$$

Donde:

WTP = peso (g) partículas entre 150 y 63 μm

WVM = peso (g) del vaso de recolector + muestra

WVV = peso (g) del vaso de recolector

Peso de tamaño de partículas entre 63 y 53 μm

WTP (entre 63 y 53 μm) = WVM - WVV

Donde:

WTP = peso (g) de partículas entre 63 y 53 μm

WVM = peso (g) del vaso recolector + muestra

WVV = peso (g) en gramos del vaso recolector vacío

Peso de tamaño de partículas > 53 μm

Peso de Muestra (PM) = WCS-WC

$$WTP (< 53\mu\text{m}) = \frac{\sum PM}{250} * 10000$$

Donde:

WCS = peso (g) muestra seca mas crisol

WC = peso (g) crisol seco

Peso total de tamaño de partícula (peso de muestra total después de tamizar)

$$WTTP = \sum_{+WTP(\text{entre } 150 \text{ y } 63) + WTP(\text{entre } 63 \text{ y } 53) + WTP(> 53)}$$

Donde:

WTTP = peso total (g) de partículas

WTP = peso (g) de partículas

Porcentaje de tamaño de partículas

Porcentaje de partículas > 2mm:

Este porcentaje se puede calcular a partir de la ecuación:

$$\%TP = \frac{WTP(> 2mm) \times 100\%}{WTTP}$$

Porcentaje de partícula entre 500 y 250 μm

$$\%TP = \frac{WTP(\text{entre } 500 \text{ y } 250\mu\text{m}) \times 100\%}{WTTP}$$

Porcentaje de partículas entre 250 y 150 μm

$$\%TP = \frac{WTP(\text{entre } 250 \text{ y } 150\mu\text{m}) \times 100\%}{WTTP}$$

Porcentaje de partículas entre 150 y 63 μm

$$\%TP = \frac{WTP(\text{entre } 150 \text{ y } 63\mu\text{m}) \times 100\%}{WTTP}$$

Porcentaje de partícula entre 63 y 53 μm

$$\%TP = \frac{WTP(\text{entre } 63 \text{ y } 53\mu\text{m}) \times 100\%}{WTTP}$$

Porcentaje de partícula > 53 μm

$$\%TP = \frac{WTP(> 53\mu\text{m}) \times 100\%}{WTTP}$$

Donde:

WTP = peso (g) del tamaño de partícula

WTTP = peso total (g) de muestra

%TP = porcentaje (g) de tamaño de partícula

Porcentaje de pérdida

Pérdidas:

Las pérdidas que resultan durante el proceso de tamizado se obtienen a partir de la ecuación:

$$WP = WMA - WTTP$$

Donde:

WP = peso (g) de pérdida

WMA = peso (g) de muestra de suelo a analizar

WTTP = peso total (g) de partículas

Porcentaje de pérdida:

El porcentaje de pérdida se obtiene a partir de la ecuación:

$$\%P = \frac{WP \times 100\%}{WMA}$$

Donde:

WP = peso (g) de pérdida

WMA = peso (g) de muestra de suelo a analizar

2.4.10. Determinación del tamaño en seco de grano

Objetivo

Determinar el tamaño de partículas de 2mm, 500 μm , 250 μm , 125 μm , 63 μm y 53 μm , presentes en una muestra de suelo.

Método

Tamizaje

Alcance

Este manual aplica a muestras de suelo en general

Equipos

- Balanza analítica
- Tamizador

Materiales e insumos

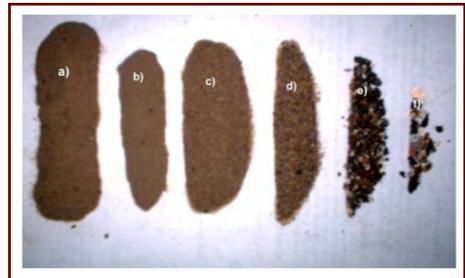
- Frascos recolectores de muestras
- Papel reciclable
- Vasos de precipitado
- Crisoles

Desarrollo

- Pesarse los frascos recolectores de muestras limpios, secos y vacíos
- Recolectar la muestra de suelo a analizar
- Pesarse los frascos con la muestra de suelo a analizar

- Determinar la cantidad de muestra a analizar
- Tamizar la muestra de suelo durante 20 segundos.
- Pesar los vasos recolectores de muestra tamizada, limpios, secos y vacíos.
- Transcurrido el tiempo, adicionar en cada vaso recolector la cantidad de muestra de cada tamiz de tamaño 2mm, 500 μm , 250 μm , 125 μm , 63 μm y 53 μm , con mucho cuidado de no dejar caer y pesar.
- Determinar el tamaño de partículas que posee la muestra de suelo analizada (figura 46). Ver cálculos.
- Determinar el porcentaje de pérdida. Ver cálculos (8).

Figura 46. Diferentes tamaños de grano,
 a) granos entre 53-63 μm ,
 b) granos entre 63-150 μm ,
 c) granos entre 150-225 μm ,
 d) granos entre 250-500 μm ,
 e) granos entre 500 μm -2mm y
 f) granos mayores a 2mm



Cálculos

Peso de muestra a analizar

El peso de la muestra de suelo a analizar se puede calcular a partir de la ecuación:

$$\text{WMA} = \text{WFM} - \text{WV}$$

Donde:

WMA = peso (g) de muestra de suelo a analizar

WFM = peso (g) del frasco recolector + muestra

WV = peso (g) del frasco recolector de muestra vacío

Peso de partículas

Peso de partículas > 2mm:

$$\text{WTP} (>2\text{mm}) = \text{WVM} - \text{WVV}$$

Donde:

WTP = peso (g) de partículas > 2 mm

WVM = peso (g) del vaso recolector de muestra + muestra

WVV = peso (g) del vaso recolector vacío

Peso de tamaño de partículas entre 500 y 250 μm

$$\text{WTP} (\text{entre } 500 \text{ y } 250 \mu\text{m}) = \text{WVM} - \text{WVV}$$

Donde:

WTP = peso (g) de partículas entre 500 y 250 μm

WVM = peso (g) del vaso recolector + muestra

WVV = peso (g) del vaso recolector vacío

Peso de tamaño de partículas entre 250 y 125 μm

$$\text{WTP} (\text{entre } 250 \text{ y } 150 \mu\text{m}) = \text{WVM} - \text{WVV}$$

Donde:

WTP = peso (g) de partículas entre 250 y 125 μm

WVM = peso (g) del vaso de recolector + muestra

WVV = peso (g) del vaso recolector vacío

Peso de tamaño de partículas entre 150 y 63 μm

WTP (entre 150 y 63 μm) = $WVM - WVV$

Donde:

WTP = peso (g) partículas entre 150 y 63 μm

WVM = peso (g) del vaso de recolector + muestra

WVV = peso (g) del vaso de recolector

Peso de tamaño de partículas entre 63 y 53 μm

WTP (entre 63 y 53 μm) = $WVM - WVV$

Donde:

WTP = peso (g) de partículas entre 63 y 53 μm

WVM = peso (g) del vaso recolector + muestra

WVV = peso (g) en gramos del vaso recolector vacío

Peso de tamaño de partículas > 53 μm

WTP (> 53 μm) = $WVM - WVV$

Donde:

WTP = peso (g) de partículas > 53 μm

WVM = peso (g) del vaso recolector + muestra

WVV = peso (g) en gramos del vaso recolector vacío

8.3 peso total de tamaño de partícula (peso de muestra total después de tamizar)

$$W_{TTP} = \sum (WTP (> 2\text{mm}) + WTP (\text{entre } 500 \text{ y } 250) + WTP (\text{entre } 250 \text{ y } 150) + WTP (\text{entre } 150 \text{ y } 63) + WTP (\text{entre } 63 \text{ y } 53) + WTP (> 53))$$

Donde

W_{TTP} = peso total (g) de partículas

WTP = peso (g) de partículas

Porcentaje de tamaño de partículas

Porcentaje de partículas > 2mm:

Este porcentaje se puede calcular a partir de la ecuación:

$$\%TP = \frac{WTP(> 2\text{mm}) \times 100\%}{W_{TTP}}$$

Porcentaje de partícula entre 500 y 250 μm

$$\%TP = \frac{WTP(\text{entre } 500 \text{ y } 250 \mu\text{m}) \times 100\%}{WTTP}$$

Porcentaje de partículas entre 250 y 150 μm

$$\%TP = \frac{WTP(\text{entre } 250 \text{ y } 150 \mu\text{m}) \times 100\%}{WTTP}$$

Porcentaje de partículas entre 150 y 63 μm

$$\%TP = \frac{WTP(\text{entre } 150 \text{ y } 63 \mu\text{m}) \times 100\%}{WTTP}$$

Porcentaje de partícula entre 63 y 53 μm

$$\%TP = \frac{WTP(\text{entre } 63 \text{ y } 53 \mu\text{m}) \times 100\%}{WTTP}$$

Porcentaje de partícula > 53 μm

$$\%TP = \frac{WTP(> 53 \mu\text{m}) \times 100\%}{WTTP}$$

Donde:

WTP = peso (g) del tamaño de partícula

WTTP = peso total (g) de partícula

%TP = porcentaje (g) de tamaño de partícula

Porcentaje de pérdida

Pérdidas:

Las pérdidas que resultan durante el proceso de tamizado se obtienen a partir de la ecuación:

$$WP = WMA - WTTP$$

Donde:

WP = peso (g) de pérdida

WMA = peso (g) de muestra de suelo a analizar

WTTP = peso total (g) de partícula

Porcentaje de pérdida:

El porcentaje de pérdida se obtiene a partir de la ecuación:

$$\%P = \frac{WPX100\%}{WMA}$$

Donde:

WP = peso (g) de pérdida

WMA = peso (g) de muestra de suelo a analizar

2.6. TABLAS DE REFERENCIA DE PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS DE AGUAS DE CULTIVO EN SISTEMAS INTENSIVOS Y SUPERINTENSIVOS CON BIO-FLOC (CENIACUA 2008-2009)

A partir de la estandarización de los protocolos de análisis de aguas y suelos, cada unidad de cultivo de camarón de CENIACUA –Punta Canoas ha sido monitoreada semanalmente, generando una base de datos que describe el comportamiento regular de los parámetros fisicoquímicos en cultivos intensivos y superintensivos en presencia de floc bacteriano. Se observa que existen diferencias marcadas por las épocas climáticas del año en esta región (seca y lluviosa) y por el tipo de unidad de cultivo evaluada (tanques de concreto de 125 m² de área, tanques de fibra de vidrio de 50Tn de capacidad y piscinas de liner de 500 m² de área). A continuación en las tablas 10-15 se observa el resumen de estos resultados para cada unidad de cultivo y época climática. Se incluyen los valores normales que hacen referencia a los rangos comunes de presentación de los parámetros y los valores aceptables que indican el máximo valor permitido de un parámetro en el cultivo. En caso de sobrepasar el valor aceptable, se debe revisar la relación entre los parámetros (p.e. amonio y nitrato) y de ser necesario implementar medidas correctivas, para favorecer la salud del cultivo.

Tabla 10. Tanques de concreto 125 m²(época seca)

Analito	Abreviatura	Unidades	Valores normales	Valores aceptables
Nitrato	NO3	ppm - mg/L	<7	4-6
Nitrito	NO2	ppm - mg/L	<0.04	N/D
Amonio	NH4	ppm - mg/L	<0.2	N/D
Fósforo reactivo	PO4	ppm - mg/L	0.5-2	<1
Alcalinidad total	Alk	mg CaCO ₃ /L	110-150	130
Salinidad	Salinidad	g/L	32-37	35
Potencial de Oxido Reducción	ORP	mV	20	>-80
Conductividad eléctrica	CE	mS	49-59	53
pH	pH	-Log(H ⁺)	7.9-8.3	8.1

Tabla 11. Tanques de concreto 125 m² (época lluviosa)

Analito	Abreviatura	Unidades	Valores normales	Valores aceptables
Nitrato	NO3	ppm - mg/L	<7	4-6
Nitrito	NO2	ppm - mg/L	<0.05	N/D
Amonio	NH4	ppm - mg/L	<0.1	N/D
Fósforo reactivo	PO4	ppm - mg/L	0.5-1.5	<0.8
Alcalinidad total	Alk	mg CaCO ₃ /L	70-130	100
Salinidad	Salinidad	g/L	27-36	32
Potencial de Oxido Reducción	ORP	mV	15	>-75
Conductividad eléctrica	CE	mS	42-46	44
pH	pH	-Log(H ⁺)	8.0-8.3	8.1

Tabla 12. Tanques de fibra de vidrio 50 m² (época seca)

Analito	Abreviatura	Unidades	Valores normales	Valores aceptables
Nitrato	NO3	ppm - mg/L	5-15	9
Nitrito	NO2	ppm - mg/L	<0.7	N/D
Amonio	NH4	ppm - mg/L	<0.3	N/D
Fósforo reactivo	PO4	ppm - mg/L	0.5-2.5	<2
Alcalinidad total	Alk	mg CaCO ₃ /L	100-150	120
Salinidad	Salinidad	g/L	31-38	34
Potencial de oxido reducción	ORP	mV	10	>-75
Conductividad eléctrica	CE	mS	45-55	50
pH	pH	-Log(H ⁺)	7.8-8.1	8.0

Tabla 13. Tanques de fibra de vidrio 50 m² (época lluviosa)

Analito	Abreviatura	Unidades	Valores normales	Valores aceptables
Nitrato	NO3	ppm - mg/L	7-20	10
Nitrito	NO2	ppm - mg/L	<1.33	N/D
Amonio	NH4	ppm - mg/L	<0.7	N/D
Fósforo reactivo	PO4	ppm - mg/L	3-8	<3
Alcalinidad total	Alk	mg CaCO ₃ /L	90-120	100
Salinidad	Salinidad	g/L	27-35	30
Potencial de Oxido Reducción	ORP	mV	20	>-70
Conductividad eléctrica	CE	mS	41-49	44
pH	pH	-Log(H ⁺)	7.7-8.1	8.0

Tabla 14. Piscinas superintensivas 500m² (época seca)

Analito	Abreviatura	Unidades	Valores normales	Valores aceptables
Nitrato	NO3	ppm - mg/L	<10	5-7
Nitrito	NO2	ppm - mg/L	<0.1	N/D
Amonio	NH4	ppm - mg/L	<0.1	N/D
Fósforo reactivo	PO4	ppm - mg/L	0.5-1.5	<1
Sólidos sedimentables	SP	cm ³ /L	5-30	15-20
Alcalinidad total	Alk	mg CaCO ₃ /L	110-150	120
Salinidad	Salinidad	g/L	30-40	35
Potencial de Oxido reducción	ORP	mV	20	>-80
Conductividad eléctrica	CE	mS	45-60	50
pH	pH	-Log(H ⁺)	7.9-8.3	8.1

Tabla 15. Piscinas superintensivas 500 m² (época lluviosa)

Analito	Abreviatura	Unidades	Valores normales	Valores aceptables
Nitrato	NO3	ppm - mg/L	<9	4-7
Nitrito	NO2	ppm - mg/L	<0.05	N/D
Amonio	NH4	ppm - mg/L	<0.1	N/D
Fósforo reactivo	PO4	ppm - mg/L	0.5-2.5	<1.2
Sólidos sedimentables	SP	cm ³ /L	5-40	15-25
Alcalinidad total	Alk	mg CaCO ₃ /L	90-140	110
Salinidad	Salinidad	g/L	27-40	33
Potencial de Oxido reducción	ORP	mV	20	>-80
Conductividad eléctrica	CE	mS	40-50	45
pH	pH	-Log(H ⁺)	8.0-8.5	8.2

Nota:

Valores normales: Rango frecuente de los valores analizados en el sistema

Valores aceptables: Valores adecuados para el sistema.

BIBLIOGRAFIA

- Armada nacional, Dirección general de Cartagena. 1993. Manual de Técnicas Analíticas de Parámetros Físicos – Químicos y Contaminantes Marinos. Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas. Cartagena, Colombia.
- Boyd, C. 1992. Water Quality Pond Soil Analyses For Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University.
- Environmental Protection Agency, 1993. Office of research and development U.S. environmental protection agency. Cincinnati, Ohio
- Environmental Protection Agency, 1993. Phosphorous all forms (Colorimetric, Ascorbic Acid, Single Reagent); Method 365.2. Office of research and development U.S. environmental protection agency. Cincinnati, Ohio
- Environmental Protection Agency, 1993. The determination of chemical oxygen demand by semi-automated colorimetric; Method 410.4. Office of research and development U.S. environmental protection agency. Cincinnati, Ohio
- Métodos analíticos del laboratorio de suelos. 5ª edición, instituto Geográfico Agustín Codazzi. Bogotá 1990
- Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater, Method 2540-B.. American Public Health Association. Washington DC.
- Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater, Method 2540-C. American Public Health Association. Washington DC.
- Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater, Method 2540-D. American Public Health Association. Washington DC.
- Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, method 2320. Washington DC.
- Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association. Washington DC.
- Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater; Method 2510-B, American Public Health Association, Washington DC.
- Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater; Method 2580. American Public Health Association, Washington DC.
- Standard Methods, 1992. Examination of Water and Wastewater; Method 2520-B, American Public Health Association, Washington DC.
- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. American Public Health Associations. Method 10200-B. Washington DC
- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. American Public Health Associations. Method 10200-C. Washington DC
- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. American Public Health Associations. Method 10200-F. Washington DC
- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. American Public Health Associations. Method 10200-G. Washington DC
- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500-OD. American Public Health Association. Washington D.C.
- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 5220-B. American Public Health Association. Washington D.C.
- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500PO4-B. American Public Health Association. Washington D.C.
- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500PO4-C. American Public Health Association. Washington D.C.
- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500NO3-B. American Public Health Association. Washington D.C.
- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500NO2-B. American Public Health Association. Washington D.C.
- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500NH3-B. American Public Health Association. Washington D.C.
- Standard Methods. 1992. Examination of water and wastewater. Method 4500-N_{org}B. American Public Health Association. Washington D.C.

BIBLIOGRAFIA RELACIONADA

- Ahmad AN, Adhikari S, Pillai BR & Sarangi N, 2007 Effect of ammonia-N on growth and feeding of juvenile *Macrobrachium rosenbergii* (De-Man). *Aquaculture Research*, vol 38, 847-851
- Burford MA, Thompson PJ, McIntosh RP, Bauman RH, Pearson DC. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture* vol. 219, 393– 411
- Burford MA, Thompson PJ, McIntosh RP, Bauman RH, Pearson DC. 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture* 232, 525–537
- Chauchen J and Chen SF, 1992. Effects of nitrite on growth and molting of *Penaeus monodon* juveniles. *Camp. Biochem. Physiol.* Vol. 101C, No. 3, pp. 453-458.
- Chen JC and Lin CY, 1992. Effects of ammonia on growth and molting of *Penaeus monodon* juveniles. *Camp. Biochem. Physiol.* Vol. 101C, No. 3, pp. 449-452
- Chen JC and Nan FH, 1992. Effects of temperature, salinity and ambient ammonia on lethal dissolved oxygen of *Penaeus chinensis* juveniles. *Camp. Biochem Physiol.* Vol. 101C, No. 3, pp.459-461
- Cheng K, Hu C, Liu Y, Zheng S & Qi X, 2000. Effects of dietary calcium, phosphorus and calcium/phosphorus ratio on the growth and tissue mineralization of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity water. *Aquaculture* vol. 251, 472– 483
- Chin YL Lin and Chu JC. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture* vol. 224, 193–201
- Dalla, K y Vinatea L. 2007. Evaluation of respiration rates and mechanical aeration requirements in semi-intensive shrimp *Litopenaeus vannamei* culture ponds. *Aquacultural Engineering* vol. 36, 73–80
- Grommen R, Verhaege M, Verstraete W. 2006. Removal of nitrate in aquaria by means of electrochemically generated hydrogen gas as electron donor for biological denitrification. *Aquacultural Engineering* vol. 34, 33–39
- Gross A, Boyd C, C.W. Wood CW, 2000. Nitrogen transformations and balance in channel catfish ponds. *Aquacultural Engineering* vol. 24, 1–14
- Hernandez R, Soria Nb, Garcia T, Carrillo F, Páez F. 2007. Water quality, chemical fluxes and production in semi-intensive Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture ponds utilizing two different feeding strategies. *Aquacultural Engineering* vol. 36, 105–114
- Kioussis KR, Wheaton FW, Kofinas P, 2000. Reactive nitrogen and phosphorus removal from aquaculture wastewater effluents using polymer hydrogels. *Aquacultural Engineering*, vol. 23, 315–332
- Lee PG, Lea RN, Dohmann E, Prebilsky W, Turk PE, Ying H & Whitson JL, 2000. Denitrification in aquaculture systems: an example of a fuzzy logic control problem. *Aquacultural Engineerin*, vol. 23, 37–59
- Michaud L, Blancheton J, Bruni V, Piedrahita R. 2006. Effect of particulate organic carbon on heterotrophic bacterial populations and nitrification efficiency in biological filters. *Aquacultural Engineering*. Vol. 34, 224–233
- Mishra JK, Samocha TM, Patnaik S, Speed M, Gandy RL & Ali AM. 2008. Performance of an intensive nursery system for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, under limited discharge condition. *Aquacultural Engineering*. vol. 38, 2–15
- Park E, Koan J, Ryung M, Hyong I, Kim J, Koo S. 2001. Salinity acclimation of immobilized freshwater denitrifier. *Aquacultural Engineering*. Vol. 24, 169–180
- Tseng IT, Chen JC, 2004. The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* under nitrite stress. *Fish & Shellfish Immunology*. Vol. 17, 325-333
- Wang D, Li X, Yang Q, Zeng G, Liao D, Zhang J. 2008. Biological phosphorus removal in sequencing batch reactor with single-stage oxic process. *Bioresource Technology*. Vol. 99, 5466–5473.
- Yong-Chin Lin, Jiann-Chu Chen, 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*. Vol. 224, 193–201
- Zhu C, Dong S, Wang F & Huang G, 2004. Effects of Na/K ratio in seawater on growth and energy budget of juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. Vol. 234, 485–496

ANEXO 1.

Porcentaje de amonio no ionizado (NH_3) en solución acuosa para diferentes valores de pH y temperatura.

pH	Temperatura °C								
	16	18	20	22	24	26	28	30	32
7	0,3	0,34	0,4	0,46	0,52	0,6	0,7	0,81	0,95
7,2	0,47	0,54	0,63	0,72	0,82	0,95	1,1	1,27	1,5
7,4	0,74	0,86	0,99	1,14	1,3	1,5	1,73	2	2,36
7,6	1,17	1,35	1,56	1,79	2,05	2,35	2,72	3,13	3,69
7,8	1,84	2,12	2,45	2,8	3,21	3,68	4,24	4,88	5,72
8	2,88	3,32	3,83	4,37	4,99	5,71	6,55	7,52	8,77
8,2	4,49	5,16	5,94	6,76	7,68	8,75	10	11,41	13,22
8,4	6,93	7,94	9,09	10,3	11,65	13,2	14,98	16,96	19,46
8,6	10,56	12,03	13,68	15,4	17,28	19,42	21,83	24,45	27,68
8,8	15,76	17,82	20,08	22,38	24,88	27,64	30,68	33,9	37,76
9	22,87	25,57	28,47	31,37	34,42	37,71	41,23	44,84	49,02
9,2	31,97	35,25	38,69	42,01	45,41	48,96	52,65	56,3	60,38
9,4	42,68	46,32	50	53,45	58,86	60,33	63,79	67,12	70,72
9,6	54,14	57,77	61,31	64,54	67,63	70,67	73,63	76,39	79,29
9,8	65,17	68,43	71,53	74,25	76,81	79,25	81,57	83,68	85,85
10	74,78	77,46	79,92	82,05	84	85,82	87,52	89,05	90,58
10,2	82,45	88,48	86,32	87,87	89,27	90,56	91,75	92,8	93,84

Tomado de Boyd, 1992





CENIACUA
Corporación Centro de Investigación
de la Acuicultura de Colombia



COLCIENCIAS
COLOMBIA

ACUANAL - CENIACUA
Carrea 98 No. 113 - 60 • PBX: + (571) 612 1466
Bogotá, D.C - Colombia