

## **ANEXOS**



## **I-DESARROLLO DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICA**

### **I.I. pH**

El pH es la medida del grado de acidez o alcalinidad de una disolución acuosa y se define como  $-\log (H^+)$ .

Para determinar el pH de las muestras acuosas en el laboratorio se utiliza un pH-metro marca CRISON, modelo GLP 21, previamente calibrado con disoluciones tampón de pH 7'00 y 4'01. La metodología empleada se basa en el método estándar 4500-H+ B (Eaton et al, 2005) y consiste en introducir la sonda en la muestra y esperar hasta que el valor se estabilice.

La determinación realizada en el campo se hace con tiras indicadoras. Simplemente se sumergen por un instante en la muestra de agua, lo que provoca un cambio de color que posteriormente se compara con el patrón de coloración impreso en la caja del kit asignando así un pH.

### **I.II. Conductividad**

La conductividad es la expresión numérica de la capacidad del agua de transportar corriente eléctrica. Indica la cantidad total de iones en el agua. La metodología empleada se basa en la norma UNE-EN-ISO 27888 (AENOR,1994).

Su determinación se realiza in situ en base a la UNE-EN 27888 y utilizando un conductímetro portátil *HANNA* modelo *HI 9033*, provisto de una célula de dos electrodos. Para conocer la conductividad de una muestra se introduce la célula en ella, se agita y se espera unos segundos hasta que se estabiliza el valor. Los resultados se expresan en  $\mu S/cm$ .

### **I.III. Oxígeno disuelto**

La determinación del oxígeno disuelto se lleva a cabo in situ mediante un dispositivo portátil (*HANNA 9146N*) en base a la UNE-EN 25814 (AENOR, 1994). Para conocer la concentración de oxígeno de la muestra, se introduce la sonda en ella y se espera unos segundos hasta que el valor se estabilice.

#### I.IV. Turbidez

La turbidez es la propiedad óptica de una muestra de dispersar o absorber la luz en lugar de transmitirla en línea recta. En otros términos, se define como la reducción de la transparencia de un líquido originada por la presencia de materia sin disolver.

Para medir este parámetro se utiliza un turbidímetro Hanna LP 2000 (error  $\leq 0.2$  NTU) y el método seguido para su determinación se en la UNE-EN ISO 7027 (AENOR, 1994). Previamente a la medida, es necesario realizar la calibración del instrumento con agua desionizada. A continuación se vierte la muestra en un vial, se cubre con un tapón para protegerlo de la luz, y se introduce en el turbidímetro.



FIGURA A.1. TURBIDIMETRO HANNA LP 2000. FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

#### I.V. DQO Filtrada

La DQO se define como la cantidad de oxígeno ( $\text{mg O}_2/\text{L}$ ) consumido por la especies reductoras presentes en el agua. La media corresponde a una estimación de las materias oxidables presentes en el agua, cualquiera que sea su origen, orgánico o mineral.

Este parámetro se determina el método 5220 D (Eaton et al, 2005), en un fotómetro multiparámetro marca *Hanna Instruments*, modelo *HI 83099*.

El método se basa en que los compuestos orgánicos oxidables reducen el ión dicromato (naranja) a ión cromo (III) (verde). Se determina la cantidad de cromo formada, utilizando para ello una lámpara de tungsteno de interferencia de banda de 420 nm. Determinando la cantidad de cromo formada, se obtiene el valor de la DQO.

El procedimiento consiste en añadir un volumen de muestra de 2 o 0,2 ml (en función de la concentración esperada) en un vial que contiene ión dicromato. A continuación, se introducen los viales con la muestra en un reactor a 150°C durante 2 horas. Tras el paso por el reactor se deja reposar a los viales durante 20 minutos hasta que toman una temperatura de unos 120°C aproximadamente. Después se voltean y se colocan en una rejilla hasta alcanzar al temperatura ambiente. Finalmente, sin agitar, se introducen en el fotómetro obteniendo así la medida.



FIGURA A.2. FOTÓMETRO MULTIPARAMÉTRICO HANNA 83099 Y REACTOR HANNA 839800. FUENTE: HANNA INSTRUMENTS

### I.VI. Carbono orgánico disuelto

Se mide de acuerdo al método estándar 5310B (Eaton et al, 2005). Para ello se utiliza un equipo SHIMADZU, modelo TOC-VCSH.



FIGURA A.3. ANALIZADOR DE CARBONO ORGÁNICO TOTAL SHIMADZU, MODELO TOC-VCSH. FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

El fundamento del equipo residen en que en el agua están presentes dos tipos de carbono: carbono orgánico y carbono inorgánico. El carbono orgánico (COT) corresponde a los compuestos orgánicos, mientras que el carbono inorgánico (CI) se encuentra disuelto en el agua como  $\text{CO}_2$ , o bien en forma de compuestos inorgánicos tales como los carbonatos y bicarbonatos. Conjuntamente, ambos tipos de carbonos constituyen el carbono total, CT, y por lo tanto cumplen la relación:  $\text{COT} = \text{CT} - \text{CI}$ . El equipo utilizado se basa en esta relación para medir las diferentes formas de carbono. Para introducir la muestra en el equipo, se filtra el agua a analizar utilizando un filtro de  $0.45\mu\text{m}$  para no obstruir la aguja de inyección. Una vez filtrada la muestra se introduce en los viales de 50 mL y se programa el equipo con las rectas de calibrado que mejor se ajusten, según los valores esperados.

## II-COMPOSICIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO EMPLEADOS

- *Escherichia coli*

El medio de cultivo utilizado para detectar las UFC de *Escherichia coli* fue Agar Macconkey (Marca SCHARLAU), el cual presenta la siguiente composición

TABLA A.1. COMPOSICIÓN DE AGAR NUTRITIVO MACONKEY. FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

COMPOSICIÓN	CANTIDAD (g/l)
Pancreatic digest of gelatin	17,000
Peptone of meat	1,500
Peptone of casein	1,500
Lactose monohydrate	10,000
Bile salt	1,500
Sodium chloride	5,000
Neutral red	0,030
Agar	15,000

Este parámetro también puede ser medido con el medio de cultivo agar selectivo Chromogenic Coliform Agar (CCA) (Scharlau) utilizado para el cultivo de Coliformes totales, ya que se trata de un material nutritivo cromogénico selectivo que permite el recuento simultáneo y específico de ambas bacterias

- Coliformes totales

Los Coliformes totales fueron detectados mediante siembra de las muestras en el medio CCA, el cual presenta la siguiente composición:

TABLA A.2. COMPOSICIÓN DE AGAR NUTRITIVO CCA. FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

COMPOSICIÓN	CANTIDAD (g/l)
Peptone	3,00
Sodium chloride	5,00
Disodium phosphate	2,70
Monosodium phosphate	2,20
Tryptogham	1,00
Tergitol	1,00
Sorbitol	0,20
Agar	13,000

- *Enteroccus spp*

Los Enterococos son detectados mediante siembra de las muestras en el medio SB, el cual presenta la siguiente composición:

TABLA A.3. COMPOSICIÓN DE AGAR NUTRITIVO SB. FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

COMPOSICIÓN	CANTIDAD (g/l)
Tryptose	20,00
Yeast extract	5,00
Dextrose	2,00
Potassium phosphate	4,00
Sodium azide	0,40
Agar	12,00