



# **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

## **FACULTAD DE CIENCIAS**

### **ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y AMBIENTALES**

“IMPLEMENTACIÓN DE UNA TÉCNICA PARA EL  
APROVECHAMIENTO DE LOS ALCALOIDES DE  
CHOCHO Y POSTERIOR COMPLEXIÓN DE METALES  
PESADOS”

**Tesis de Grado previa a la obtención del Título de**

**INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**CAMILO PAVEL HARO BARROSO**

**Riobamba 2008**

## **AGRADECIMIENTO**

Hago extensivo mi más sincero agradecimiento a la Dra. Susana Abdo por brindarme el apoyo necesario en la elaboración del proyecto de tesis que fenece.

De igual manera a la Dra. Gina Álvarez y al Dr. Simón Moreano, por compartir su experiencia y conocimiento en el transcurso del presente trabajo.

## **DEDICATORIA**

A la juventud, activa y luchadora, porque son los responsables de mantener en pie un mundo que se desmorona.

A mis padres y hermanos que ante cualquier adversidad mantienen viva la luz esperanzadora de cambio, unidad y amor.

A mis amigos y amigas con los cuales he compartido momentos únicos y enriquecedores durante mis años de existencia.

**FIRMAS DE LOS RESPONSABLES Y NOTAS**

**Dr. Edmundo Caluña**  
DECANO FACULTAD  
DE CIENCIAS

**Dr. Robert Cazar**  
DIRECTOR ESCUELA  
CIENCIAS QUÍMICAS

**Dra. Susana Abdo**  
DIRECTORA DE TESIS

**Dr. Simón Moreano**  
MIEMBRO DEL  
TRIBUNAL

**Dra. Gina Álvarez**  
MIEMBRO DEL  
TRIBUNAL

**Sr. Carlos Rodríguez**  
DIRECTOR DPTO. DE  
DOCUMENTACIÓN

**FECHA**

**FIRMA**

**NOTA DE TESIS ESCRITA** \_\_\_\_\_

“Yo, Camilo Pavel Haro Barroso, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta tesis, el patrimonio intelectual del presente trabajo pertenecen a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo”.

**INDICE DE ABREVIATURAS**

<b>a./a</b>	Agua Acidulada
<b>a./d</b>	Agua Destilada
<b>Al</b>	Aluminio
<b>Ca</b>	Calcio
<b>cc</b>	Criterio de Calidad
<b>Cd</b>	Cadmio
<b>Cr</b>	Cromo
<b>Cu</b>	Cobre
<b>DBO<sub>5</sub></b>	Demanda Bioquímica de Oxígeno
<b>DOC</b>	Demanda de Carbono Orgánico
<b>DQO</b>	Demanda Química de Oxígeno
<b>dl</b>	Decilitros
<b>Fe</b>	Hierro
<b>f.</b>	Factor
<b>g</b>	Gramo
<b>°C</b>	Grados Centígrados
<b>HCl</b>	Ácido Clorhídrico
<b>HNO<sub>3</sub></b>	Acido Nítrico
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Acido Sulfúrico
<b>K</b>	Potasio
<b>Kg</b>	Kilogramo
<b>L</b>	Litro

<b>m</b>	Metro
<b>msnm</b>	Metros sobre el nivel del mar
<b>M</b>	Concentración Molar
<b>ML</b>	Metal - Ligando
<b>mg</b>	Miligramo
<b>Mg</b>	Magnesio
<b>mg/g</b>	Miligramo/gramo
<b>mg/L</b>	Miligramo/Litro
<b>mL</b>	Mililitro
<b>Mn</b>	Manganeso
<b>M.P</b>	Metales pesados
<b>N</b>	Normalidad
<b>NaOH</b>	Hidróxido de Sodio
<b>Pb</b>	Plomo
<b>pH</b>	Potencial de Hidrógeno
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>rps</b>	Revoluciones por segundo
<b>S.O</b>	Solventes Orgánicos
<b>Std.</b>	Estándar
<b>TULAS</b>	Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria
<b>UNT</b>	Unidades Nefrelométricas de Turbiedad
<b>UV-Visible</b>	Ultravioleta-Visible
<b>µg</b>	Microgramo
<b>µl</b>	Microlitro
<b>µsiemens</b>	Microsiemens

%	Porcentaje
[ ]	Concentración

## INDICE GENERAL

<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	3
<b>OBJETIVOS</b>	5
<b>HIPÓTESIS</b>	5

### CAPÍTULO 1

#### 1.- MARCO TEÓRICO

<b>1.1.- Alcaloides</b>	7
<b>1.2.- El chocho</b>	14
<b>1.3.- Alcaloides del Chocho</b>	15
<b>1.4.- Metales pesados</b>	17
<b>1.5.- Contaminación del agua por metales pesados</b>	24
<b>1.6.- Complejos</b>	26
<b>1.7.- Complejación de metales pesados con alcaloides</b>	29

### CAPÍTULO 2



<b>2.- PARTE EXPERIMENTAL</b>	
2.1.- Introducción	31
2.2.- Métodos	32
2.3.- Procedimientos	34
<b>CAPÍTULO 3</b>	
<b>3.- CÁLCULOS Y RESULTADOS</b>	
3.1.- Cálculos	42
3.2.- Resultados	58
<b>CAPÍTULO 4</b>	
<b>4.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	
4.1.- Conclusiones	66
4.2.- Recomendaciones	68
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	69
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	71
<b>ANEXOS</b>	74

## INDICE DE TABLAS

<b>TABLA I</b>	Sectores industriales y sustancias contaminantes principales	25
<b>TABLA II</b>	Tabla de datos en porcentajes para cada metal a analizar (AxBxC)	38
<b>TABLA III</b>	Matriz de datos más relevantes en la reducción del metal analizado.	39
<b>TABLA IV</b>	Tabla de análisis de varianza ANOVA	39
<b>TABLA V</b>	Tabla de Medias	40
<b>TABLA VI</b>	Test de Tuckey para análisis de Medias del metal factorial AxB	40
<b>TABLA VII</b>	Porcentajes de Reducción de Cromo	45
<b>TABLA VIII</b>	Matriz de datos más relevantes en la reducción de Cromo	46
<b>TABLA IX</b>	Tabla de Análisis de Varianza Cromo factorial AxB	46
<b>TABLA X</b>	Tabla de Medias Cromo factorial AxB	47
<b>TABLA XI</b>	Test de Tuckey para Análisis de Medias Cromo factorial AxB	47
<b>TABLA XII</b>	Mejor tratamiento Diseño Experimental AxBxC	47
<b>TABLA XIII</b>	Porcentajes de Reducción de Plomo	48
<b>TABLA XIV</b>	Matriz de datos más relevantes en la reducción de Plomo	50
<b>TABLA XV</b>	Tabla de Análisis de Varianza Plomo factorial BxC	50

<b>TABLA XVI</b>	Tabla de Medias Plomo factorial BxC	51
<b>TABLA XVII</b>	Test de Tuckey para Análisis de Medias Plomo factorial BxC	51
<b>TABLA XVIII</b>	Mejor tratamiento Diseño Experimental AxBxC	52
<b>TABLA XIX</b>	Porcentajes de reducción de Cadmio	53
<b>TABLA XX</b>	Matriz de datos más relevantes en la reducción de Cadmio	54
<b>TABLA XXI</b>	Tabla de Análisis de Varianza Cadmio factorial AxBxC	54
<b>TABLA XXII</b>	Tabla de Medias Cadmio factorial AxBxC	55
<b>TABLA XXIII</b>	Test de Tuckey para Análisis de Medias Cadmio factorial AxBxC	56
<b>TABLA XXIV</b>	Mejor tratamiento Diseño Experimental AxBxC	57
<b>TABLA XXV</b>	Resultados de análisis Físico-Químico Agua de desamargado	58
<b>TABLA XXVI</b>	Resultados curva de calibración Cromo	59
<b>TABLA XXVII</b>	Resultados curva de calibración Plomo	60
<b>TABLA XXVIII</b>	Resultados curva de calibración Cadmio	62
<b>TABLA XXIX</b>	Condiciones de los Mejores Tratamientos Obtenidos	63
<b>TABLA XXX</b>	Concentración de Plomo antes y después del tratamiento	64

**INDICE DE GRÁFICOS**

<b>GRÁFICO 1</b>	Clasificación Química de los Alcaloides	13
<b>GRÁFICO 2</b>	Estructura de los principales Alcaloides del Chocho	16
<b>GRÁFICO 3</b>	Alcaloides del Chocho con pares de electrones libres	30
<b>GRÁFICO 4</b>	Posibles Estructuras de los Complejos de Metales	30
<b>GRÁFICO 5</b>	Esquema de la Implementación del Método.	35
<b>GRÁFICO 6</b>	Esquema de la Implementación del Método (continuación)	36
<b>GRÁFICO 7</b>	Porcentaje de Reducción de Cromo vs Tratamientos	48
<b>GRÁFICO 8</b>	Porcentaje de Reducción de Plomo vs Tratamientos	52
<b>GRÁFICO 9</b>	Porcentaje de Reducción de Cadmio vs Tratamientos	57
<b>GRÁFICO 10</b>	Línea de tendencia y curva de calibración Cromo	60
<b>GRÁFICO 11</b>	Línea de tendencia y recta de regresión Plomo	61
<b>GRÁFICO 12</b>	Línea de tendencia y recta de regresión Cadmio	62

## RESUMEN

En el presente estudio se determinan las condiciones apropiadas para formar complejos con los alcaloides del desamargado de Chocho y metales pesados presentes en aguas residuales. Se utilizó para ello soluciones estándares de metales pesados y aguas de desamargado de chocho con diferentes concentraciones de alcaloide, además de técnicas volumétricas, potenciométricas y espectrofotométricas para la obtención de datos y construcción de diseños experimentales multifactoriales tanto para el Cadmio, Plomo y Cromo, utilizados en el presente proyecto.

Los resultados obtenidos indican que a una concentración de 4,59 mg/ml de alcaloide y a pH 4 precipita Cadmio; a una concentración de 1,24 mg/ml de alcaloide y a pH entre 3 y 4,5 precipita Plomo; y a una concentración de 4,59 mg/ml de alcaloide y a pH 8 precipita Cromo, reduciéndose los niveles de Cromo, Cadmio y Plomo en un 76, 85 y 91 % respectivamente. Las condiciones obtenidas son aplicadas a una muestra de agua de formación de petróleo reduciéndose el Plomo en un 17%, demostrándose que los alcaloides precipitan metales pesados, además de que existen interferencias que dificultan el tratamiento de metales en la muestra de agua de formación. Los resultados obtenidos pueden servir de base para el desarrollo de proyectos de remoción de metales pesados de aguas contaminadas por los mismos, provenientes de los sectores industriales, mineros o hidrocarburíferos, con el diseño y construcción de plantas de tratamiento para este tipo de efluentes.

## SUMMARY

In this study determining the appropriate conditions for forming complexes with alkaloids drained of Chocho and heavy metals present in sewage. It was used for standard solutions of heavy metals and water drained from Chocho with different concentrations of alkaloid, in addition to technical volumetric, potentiometers and spectrophotometers for data collection and construction of experimental designs multifactorial, both for cadmium, lead and chromium, used in this project. It was used for standard solutions of heavy metals and water desamargado of chocho with different concentrations of alkaloid, in addition to technical volumetric, potentiometers and spectrophotometers for data collection, and construction of experimental designs multifactor, both for cadmium, lead and chromium, used in this project.

The results indicate that a concentration of 4.59 mg / ml alkaloid and pH 4 precipitates Cadmium, to concentration of 1.24 mg / ml alkaloid and pH between 4.5 and 3 Lead precipitates, and a concentration of 4.59 mg / ml alkaloid and pH 8 precipitates Chromium, reducing levels of Chromium, Lead and Cadmium in a 76, 85 and 91% respectively. The conditions obtained are applied to a sample of water leading to oil Lead reduced by 17%, showing that alkaloids precipitate heavy metals, in addition to that there are interferences that hinder the treatment of metals in the water sample training. The results can serve as a basis for development projects removing heavy metals from contaminated water in them, from manufacturing, mining or hydrocarbon, with the design and construction of treatment plants for this type of effluents.

## INTRODUCCIÓN:

Los procesos de lavado del chocho producen aguas residuales con una alta concentración de alcaloides que pueden ser recuperados y reutilizados. Los metales pesados presentes en aguas residuales ya sea de procesos orgánicos e industriales se los puede remover por medio de la complejión con alcaloides de chocho pudiendo reducir las altas concentraciones de estos metales, principalmente en aguas de descarga de refinamiento de petróleo, minería, elaboración de pilas y baterías, en procesos de curtiembre, elaboración de tejados decorativos y otros.

Los alcaloides son sustancias orgánicas de origen vegetal que se encuentran presentes en gran parte del reino vegetal, especialmente en las leguminosas. Las plantas utilizan estos metabolitos secundarios como mecanismos de defensa ante la presencia de depredadores, por lo que muchos de los alimentos de estas plantas son sometidas a procesos de eliminación de alcaloides para evitar su toxicidad. Los residuales producidos durante estos procedimientos se los puede reutilizar como complejantes en el tratamiento de aguas residuales con metales pesados.

Algunos datos bibliográficos señalan que los alcaloides precipitan en la presencia de sales de metales pesados como se indica a continuación:

*“Algunos alcaloides son reconocidos posteriormente por reacciones de precipitación originadas por los ácidos de metales pesados como: silicotúgstico, cloroplatínico, fosfomolibdico”<sup>1</sup>*

---

<sup>1</sup> BIBLIOTECA DIGITAL DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE

Dentro de las técnicas de identificación y cuantificación de alcaloides se utilizan sales y ácidos de metales pesados para su precipitación, lo que fundamenta claramente la hipótesis, con lo que el proceso de complejación puede darse en condiciones que se definirán durante el desarrollo del presente trabajo.

Al tener una fuente de alcaloides como los procedentes del desamargado de chocho, se los puede reutilizar en la complejación de metales pesados, reduciendo la presencia de estos en aguas de descarga sin que sea un tratamiento demasiado costoso, además de reutilizar los remanentes de los procesos de desamargado, con lo que se mitigaría dos problemas ambientales a la vez.

El presente trabajo tiene como finalidad realizar un estudio por medio de un diseño experimental, en la que utilizaremos concentraciones conocidas de alcaloides de chocho y de metales pesados a un pH variable, posterior a esto se determinará el mejor tratamiento posible aplicando para ello análisis de medias y test estadísticos.

El mejor tratamiento obtenido de los diseños experimentales se lo aplicará en una muestra de agua problema proveniente de la extracción de petróleo. Los resultados que se obtengan del presente análisis permitirán realizar una proyección clara de los porcentajes de Metales pesados, particularmente de Cadmio, Plomo o de Cromo, que podría reducirse aplicando correctamente el método implementado.



## **JUSTIFICACIÓN**

El presente tema tiene como finalidad mitigar dos problemas ambientales de una manera conjunta, por un lado aprovechando los contaminantes de los procesos de desamargado de chocho y por otro lado reduciendo la presencia de metales pesados de fuentes hídricas contaminadas, utilizando para ello métodos completamente novedosos

La necesidad de encontrar nuevas alternativas de tratamiento a bajo costo para remover metales pesados sin que sea necesario aplicar tratamientos químicos costosos es el principal punto a concebir durante el desarrollo del presente trabajo, es por ello que se implementará un método utilizando alcaloides de chocho como ligandos en la precipitación de metales pesados mediante complexometría.

Los pocos estudios realizados en nuestro país en lo que se refiere a la optimización y reutilización de alcaloides de los diferentes procesos de purificación de ciertos alimentos andinos como la quinua y el chocho hace que este tema sea novedoso y con un alto potencial para la conservación de las fuentes hídricas afectadas por algún proceso contaminante.

La contaminación del agua por efectos antropogénicos como naturales ha provocado una disminución considerable de la calidad del agua en nuestro país, debido principalmente a la presencia de sustancias o elementos de baja, mediana y elevada toxicidad utilizadas en los diferentes procesos industriales y mineros. La aplicabilidad del presente proyecto permitiría desarrollar sistemas de tratamiento de aguas residuales de origen industrial con alta carga de metales, lo que facilitaría la remoción de metales.

Los principales beneficiarios de este proyecto somos todos, puesto que el agua al ser un recurso natural y bien público, el Estado debe garantizar la calidad de la misma, por este motivo debe ser preservada y protegida de la contaminación ambiental y así evitar posteriores alteraciones y daños a los seres vivos.

## OBJETIVOS

### Objetivo General:

- Aprovechar los alcaloides del agua de cocción del Chocho para la formación de compuestos complejos con metales pesados en aguas contaminadas.

### Objetivos Específicos:

- Extraer los alcaloides presentes en las aguas de descarga después del proceso de desamargado del *lupinus mutabilis* (chocho).
- Determinar la capacidad de complejación de los alcaloides con los metales pesados como Cromo, Plomo y Cadmio teniendo como variables la concentración de alcaloides y el pH.
- Establecer las mejores condiciones de complejación de los alcaloides con los metales pesados, en base al diseño experimental.
- Probar la eficiencia del método con una muestra de agua de formación de petróleo aplicando el mejor tratamiento encontrado en el diseño experimental.

## HIPÓTESIS

“La utilización de los alcaloides obtenidos de las aguas de desamargado del chocho compleja y reducen metales pesados en aguas residuales”

# CAPÍTULO 1

## 1.- MARCO TEÓRICO

### 1.1.- ALCALOIDES

“Los alcaloides son bases nitrogenadas orgánicas, presentes en diversas familias de plantas, en los hongos, algas y otros vegetales inferiores. Uno o más átomos de nitrógeno está presente en amidas primarias, secundarias o terciarias y estas confieren usualmente basicidad a los alcaloides, facilitando la extracción y purificación por las sales solubles en agua cuando son formadas por la presencia de ácidos minerales” (1)

“Son sustancias orgánicas de origen vegetal que se caracterizan:

- Por tener nitrógeno en su molécula (por lo general heterocíclica),
- Reacción básica (aunque existen algunos de reacción neutra y ácida),
- Reacciones de precipitación específica
- Actividad fisiológica muy intensa a bajas dosis.

Están muy repartidos en el mundo vegetal, sobre todo en las dicotiledóneas, se presentan en todos los órganos, por lo general en forma de mezclas de varios alcaloides. En la naturaleza no están libres, ya que se combinan con ácidos orgánicos (ácidos acético, málico, cítrico, etc.) o con taninos. Su concentración en la planta guarda una proporción en torno al 0,1-3% del peso seco, aunque en algunos casos se llega al 10%” (2)

La mayoría de ellos presentan acciones fisiológicas bien definidas sobre diferentes tipos de organismos animales o bien hacia insectos predadores. Es importante

destacar que dentro de la bioquímica del reino vegetal este tipo de metabolitos producidos por las plantas cumplen la función de preservación, participación en el crecimiento vegetal ya sea por su capacidad de formar quelatos o intervenir en fenómenos de óxido-reducción y como mecanismos de defensas ante amenazas externas. Se les considera además como productos terminales del metabolismo del nitrógeno.

Tu toxicidad varía tanto para el hombre como para los animales superiores e insectos, en muchos casos ciertos alcaloides son perjudiciales para el ser humano mientras que para animales e insectos no y viceversa.

“Desde una perspectiva físico-químico, son sólidos cristalinos o líquidos a temperatura ambiente, esta propiedad está ligada a la ausencia de oxígeno en su molécula. Su solubilidad varía con el pH. Así a pH ácido se presentan como sales insolubles en solventes orgánicos apolares y solubles en disolventes polares y agua. Los alcaloides precipitan con numerosos principios activos y reactivos, tales como taninos, sales de metales pesados y reactivos específicos que facilitan su detección” (3)

### **1.1.1.- PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LOS ALCALOIDES**

Los alcaloides en su gran mayoría son de naturaleza sólida, en muchos casos cristalinos, de punto de fusión muy definido, insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos. En presencia de ácidos inorgánicos y algunos orgánicos en solución acuosa, forman sales cuaternarias solubles en agua.

**1.1.1.1.- Química de los alcaloides.-** “La estructura química de los alcaloides es variable, aunque lo que tiene en común es la presencia de un nitrógeno (N) dentro de

la estructura molecular, lo que brinda cierta basicidad más o menos pronunciada. Puede encontrarse bajo la forma de amina primaria, secundaria, terciaria o como compuesto de amonio cuaternario como se lo señala anteriormente. A continuación se presentan algunas características químicas de estos compuestos.

- Los alcaloides a menudo son sólidos, cristalizables a veces coloreados, la mayoría de las veces dotados de poder rotatorio.
- Puede ser extracíclico o intracíclico, que es lo más frecuente
- Los alcaloides no oxigenados son volátiles, arrastrables por el vapor de agua.
- Bajo la forma de bases son solubles en los solventes orgánicos no polares (éter etílico, cloroformo, benceno, etc.).
- Solubles en los solventes orgánicos polares: Alcohol.
- Insolubles en agua.
- Los alcaloides con los ácidos forman sales semejantes a los amonios cuaternarios.
- Las propiedades de solubilidad de las sales son diferentes a las que presentan las bases.
- Las sales de alcaloides son insolubles en los S. O. no polares y solubles en el agua.
- Las sales de alcaloides por acción de los álcalis precipitan el alcaloide al estado de base.

En estas propiedades de solubilidad de la base y de la sal alcaloidea se basa la identificación y valoración de los mismos. El peso molecular elevado de muchas de estas estructuras, junto a la diversidad y complejidad de muchas de ellas, hace que las mismas sean sensibles a los incrementos de temperatura. Hay casos en que la simple ebullición de los alcaloides en un solvente apolar durante el proceso de la extracción

vegetal, es suficiente para alterar en su totalidad los alcaloides de una planta, dando lugar a compuestos químicos que no existen normalmente en la misma.

Los alcaloides son relativamente estables en fase sólida, más aún como sales de ácidos inorgánicos que como bases. En solventes orgánicos anhidros, la estabilidad es suficiente como para permitir su extracción de la planta mediante el tratamiento directo con dichos solventes. En agua o en solventes orgánicos húmedos, la estabilidad es pobre, lo mismo que frente a la luz y el oxígeno del aire, lo que condiciona los procesos de extracción, separación y purificación de los alcaloides existentes en las diferentes partes de las plantas.

#### **1.1.2.- ALCALOIDES EN LAS PLANTAS.**

Todos los órganos de la planta son capaces de producir alcaloides, aunque en general, los alcaloides de la raíz no tienen por que ser iguales a los del tallo, hojas, flores o frutos, ni a su vez ellos mismos entre sí. La cantidad de un mismo alcaloide varía de una parte a otra del vegetal.

El contenido de alcaloides en una determinada planta, depende de la edad de la misma, la época del año así como su estado de desarrollo. En las plantas perennes, los tallos generalmente contienen un alto % de alcaloides producto de la acumulación constante de los mismos. Para la mayor parte de las plantas, el máximo contenido de alcaloides se tiene en la época de las primeras floraciones que coincide con un metabolismo más intenso.

Aún más interesante, es el hecho de que una misma especie, en idénticas condiciones de edad, época del año, etc., no sólo puede variar el contenido de alcaloides totales,



sino también la relación en que se encuentran dos o más alcaloides en la planta. Para estas cuestiones se han dado múltiples explicaciones, tales como el contenido de minerales en el suelo, a la humedad relativa, precipitación, temperatura, iluminación solar, etc. Pero concretamente no ha sido posible definir con claridad las causantes.

En los últimos años se ha desarrollado el concepto de “raza química”, según el cual, al desarrollarse una especie en una determinada región, la influencia de los aspectos climáticos, ambientales, etc., ha provocado modificaciones genéticas dentro de una especie capaz de brindar distintos contenidos cualitativos y cuantitativos con respecto a la misma especie cultivada en otro lugar.

### **1.1.3.- EXTRACCIÓN**

La propiedad más importante y común a la mayoría de los alcaloides es su basicidad, es por ello que su extracción y purificación suelen hacerse en base a esa propiedad. Se extraen generalmente del vegetal, con soluciones acuosas ácidas o bien son desplazados de sus combinaciones por medio de un álcalis y extraído por un solvente orgánico.

Algunos alcaloides volátiles pueden ser extraídos con destilación por arrastre de vapor de agua en medio alcalino. En caso de ser extraído con un ácido del vegetal, puede purificarse haciendo la solución alcalina y el alcaloide extraído con solvente orgánico. En este proceso, sustancias solubles en agua son separadas de los alcaloides. De esta manera pueden extraerse todos los alcaloides presentes en un vegetal ya que en la misma siempre se hallan varios alcaloides relacionados estructuralmente. Una separación más precisa requiere de métodos más sofisticados (cromatografías de papel, de gases).

Algunos alcaloides son reconocidos posteriormente por reacciones de precipitación originadas por los ácidos de metales pesados como: silicotúgstico, cloroplatínico, fosfomolibdico.

De igual forma los llamados Reactivos Generales de Alcaloides como los de Mayer (yodo mercuriato de potasio), Bouchardat (yodo ioduro de potasio), Dragendorff (ioduro doble de bismuto y potasio), Bertran (ácido silicotúgstico), Wagner (yodo ioduro de potasio), ácido tánico al 5 % y ácido pícrico al 1 % dan precipitados coloreados con grupos de alcaloides.

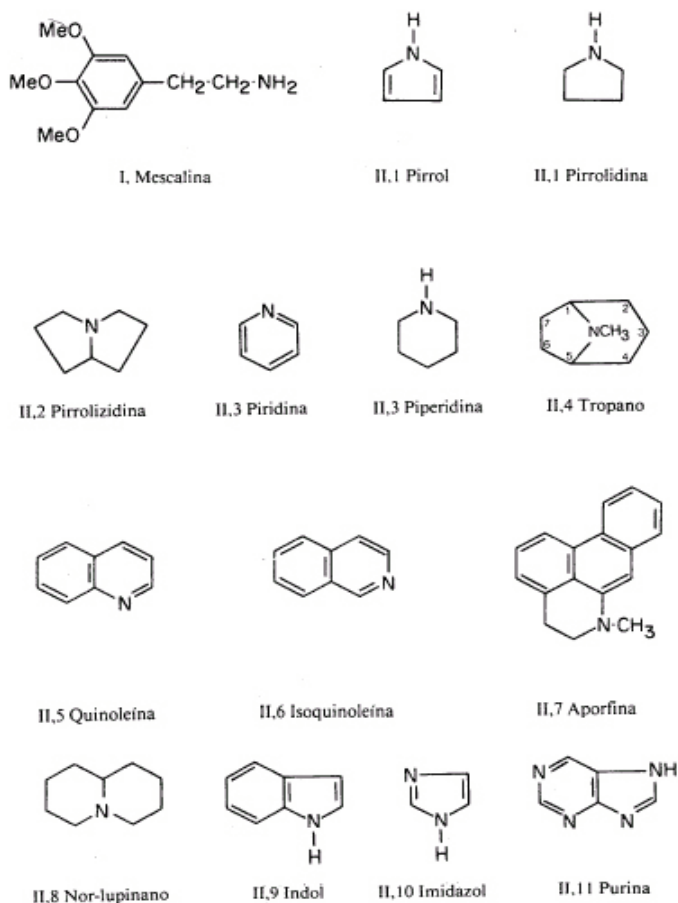
#### 1.1.4.- IDENTIFICACIÓN Y VALORACIÓN

Para identificar los alcaloides son útiles las técnicas cromatográficas y de electroforesis. Se utilizan las tinturas o los extractos alcohólicos. Como reveladores se emplea generalmente el Reactivo de Dragendorff. La identificación se hace en presencia de sustancias testigos. Su valoración se efectúa de las siguientes maneras:

- **Dosaje ponderal:** Consiste en pesar el residuo de alcaloides totales. Esta técnica sólo es válida para drogas que tienen un contenido importante en alcaloides.
- **Dosaje volumétrico:** El residuo de alcaloides totales es neutralizado con un ácido de normalidad conocida (HCL o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1N o 0.01 N).
- **Valoración indirecta:** Se trata el residuo de alcaloides totales con una cantidad conocida y en exceso de ácido. El exceso de ácido se titula con una base de la misma normalidad. Ciertos alcaloides pueden dar reacciones coloreadas más o menos específicas que pueden ser evaluadas al espectrofotómetro.

### 1.1.5.- CLASIFICACIÓN DE ALCALOIDES

GRÁFICO 1.- CLASIFICACIÓN QUÍMICA DE LOS ALCALOIDES



Hasta hace algunos años no era factible desarrollar una clasificación estricta de los alcaloides conocidos, ya que en muchos casos, la estructura de los mismos era creciente. En la actualidad, los métodos espectroscópicos han permitido asignar estructuras a una gran cantidad de alcaloides aislados de las plantas, facilitando de este modo el desarrollo de una clasificación química de los mismos.

Atendiendo a que la mayor parte de los alcaloides contienen un anillo heterocíclico en su estructura, es posible considerar la clasificación como si los alcaloides fueran derivados simples de un anillo. De esta manera, existirían alcaloides derivados de la piridina, indol, tropano, quinolina, isoquinolina, etc." (4). Véase Anexo 1.

## 1.2.- EL CHOCHO

“El tarwi (chocho, *Lupinus mutabilis Sweet*) es una leguminosa herbácea erecta de tallos robustos, algo leñoso. Alcanza altura de 0.8 - 2.0 m. Se cultiva principalmente entre 2000-3800 msnm, en climas templado-fríos. Los granos vienen dentro de vainas, es muy parecido a la arveja y se lo conoce también como chocho o chuchis muti. Contienen alcaloides amargos que impiden su consumo directo.

Es un alimento lleno de proteínas, grasas, hierro, calcio y fósforo. Se considera apropiado para los niños en etapa de crecimiento, mujeres embarazadas o que dan de lactar. Combinado con cereales como la quinua o amaranto, es capaz de reunir las cualidades de la leche, la carne, el queso y el huevo.

Se ha introducido en Argentina desde Perú y Bolivia. Se utiliza, desamargada, en guisos, en purés, en salsas, ceviche serrano, sopas (crema de tarwi); guisos (pepián), postres (mazamorra con naranja) y refrescos (jugo de papaya con harina de tarwi). Industrialmente la harina de tarwi se usa hasta en 15 % en la panificación, por la ventaja de mejorar considerablemente el valor proteico y calórico el producto. Para uso medicinal los alcaloides (esparteína, lupinina, lupanidina, etc) se emplean para controlar ectoparásitos y parásitos intestinales de los animales.

En la ingeniería agronómica en estado de floración la planta se incorpora a la tierra como abono verde, con buenos resultados mejorando la cantidad de materia orgánica, estructura y retención de humedad del suelo. Como combustible casero los residuos de la cosecha (tallos secos) se usan como combustible por su gran cantidad de celulosa que proporciona un buen poder calorífico”. (5)

Vale recalcar la gran utilidad que tienen estos alcaloides en el suelo debido a que los residuos de estas plantas contienen alcaloides que permiten enriquecer a los mismo mejorando la retención de agua, la calidad de la materia orgánica en el suelo y además su poder antiparasitante en los animales.

“En un estudio realizado en la Universidad Complutense de Madrid, se empleó semillas de la familia ***lupinus***, entre otros, para la fitorremediación, observándose que además de una gran capacidad de adsorción de Cd, Pb, Cr y Zn, son capaces de germinar en áreas altamente contaminadas y además pueden modificar el pH (en los experimentos realizados lo han variado de 2 a 5,5)” (6).

Según se puede observar los estudios con una variedad de ***lupinus*** realizado en la península Ibérica da como resultados la adsorción de metales pesados utilizando las semillas de la familia ***lupinus***, estos pudieron germinar en sitios que presentaron una alta concentración de metales pesados disminuyendo el impacto ambiental y dando lugar a la fitorremediación de suelos contaminados.

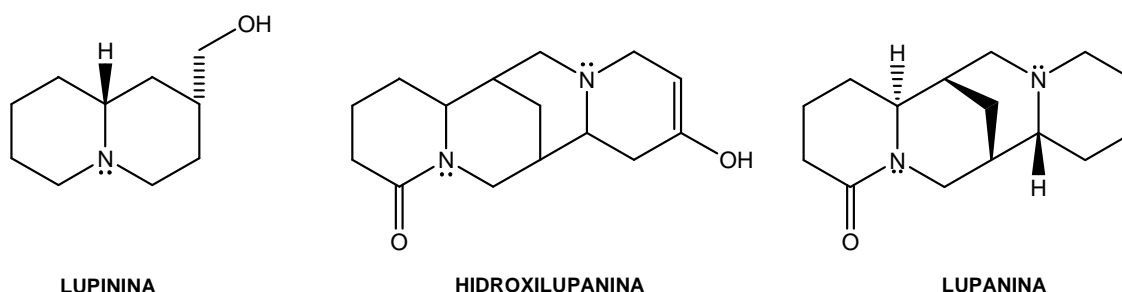
### **1.3.- ALCALOIDES DEL CHOCHO**

El chocho contiene sustancias antinutritivas que limitan el uso directo del grano crudo en la alimentación humana y animal. Entre estas sustancias se encuentran los alcaloides que son compuestos amargos que tienen propiedades farmacológicas a bajas dosis.

“Durante el proceso de desamargado de chocho se eliminan gran cantidad de alcaloides presentes en las semillas del mismo, entre los que tenemos a la lupinina, esparteína, lupanidina y anagreína principalmente” (7).

Los alcaloides encontrados en las aguas de desamargado son de naturaleza nor-lupinano, según la clasificación química de los mismos, que a su vez son eliminados hacia los sistemas de alcantarillado o a las fuentes hídricas más próximas provocando un grave impacto en la flora y la fauna de los mismos debido a que estos son altamente tóxicos para los seres humanos y por que no decirlo para la fauna de los sistemas acuáticos.

**GRÁFICO 2.- ESTRUCTURA DE LOS PRINCIPALES ALCALOIDES DEL CHOCHO**



El principal alcaloide que tiene el chocho es la lupanina, que se puede utilizar como insecticida contra lepidópteros y coleópteros y que, a la planta, le sirve para crear mecanismos de defensa contra insectos, herbívoros y patógenos microbianos. Los agricultores utilizan esta propiedad tóxica para el control de plagas, de ectoparásitos (parásitos que viven en la superficie de otro organismo), afecciones dermatológicas y parásitos intestinales en los animales.

Con esta investigación se espera dar un valor agregado al cultivo de chocho, mediante el desarrollo de fitofármacos y la posibilidad de incorporar a un mayor número de agricultores a los procesos de producción y agroindustria, evitando en parte la migración campesina a las ciudades, además de impulsar la seguridad alimentaria en las zonas andinas en donde se encuentran este tipo de grano, muy importante en la dieta de la población ecuatoriana.

Para evitar un mayor impacto ambiental en las cuencas hídricas contaminadas por el agua de los diferentes procesos de desamargado del chocho se pueden tomar en cuenta los estudios realizados sobre la recuperación de alcaloides y poder aplicarlo en el área biotecnológica ambiental, principalmente en la complejación de metales pesados de aguas contaminadas por los mismos.

#### **1.4.- METALES PESADOS**

“Los Metales pesados son aquellos elementos cuya densidad es por lo menos cinco veces mayor que la del agua. Tienen aplicación directa en numerosos procesos de producción de bienes y servicios, podemos señalar a los siguientes: Arsénico (As), Cadmio (Cd), Cobalto (Co), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Mercurio (Hg), Níquel (Ni), Plomo (Pb), Estaño (Sn) y Cinc (Zn). Algunos metales son indispensables en bajas concentraciones, ya que forman parte de sistemas enzimáticos, como el cobalto, zinc, molibdeno, o como el hierro que forma parte de la hemoglobina. Su ausencia causa enfermedades, su exceso intoxicaciones.” (8)

A ciertos metales pesados se los consideran como elementos tóxicos porque en elevadas concentraciones pueden provocar trastornos a nivel metabólico en seres vivos, debido principalmente a la asimilación de los mismos, ya sea por procesos de bioacumulación o biomagnificación, degenerando en enfermedades toxicológicas e incluso con la muerte si las concentraciones son elevadas.

El desarrollo tecnológico en los últimos siglos, las crecientes necesidades de una población mundial en aumento, el consumo masivo e indiscriminado de materias y el aumento en la producción desechos, ha provocado que la presencia de M.P. se incremente provocando a su vez efectos sobre la salud y el medio ambiente. A

continuación se mencionará algunas características físico-químicas y toxicológicas de metales como cadmio, plomo y cromo, además de sus efectos sobre el medio ambiente.

#### **1.4.1.- Cadmio**

“El cadmio es un elemento químico de número atómico 48 situado en el grupo 12 de la tabla periódica de los elementos. Su símbolo es Cd. Es un metal pesado, blanco azulado, relativamente poco abundante. Es uno de los metales más tóxicos, aunque podría ser un elemento químico esencial, necesario en muy pequeñas cantidades, pero esto no está claro. Normalmente se encuentra en menas de zinc y se emplea especialmente en pilas. Su estado de oxidación más común es el +2. Puede presentar el estado de oxidación +1, pero es muy inestable.

**1.4.1.1.- Efectos del cadmio en el ambiente.-** El Cadmio deriva sus características toxicológicas de su semejanza química con el cinc, un micronutriente esencial para las plantas, los animales y los seres humanos. El cadmio es biopersistente y, absorbido una vez por un organismo, sigue siendo residente por muchos años (décadas del excedente para los seres humanos) aunque se excreta eventualmente.

En seres humanos, la exposición a largo plazo se asocia a la disfunción renal. La alta exposición puede conducir a la enfermedad obstructora del pulmón y se ha ligado al cáncer de pulmón, aunque los datos referentes al último son difíciles de interpretar debido a los diferentes factores que originan el cáncer. El cadmio puede también producir efectos en el tejido óseo (osteomalacia, osteoporosis) en seres humanos y los animales. Además, el cadmio también puede estar relacionado con un aumento de la presión arterial y efectos sobre el miocardio de los animales, aunque la mayoría de los



datos humanos no apoyan estos resultados. El promedio diario para los seres humanos se estima es de 0.15  $\mu\text{g}$  en el aire y 1  $\mu\text{g}$  en el agua. Fumar un paquete de 20 cigarrillos puede conducir a la inhalación de alrededor de 2-4  $\mu\text{g}$  del cadmio, pero los niveles pueden variar extensamente. El Cadmio es producido como un subproducto inevitable de la refinación del cinc o del plomo, puesto que se encuentra naturalmente presente dentro de los minerales de estos metales. Sin embargo, una vez que se lo recupera, el cadmio es relativamente fácil de reciclar.

El uso más significativo del cadmio está en baterías de níquel/cadmio, como fuentes de energía recargables o secundarias que exhiben alta salida, vida larga, mantenimiento bajo y alta tolerancia a la tensión física y eléctrica. Las capas del cadmio proporcionan buena resistencia a la corrosión, particularmente ambientes de alta tensión, como el uso marino y aeroespacial donde se requiere de alta seguridad o confiabilidad.

Otras de las aplicaciones del cadmio es en la elaboración de pigmentos, estabilizadores para el PVC, en aleaciones y artefactos electrónicos. El cadmio está también presente como impureza en varios productos, incluyendo los fertilizantes del fosfato, los detergentes y los productos de petróleo refinados.

En general en la población no fumadora el camino principal de la exposición está a través de alimento, con la adición del cadmio en el suelo por vía agrícola desde varias fuentes (deposición atmosférica y aplicaciones fertilizantes) contaminando a su vez los forrajes verdes de los que se alimentan los animales. Otra forma de exposición en de los seres humanos al cadmio se da a través del agua de consumo e inhalación de aire contaminado.

### 1.4.2.- Cromo

El cromo es un elemento químico de número atómico 24 que se encuentra en el grupo 6 de la tabla periódica de los elementos. Su símbolo es Cr. Es un metal que se emplea especialmente en metalurgia. El cromo es un metal de transición duro, frágil, gris acerado y brillante. Es muy resistente frente a la corrosión.

Su estado de oxidación más alto es el +6, aunque estos compuestos son muy oxidantes. Los estados de oxidación +4 y +5 son poco frecuentes, mientras que los estados más estables son +2 y +3. También es posible obtener compuestos en los que el cromo presente estados de oxidación más bajos, pero son bastante raros.

**1.4.2.1.- Efectos del cromo en el ambiente.-** El cromo se utiliza en el cemento aleaciones del metal y los pigmentos para las pinturas, el papel, el caucho, y otros materiales. La exposición baja puede irritar la piel y causar la ulceración. La exposición a largo plazo puede causar daño del riñón y en el hígado, y el daño demasiado prolongado provoca problemas en el sistema circulatorio y el tejido fino nervioso. El cromo se acumula a menudo en la vida acuática, agregando el peligro de comer los pescados que pudieron haber sido expuestos a los altos niveles del cromo.

Los compuestos que contienen Cr VI se utilizan en muchos procesos industriales, entre los que cabe destacar: la fabricación de importantes pigmentos inorgánicos como los cromatos de plomo (también utilizados para preparar verdes de cromo), los naranjas de molibdato, el cromato de zinc y el verde de óxido crómico; la conservación de la madera; la fabricación de anticorrosivos; y la fabricación de vidrios y esmaltes de color. Los sulfatos crómicos básicos se utilizan ampliamente en los procesos de curtido.

El ácido crómico se utiliza no sólo para el cromado “decorativo”, sino también para el “duro”, con capas mucho más gruesas para obtener una superficie sumamente resistente con un bajo coeficiente de fricción. De la potente acción oxidante de los cromatos en solución acidulada se derivan muchas aplicaciones industriales, especialmente con materiales orgánicos, como la oxidación del trinitrotolueno (TNT) para producir fluoroglucinol. El óxido de cromo se utiliza también para producir cromo metálico puro adecuado para su incorporación en aleaciones de alta temperatura resistentes al arrastre y como óxido refractario.

Los compuestos con cromo en estado de oxidación Cr III son considerablemente menos peligrosos que los compuestos de Cr VI. Los compuestos de Cr III no se absorben fácilmente en el aparato digestivo y pueden combinarse con proteínas de las capas superficiales de la piel, formando complejos estables. En ausencia de una sensibilización previa con compuestos de Cr VI, los compuestos de Cr III no producen ulceraciones ni suelen producir dermatitis alérgicas. Los compuestos de cromo en estado de oxidación Cr VI se absorben rápidamente después de la ingestión o la inhalación. La captación a través de la piel intacta es menos conocida. Los efectos irritantes y corrosivos del Cr VI se producen inmediatamente después de la absorción a través de la mucosa, que es muy rápida.

La exposición profesional a los compuestos de Cr VI puede producir irritación o corrosión cutáneo-mucosa, reacciones cutáneas de tipo alérgico o ulceraciones de la piel. Los efectos nocivos de los compuestos de cromo se observan generalmente entre las personas que trabajan en lugares donde está presente el Cr VI, especialmente durante su fabricación o utilización, y afectan principalmente a la piel y al aparato respiratorio. Los riesgos industriales típicos son: la inhalación de polvo y humos procedentes de la fabricación del dicromato a partir del mineral de cromita y de la

fabricación de los cromatos de plomo y zinc; la inhalación de nieblas de ácido crómico durante el cromado o el revestimiento de superficies metálicas; y el contacto cutáneo con compuestos de Cr VI durante su fabricación o uso.

### **1.4.3.- Plomo**

El plomo es un elemento químico de la tabla periódica, cuyo símbolo es Pb, y su número atómico es 82 según la tabla actual. El plomo es un metal pesado, de color azulado, que se empaña para adquirir un color gris mate. Es flexible, inelástico y se funde con facilidad. Las valencias químicas normales son +2 y +4.

Es relativamente resistente al ataque de ácido sulfúrico y ácido clorhídrico, aunque se disuelve con lentitud en ácido nítrico y ante la presencia de bases nitrogenadas. El plomo es anfótero, ya que forma sales de plomo de los ácidos, así como sales metálicas del ácido plúmbico. Tiene la capacidad de formar muchas sales, óxidos y compuestos organometálicos.

**1.4.3.1.- Efectos del plomo en el ambiente.-** En la exposición de los seres humanos al plomo pueden dar lugar a una amplia gama de efectos biológicos dependiendo el nivel y duración de la exposición. Los diferentes efectos ocurren sobre una amplia gama de dosis, con el feto que se convierte en infante que es más sensible que el adulto.

Los altos niveles de la exposición pueden dar lugar a efectos bioquímicos tóxicos en los seres humanos que alternadamente causan problemas en la síntesis de la hemoglobina, de efectos sobre los riñones, del aparato gastrointestinal, del sistema reproductivo, y daños agudos o crónicos al sistema nervioso.

El envenenamiento con plomo, el cual es tan severo como demuestran las enfermedades que puede producir, es muy raro ahora de hecho. En las concentraciones intermedias, sin embargo, hay evidencia persuasiva que conducen a tener efectos pequeños, sutiles, subclínicos, particularmente en progresos neuropsicológicos en niños.

Algunos estudios sugieren que pueda haber una pérdida de hasta 2 puntos del índice de inteligencia para una subida del nivel de plomo en la sangre a partir del 10 a 20  $\mu\text{g}/\text{dl}$  en niños jóvenes. El producto de plomo diario del promedio para los adultos en el Reino Unido se estima en 1.6  $\mu\text{g}$  del aire, de 20  $\mu\text{g}$  del agua potable y de 28  $\mu\text{g}$  del alimento.

Aunque la mayoría de la gente recibe la cantidad mas grande de plomo en el alimento, en poblaciones específicas otras fuentes pueden ser más importantes, por ejemplo el agua en áreas con instalación de tubos de plomo y el agua completamente solvente, ventila cerca del punto de las emisiones fuente, del suelo, del polvo, de las escamas de la pintura en viejas casas o de la tierra contaminada. El plomo en el aire contribuye a los altos niveles en alimentos con la deposición del polvo y lluvia que contiene el metal, en las cosechas y el suelo

El plomo en el ambiente se presenta de fuentes naturales y antropogénicas. La exposición puede ocurrir a través del agua potable, del alimento, del aire, del suelo y del polvo de la vieja pintura que contiene plomo. La población adulta no fumadora tiene como principal fuente de exposición es el alimento y agua. El alimento, el aire, el agua y polvo/tierra son los caminos potenciales principales de la exposición los infantes y los niños jóvenes. Para los infantes hasta 4 o 5 meses de la edad, el aire, las fórmulas de la leche y el agua son las fuentes significativas.

El plomo está entre los metales no ferrosos reciclados y su producción secundaria por lo tanto ha crecido constantemente a pesar de que los precios del plomo declinaban. Sus características físicas y químicas se aplican en las industrias de la construcción y como producto químico. Es fácilmente maleable y dúctil. Hay amplias categorías de su uso como en baterías, antidetonantes de la gasolina, aleaciones, pigmentos, compuestos, tuberías, cables, entre otros” (9)

### **1.5.- CONTAMINACIÓN DEL AGUA POR METALES PESADOS**

Los cursos de agua han sido desde tiempos inmemorables los receptores de todo tipo de descargas directa o indirectamente. En un principio eran capaces de soportar este tipo de descargas porque en su gran mayoría eran de naturaleza doméstica, pero a raíz del tiempo el carácter auto depurativo de cursos hídricos disminuyó considerablemente por el aumento de los vertidos, siendo finalmente mucho más tóxicas.

En lo concerniente a la contaminación del agua se puede decir que es la alteración de la calidad de la misma por factores antropogénicos o naturales pudiendo provocar daños sobre las especies que estén en contacto con la misma.

La presencia de ciertos elementos en el agua como metales altera en gran medida la calidad de las mismas, pudiendo provocar enfermedades hídricas agudas y crónicas dependiendo del grado de exposición y la concentración de metales a las que hayan estado expuestas. En cuanto a las principales fuentes de contaminación de aguas por metales pesados tenemos que en la industria hidrocarburífera se utiliza metales pesados como plomo, vanadio, cadmio, entre otros principalmente como antidetonantes.

El ingreso de metales de alta toxicidad no pueden ser eliminados con facilidad, lo que origina daños en los diferentes órganos de almacenamiento, que con el tiempo pueden llevar a desarrollar algunos tipos de cánceres, afecciones hepáticas e incluso la muerte. Gran cantidad de industrias utilizan sustancias peligrosas o dañinas al medio ambiente, en este caso nos centraremos específicamente a la contaminación del agua puesto que es un recurso vital para el desarrollo de la vida y se a puesto en tela de duda la calidad de la misma.

“En el cuadro que se verá a continuación se muestra una serie de alteraciones que se producen debido a las diferentes actividades industriales.”(10)

**TABLA I.- SECTORES INDUSTRIALES Y SUSTANCIAS CONTAMINANTES PRINCIPALES**

<b>SECTOR INDUSTRIAL</b>	<b>SUSTANCIAS CONTAMINANTES PRINCIPALES</b>
Construcción	Sólidos en suspensión, metales, pH.
Minería	Sólidos en suspensión, metales pesados, materia orgánica, pH, cianuros.
Energía	Calor, hidrocarburos y productos químicos.
Textil y piel	Cromo, taninos, tensoactivos, sulfuros, colorantes, grasas, disolventes orgánicos, ácidos acético y fórmico, sólidos en suspensión.
Automoción	Aceites lubricantes, pinturas y aguas residuales.
Navales	Petróleo, productos químicos, disolventes y pigmentos.
Siderurgia	Cascarillas, aceites, metales disueltos, emulsiones, sosas y ácidos.
Química inorgánica	Hg, P, fluoruros, cianuros, amoníaco, nitritos, ácido sulfhídrico, F, Mn, Mo, Pb, Ag, Se, Zn, etc. y los compuestos de todos ellos.
Química orgánica	Organo-halogenados, organosilícicos, compuestos cancerígenos y otros que afectan al balance de oxígeno.
Fertilizantes	Nitratos y fosfatos.
Pasta y papel	Sólidos en suspensión y otros que afectan al balance de oxígeno.
Plaguicidas	Organo-halogenados, organofosforados, compuestos cancerígenos, biocidas, etc.
Fibras químicas	Aceites minerales y otros que afectan al balance de oxígeno.
Pinturas, barnices y tintas	Compuestos organoestámicos, compuestos de Zn, Cr, Se, Mo, Ti, Sn, Ba, Co, etc.

Fuente: ECHARRI PRIM L. CIENCIAS DE LA TIERRA Y DEL MEDIO AMBIENTE.

Como se puede observar los principales causantes de contaminación con metales pesados son la industria de textiles, automoción, industria química inorgánica, minería y de pinturas debido a la evacuación directa de aguas del proceso en los cauces hídricos más cercanos como también en los sistemas de alcantarillado de las ciudades.

Metales tan conocidos y utilizados como el plomo, mercurio, cadmio, níquel, vanadio, cromo, cobre, aluminio, arsénico o plata, etc., son sustancias tóxicas si se encuentran en altas dosis. Muchos de estos elementos son micronutrientes necesarios para la vida de los seres vivos y deben ser absorbidos por las plantas o forma parte de la dieta de los animales. Pero cuando por motivos naturales o por acción humana se acumulan en los suelos, las aguas o en los seres vivos se convierten en sustancias tóxicas que pueden provocar daños en los seres afectados por los mismos debido a los factores de bioacumulación y biomagnificación afectando a las cadenas alimenticias.

### **1.6.- COMPLEJOS**

“Un complejo o compuesto de coordinación es una sustancia que contiene entidades consistentes en uno o más átomos centrales rodeados por otros átomos o grupos de átomos, de los cuáles por lo menos uno de ellos está unido al átomo central por un enlace covalente coordinado. En general, cuando se agrega ligando a una solución de metal, se forma, en primera instancia, el complejo ML con un único ligando L. Al continuar con el agregado de ligando, aumenta la concentración del complejo ML<sub>2</sub> formado por dos moléculas de ligando y cuatro de agua, disminuyendo la de ML, y así hasta formarse el complejo con el número de ligandos L más alto posible. La estabilidad de un ion complejo, depende tanto de la naturaleza del metal como de la del ligando.



### 1.6.1.- Factores que afectan a la estabilidad de un complejo

- **Efecto Quelato.-** Si en un complejo se sustituyen ligandos monodentados por polidentados aumenta la estabilidad, además el tamaño del anillo formado influye, siendo más estables los de 5 o 6 miembros.
- **Acidez.-** La mayoría de ligandos son bases de Brönsted, relativamente fuertes (capaces de aceptar protones), por ello en medio suficientemente ácidos, el ligando se protona, favoreciéndose la disociación del complejo.
- **Exceso de ligando.-** La estabilidad aumenta al incrementar la cantidad del agente formador del complejo” (11).

### 1.6.2.- Complejación de metales por la materia orgánica

“La especiación afecta a la reactividad de los metales pesados y, por tanto, a su disponibilidad biológica y al carácter beneficioso/tóxico para un determinado organismo. No obstante, y a pesar de la importancia de muchos de los metales pesados desde el punto de vista biológico, sus bajos niveles de concentración hacen que la especiación de estos elementos no esté claramente establecida.

Un punto importante a considerar en la especiación de metales pesados es su complejación con ligandos orgánicos presentes en el agua de mar. En los océanos, el contenido en materia orgánica disuelta varía desde 1 mg C/l en profundidad (en unidades DOC) hasta valores diez veces superiores en aguas superficiales.

Aunque la naturaleza química de esta materia no está bien caracterizada, se puede citar como ejemplos, ligandos procedentes de la actividad humana, como EDTA, o bien sustancias húmicas y compuestos poliméricos de composición variable que

contienen grupos aptos para la coordinación del tipo de alcoholes, fenoles, ácidos carboxílicos, etc.

Por lo que se refiere a la toxicidad de determinados metales, la forma en que éstos estén presentes y, en concreto, la naturaleza de los ligandos a los que se encuentran coordinados, puede modificar drásticamente sus propiedades. Este es el caso, por ejemplo del cobre, que puede actuar como nutriente cuando está formando parte de especies en las que el Cu II está coordinado con ligandos de tipo orgánico, o como un tóxico, si se presenta en forma de Ion  $\text{Cu}^{2+}$  libre.

Generalmente, para una gran variedad de metales pesados que incluye  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , y  $\text{Fe}^{3+}$ , se observa que la biodisponibilidad está íntimamente relacionada a la especiación. Para estos metales la partición de los metales entre cationes hidratados,  $\text{M}^+$ , y las formas ML, complejadas con ligandos en disolución (L) ejerce una influencia principal en los ciclos biogeoquímicos de los océanos. Una investigación de complejación de metales realizada por Mantoura concluye que aproximadamente el 10% del total del cobre en aguas oceánicas está complejado con materia orgánica. Actualmente, debido a los avances analíticos, se dice comúnmente que el 99% o más del cobre total en agua de mar está en forma de complejos orgánicos.

Se han usado una gran variedad de técnicas para analizar la complejación de metales minoritarios por la materia orgánica en agua de mar. Las primeras valoraciones de la complejación de metales por sustancias orgánicas se usaron para proporcionar estimaciones de los enlaces metálicos y tienen un interés limitado en la química del medio marino. Estas medidas fueron reemplazadas por valoraciones de fraccionamiento de los metales como orgánico, inorgánico, y particulado.

Como son muy importantes las concentraciones libres de los iones metálicos por su participación en los procesos biogeoquímicos, casi todas las valoraciones modernas de las interacciones órgano-metálicas tratan de definir parámetros que permitirán el cálculo de la concentración libre del ion metálico” (12)

### **1.6.3.- Sistemática de la complejación**

“Normalmente se entiende que la complejación de un metal por la materia orgánica natural implica una gran variedad de tipos de sitios de coordinación y de afinidades de los metales por los ligandos. La naturaleza y distribución de estos sitios de coordinación no está conocido a priori pero se puede deducir por las observaciones de los cambios de las asociaciones de los metales con los ligandos, por ejemplo cuando aumenta la concentración de los metales”.(13)

## **1.7.- COMPLEJACIÓN DE METALES PESADOS CON ALCALOIDES**

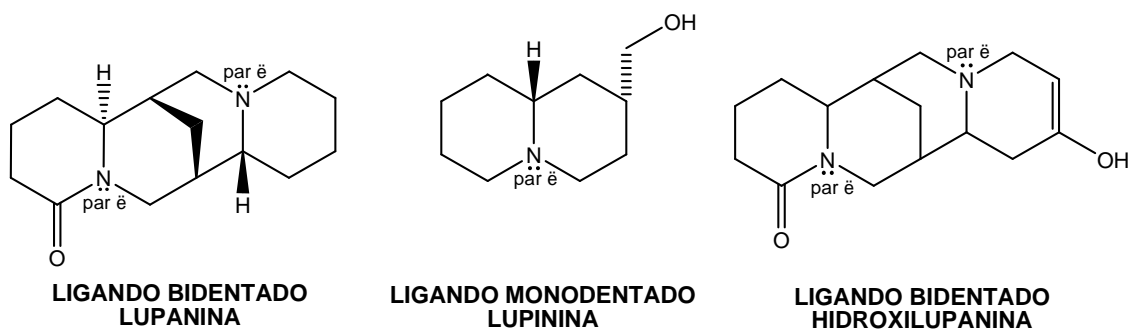
Se ha sugerido que algunos alcaloides participan en el crecimiento en el reino vegetal debido a su capacidad de formar quelatos o intervenir en fenómenos de óxido-reducción dentro de las plantas.

Algunas especies vegetales como se ha venido mencionando tienen la facultad de actuar en la biorremediación de recursos naturales, ya sea agua y suelo, estos debido a la capacidad que tienen determinados alcaloides de intervenir en la formación de complejos en forma de quelatos o ligandos con metales pesados.

Las estructuras químicas de los alcaloides presentes en las aguas de desamargado de chocho permiten determinar que dentro de la lupinina, hidroxilupanina y lupanina se

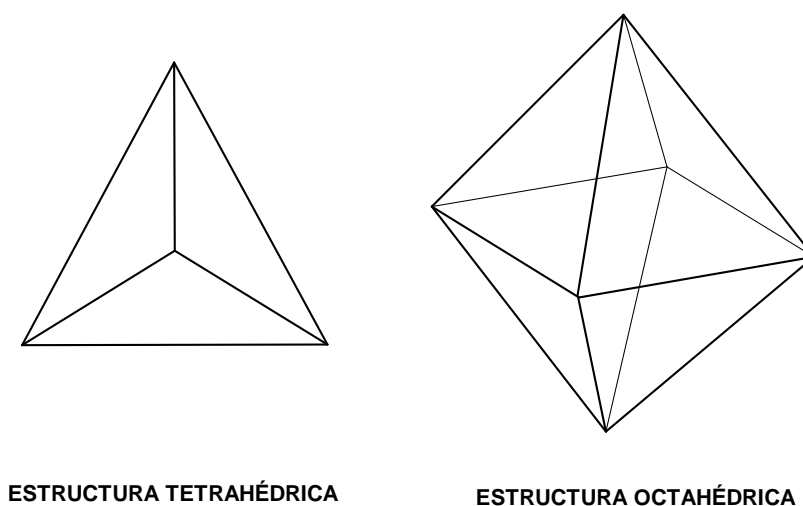
puede evidenciar la presencia de pares de electrones libres en los nitrógenos de los anillos heterocíclicos, lo que favorece a la complejón con metales pesados.

**GRÁFICO 3.- ALCALOIDES DEL CHOCHO CON PARES DE ELECTRONES LIBRES**



Estas estructuras presentan 1 y 2 pares de electrones libres, pudiendo ser utilizadas como ligandos mono y bidentados, complejándose de esta forma con metales como plomo, cadmio y cromo formando estructuras trigonal planar en los casos del cadmio y cromo, tetraédrica en el plomo y cromo, y octaédrica en el cromo.

**GRÁFICO 4.- POSIBLES ESTRUCTURAS DE LOS COMPLEJOS DE METALES**



# CAPÍTULO 2

## **2.- PARTE EXPERIMENTAL**

### **2.1.- INTRODUCCIÓN**

El presente estudio se realizó en la ciudad de Riobamba en los laboratorios de la Facultad de Ciencias y es un trabajo netamente experimental. En el transcurso del capítulo se detallan los métodos y procedimientos seguidos para la obtención de las concentraciones de metales pesados aplicados los diferentes tratamientos. Con los resultados conseguidos se procederá a la construcción de los diseños experimentales y al respectivo análisis estadístico, utilizando para esto el análisis de varianzas ANOVA multifactorial, análisis de medias y el test estadístico de Tukey con un margen de error del 0,05% para cada metal, todo esto realizado en el software M- Stat.

### **2.2.- METODOS**

- **DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE ALCALOIDES DE CHOCHO**  
MÉTODO ADOPTADO POR LA ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL.  
Método basado en la volumetría de valoración indirecta. Véase Anexo 2
  
- **REQUERIMIENTO DE OXÍGENO QUÍMICO. (DQO)**  
MÉTODO DE REFLUJO ABIERTO (MÉTODOS NORMALIZADOS APHA, AWWA, WPCF. 5220 B).  
Método basado en la volumetría de óxido-reducción. Véase Anexo 2
  
- **REQUERIMIENTO DE OXÍGENO BIOQUÍMICO ( DBO )**  
MÉTODO VOLUMÉTRICO (MÉTODOS NORMALIZADOS APHA, AWWA, WPCF. 4500 - O C).

Método basado en la volumetría de óxido-reducción. Véase Anexo 2

- **DETERMINACIÓN DE Ph**

MÉTODO POTENCIOMÉTRICO (MÉTODOS NORMALIZADOS APHA, AWWA, WPCF. 4500 - H<sup>+</sup> B).

Método basado en potenciometría. Véase Anexo 2

- **DETERMINACIÓN DE TURBIEDAD**

MÉTODO NEFELOMÉTRICO (MÉTODOS NORMALIZADOS APHA, AWWA, WPCF. 2130 B).

Método basado en la comparación de la intensidad de luz dispersada. Véase Anexo 2

- **DETERMINACIÓN DE CONDUCTIVIDAD**

MÉTODO DE CONDUCTIMÉTRICO (MÉTODOS NORMALIZADOS APHA, AWWA, WPCF. 2510 D).

Método basado en conductimetría. Véase Anexo 2

- **DETERMINACIÓN DE CROMO**

METODO FOTOMÉTRICO MERCK (MANUAL MERCK COLORIMETRÍA. CROMO. DIFENIL CARBAZIDA)

Método basado en colorimetría. Véase Anexo 2

- **DETERMINACIÓN DE CADMIO**

METODO ESPECTROFOTOMÉTRICO MERCK (SPECTROQUANT TEST CADMIO 1.01745.0001)

Método basado en espectrofotometría UV-Visible. Véase Anexo 2

- **DETERMINACIÓN DE PLOMO**

METODO ESPECTROFOTOMÉTRICO MERCK (SPECTROQUANT TEST PLOMO 1.09717.0001) Anexo 1

Método basado en espectrofotometría UV-Visible. Véase Anexo 2

### **2.3.- PROCEDIMIENTOS**

#### **2.3.1.- Implementación de la técnica:**

Durante el desarrollo experimental del presente trabajo se desarrollan los siguientes procedimientos:

##### **2.3.1.1.- Extracción del agua de desamargado de Chochos**

- Se pesan 500 gramos de chocho seco, se lo deja remojar en un litro de agua durante 12 horas y se procede a hervir durante 30 a 45 minutos.
- Se deja enfriar el agua y se la recoge para el respectivo análisis, siendo esta la primera muestra de agua de desamargado.
- A continuación nuevamente se hierve con otro litro de agua y recogemos nuestra segunda muestra de agua de desamargado para su posterior análisis.
- Las dos muestras obtenidas (Desamargado 1 y Desamargado 2) se someterán a análisis tanto de DBO, DQO, pH, conductividad, turbiedad y cuantificación de alcaloides totales con los métodos antes mencionados.



**2.3.1.2.- Proceso de dosificación de Agua de desamargado de chocho con metales pesados.**

**GRÁFICO 5.- ESQUEMA DE LA IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO.**

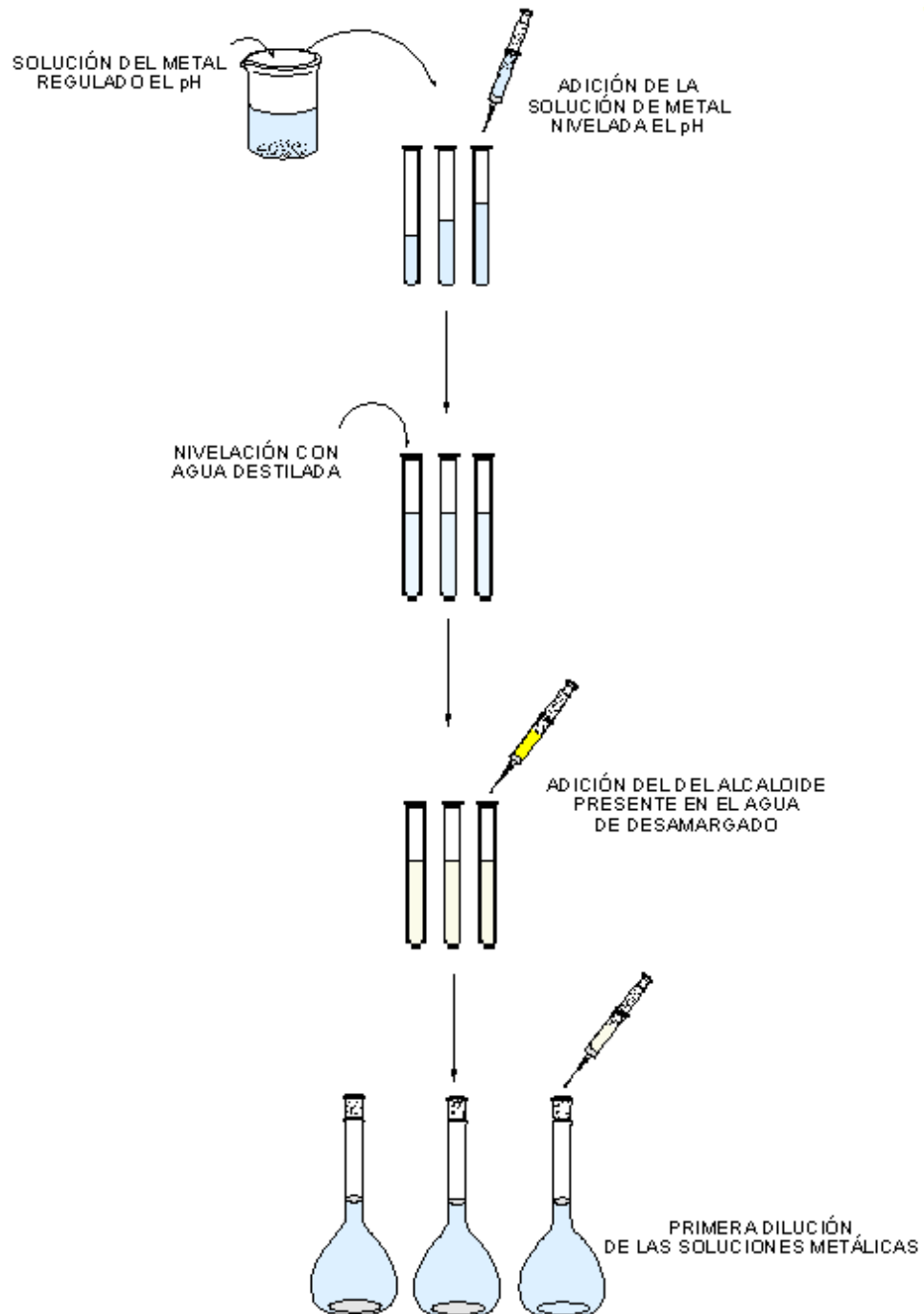
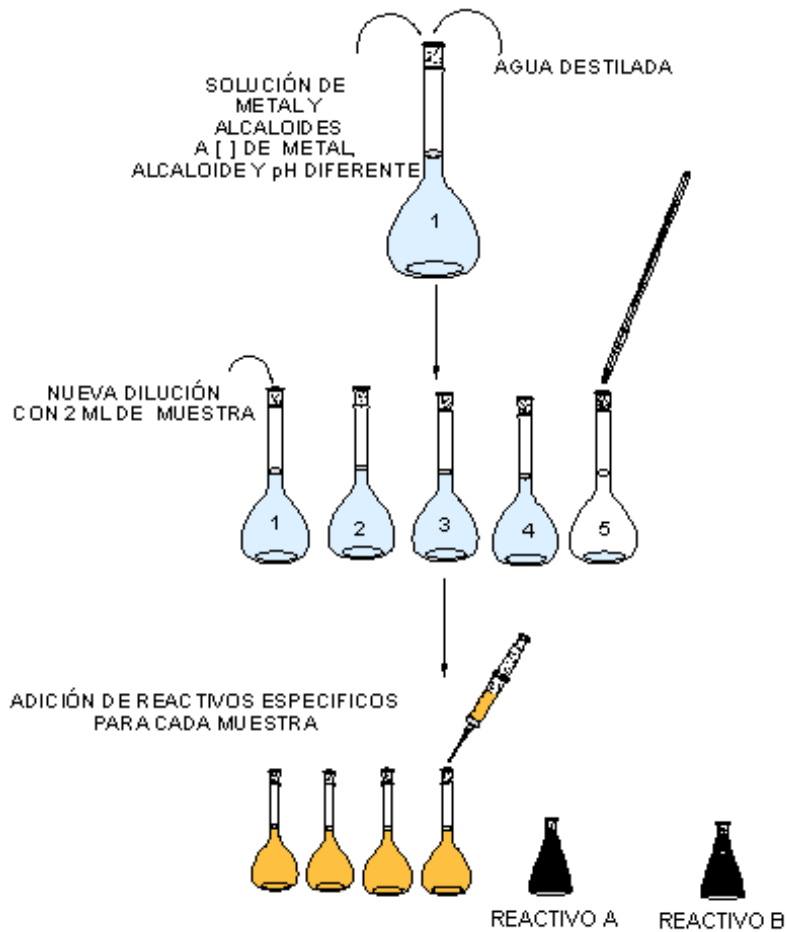


GRÁFICO 6.- ESQUEMA DE LA IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO. (CONTINUACIÓN)



- Como se muestran en el Gráfico 6, se toman en 3 vasos de precipitación diferentes 50 ml de solución madre de los metales Cd, Cr o Pb, se regula el pH de las diluciones a un valor de 4, 6 y 8 respectivamente. En el caso del plomo, se trabajará con diluciones a pH de 3, 4.5 y 6. Para nivelar el pH se utilizan soluciones ácidas de  $\text{HNO}_3$  y  $\text{NH}_3$ .
- Se colocan 2, 4 y 6 ml de solución madre del metal previamente nivelada el pH en 3 tubos de ensayo diferentes, por lo cual al final del procedimiento tendremos 9 tubos bien etiquetados por cada pH a analizar. Aforar los tubos de ensayo a 6 ml con agua destilada.

- Con los 3 primeros tubos de ensayo a distintas concentraciones de metal se prepara el blanco respectivo, añadiendo 2 ml de agua destilada y se deja reaccionar unos 5 minutos.
- De los 6 tubos de ensayo restantes, se toman los tres siguientes a los que se añaden 2 ml de la primera muestra de agua de desamargado de chocho y se deja reaccionar. A los últimos 3 tubos de ensayo se añaden 2 ml de la segunda muestra de agua de desamargado de chocho y se deja reposar.
- Para acelerar el proceso de reacción, se someten los tubos a Baño María hasta alcanzar una temperatura de 35 a 40 °C, luego se los enfría y se lleva a la centrífuga a una velocidad de 85 rps durante 2 min. A continuación se toma el sobrenadante de cada tubo y se lleva a dilución para el siguiente análisis.

**Nota:** Se repite el procedimiento a cada pH, por lo que al final de este proceso de dosificación se tendrán 27 tubos de ensayo diferentes por cada metal a analizar.

### **2.3.1.3.- Proceso de dilución para análisis espectrofotométrico.**

De los sobrenadantes obtenidos en el procedimiento anterior (Proceso de dosificación de Agua de desamargado de chocho con metales pesados), se realizan diluciones para obtener concentraciones de metal que se encuentren dentro de las curvas de calibración para cada uno de los metales.

- En el caso del cromo y el cadmio, se recoge 2 ml de sobrenadante llevándolo al aforo hasta 100 ml con agua destilada. Nuevamente se toman 2 ml de muestra del aforo anterior y se afora en balones de 50 ml. Estas muestras serán el punto

de partida para el análisis cuantitativo del metal con el METODO ESPECTROFOTOMÉTRICO MERCK (SPECTROQUANT TEST CADMIO 1.01745.0001) y METODO FOTOMÉTRICO MERCK (MANUAL MERCK COLORIMETRÍA. CROMO. DIFENIL CARBAZIDA) Anexo 2

- En el caso del plomo, se toma 1 ml de sobrenadante y se afora hasta 100 ml con agua destilada, estas muestras son el punto de partida para el análisis cuantitativo del metal con el METODO ESPECTROFOTOMÉTRICO MERCK (SPECTROQUANT TEST PLOMO 1.09717.0001) Anexo 2

#### 2.3.1.4.- Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de los procedimientos anteriores son revisados y tabulados según el diseño multifactorial A x B x C. Los datos recopilados se expresan en razón de porcentajes de reducción, mediante la relación agua destilada- muestra tratada mediante la utilización de la ecuación Ec.(5) respecto a su codificación como se detalla a continuación:

**TABLA II.- TABLA DE DATOS EN PORCENTAJES PARA CADA METAL A ANALIZAR (AxBxC)**

**Donde:**

a = Tratamiento con alcaloide

a1 = 4,59 mg/l [ ] alcaloide

a2 = 1,24 mg/l [ ] alcaloide

b = [ ] del Metal

b0 = [ ]<sub>1</sub> Metal

b1 = [ ]<sub>2</sub> Metal

b2 = [ ]<sub>3</sub> Metal

c = Variación de pH

c0 = pH 4

c1 = pH 6

c2 = pH 8

MUESTRAS	RÉPLICA 1 %	RÉPLICA 2 %
a0b0c0	--	--
a0b0c1	--	--
a0b0c2	--	--
a0b1c0	--	--
a0b1c1	--	--
a0b1c2	--	--
a0b2c0	--	--
a0b2c1	--	--
a0b2c2	--	--
a1b0c0	--	--
a1b0c1	--	--
a1b0c2	--	--
a1b1c0	--	--
a1b1c1	--	--
a1b1c2	--	--
a1b2c0	--	--
a1b2c1	--	--
a1b2c2	--	--

Para facilitar el análisis estadístico se proceden a eliminar uno o varios tratamientos que no cumplan con un porcentaje de reducción adecuado como se verá a continuación, reduciéndose de esta forma el diseño de tri a bifactorial, en determinados casos.

**TABLA III.- MATRIZ DE DATOS MÁS RELEVANTES EN LA REDUCCIÓN DEL METAL ANALIZADO.**

<b>DISEÑO EXPERIMENTAL AXB</b>		
Réplicas (Var 1: repeticiones) con valores de 0 a 1		
Factor A (Var 2: a) con valores de 0 a 2		
Factor B (Var 3: b) con valores de 0 a 1		
* Datos AxB	Réplica 1	Réplica 2
-----	--	--
-----	--	--
-----	--	--
-----	--	--
-----	--	--
-----	--	--
-----	--	--
* Datos donde el Factor A corresponde al tratamiento a1		

Con la matriz simplificada, se procede al análisis estadístico por el método ANOVA que permite determinar la significancia o no de los tratamientos, por medio de la comparación de los valores Fisher (F) tanto teóricos como calculados. De esta forma se considera si es o no necesaria la realización del análisis de medias y el respectivo test estadístico.

**TABLA IV.- TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA**

<b>TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA</b>						
K Value	Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor F	Prob
-	Factor A	--	----	----	----	----
-	Factor B	--	----	----	----	----
-	AB	--	----	----	----	----
-	Error	--	----	----		
	Total	--	----	----		

TABLA V.- TABLA DE MEDIAS

TABLA DE MEDIAS				
	a	b	Medias	Total
-	0	-	----	----
-	1	-	----	----
-	-	0	----	----
-	-	1	----	----
-	-	2	----	----
-	0	0	----	----
-	0	1	----	----
-	0	2	----	----
-	1	0	----	----
-	1	1	----	----
-	1	2	----	----
Cuadrado medio del error = ----				
Grados de libertad del error = --				
Número de observaciones realizadas a las medias= --				
Coeficiente de variación ----				

TABLA VI.- TEST DE TUCKEY PARA ANÁLISIS DE MEDIAS DEL METAL FACTORIAL AxB

TEST DE SIGNIFICANCIA DE TUKEY											
s <sub>x</sub> = 1 y porcentaje de error = 0.050											
Orden original						Orden Rankeado					
-----	--	A				-----	--	A			
-----	--			C		-----	--		B		
-----	--		B			-----	--			C	
-----	--			C		-----	--			C	
-----	--				D	-----	--				D
-----	--					E	-----	--			E

Gracias a los tratamientos obtenidos en el test estadístico de Tuckey, se determinan los escenarios más idóneos en la complejación de metales pesados con los alcaloides de las aguas de desamargado. Estas condiciones son aplicadas a una muestra problema, con la cual se daría por finalizada la parte experimental.

# **CAPÍTULO 3**

### 3.- CÁLCULOS Y RESULTADOS

#### 3.1.- CÁLCULOS

##### 3.1.1.- Cálculos de la DBO y DQO del agua de desamargado del Chocho

Para establecer valores reales del nivel de contaminación de las aguas provenientes de los procesos de desamargado del chocho se utilizan las siguientes ecuaciones:

##### 3.1.1.1.- DQO

La Demanda Química de Oxígeno (DQO) permite determinar la concentración de oxígeno necesaria para oxidar tanto materia orgánica como inorgánica de una muestra de agua contaminada. Su cuantificación se la realiza a partir de la siguiente ecuación:

$$DQO_{\text{Parcial}} \text{ mg/l} = \frac{(\text{ml de Titul. Blanco} - \text{ml de Titul. Muestra}) \times \text{Normalidad FAS} \times 8000}{10 \text{ ml}}$$

$$DQO_{\text{Total}} = DQO_{\text{Parcial}} \times \text{Factor de dilución} \quad \text{Ec. (1)}$$

##### 3.1.1.2.- DBO<sub>5</sub>

La Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) determina la concentración de oxígeno necesaria para oxidar la materia orgánica de una muestra de agua contaminada. Por lo general, la relación entre la DBO y DQO es 1:2 en aguas residuales domésticas, en aguas con mayor carga orgánica, la DBO tiende a ser igual o a penas menor al de la DQO, mientras que en aguas de origen industrial la DBO será mínima. Su cuantificación se la realiza a partir de la siguiente ecuación:





### 3.1.3.- Cálculos de porcentajes de reducción mediante relación agua destilada-muestra tratada respecto a su codificación

Los porcentajes obtenidos son calculados a partir de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Reducción METAL} = \frac{[ ] \text{ inicial agua.bycz} - [ ] \text{ trat. axbycz}}{[ ] \text{ inicial agua.bycz}} \times 100 \text{ Ec (5)}$$

**Donde:**

- agua.bycz es; la concentración del metal sin tratamiento; a “y” concentración de metal y; “z” valor de pH;
- axbycz es; la concentración del metal aplicado el tratamiento a “x” concentración de alcaloide; “y” concentración de metal y; “z” valor de pH.

**Nota:**

La relación entre las concentraciones del metal con y sin tratamiento debe estar en plena concordancia tanto en el pH como en su concentración metálica.

### 3.1.4.- Análisis estadístico.

#### 3.1.4.1.- Análisis estadístico y mejor tratamiento en Cromo

Los datos obtenidos a partir de las mediciones de cromo con y sin tratamiento de alcaloides son importantes a la hora de determinar los porcentajes de reducción de metal. Véase Anexo 3.

Utilizando la Ec. (5) se logran obtener los porcentajes de reducción de cromo, por lo que la matriz de datos queda expresada de la siguiente manera:

TABLA VII.- PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE CROMO

% DE REDUCCIÓN DE CROMO TRAS PRECIPITACIÓN CON ALCALOIDES DEL CHOCHO		
MUESTRAS	RÉPLICA 1 %	RÉPLICA 2 %
a0b0c0	13	7
a0b0c1	17	10
a0b0c2	74	78
a0b1c0	18	18
a0b1c1	2	0
a0b1c2	41	43
a0b2c0	23	20
a0b2c1	33	33
a0b2c2	57	59
a1b0c0	7	13
a1b0c1	10	3
a1b0c2	41	41
a1b1c0	6	10
a1b1c1	33	29
a1b1c2	32	32
a1b2c0	9	6
a1b2c1	17	17
a1b2c2	23	23

Donde:

a = Tratamiento con alcaloide

a0 = 4,59 mg/l [ ] alcaloide

a1 = 1,24 mg/l [ ] alcaloide

b = [ ] del Metal

b0 = [ ]<sub>1</sub> Metal

b1 = [ ]<sub>2</sub> Metal

b2 = [ ]<sub>3</sub> Metal

c = Variación de pH

c0 = pH 4

c1 = pH 6

c2 = pH 8

Los porcentajes de reducción de Cromo varían considerablemente de un tratamiento a otro, teniendo valores entre 0 y el 80%. Los Mejores resultados de precipitación de metales con alcaloides ocurren a un pH de 8, debido principalmente a que tanto el alcaloide como el metal actúan mejor a condiciones alcalinas, baja concentración de metal y alta concentración de alcaloides; mientras que a pH ácidos, la disminución fue baja, en vista de que al modificación el pH de la solución pudo alterarse la naturaleza tanto del metal como del alcaloide.

#### 3.1.4.1.1.- Diseño experimental factorial AxB en Cromo

Como se analizó anteriormente, los tratamientos obtenidos a pH básico presentan los mayores porcentajes de reducción del metal, por ello es conveniente realizar una reducción de tratamientos. Tomando en cuenta que a pH ácido los porcentajes de reducción fueron bajos, se decide eliminar el factor C, por lo que la matriz de datos, en el caso del Cromo, queda estructurada de la siguiente manera:

TABLA VIII.- MATRIZ DE DATOS MÁS RELEVANTES EN LA REDUCCIÓN DE CROMO

<b>DISEÑO EXPERIMENTAL AxB</b>		
<b>Réplicas (Var 1: repeticiones) con valores de 0 a 1</b>		
<b>Factor A (Var 2: a) con valores de 0 a 1</b>		
<b>Factor B (Var 3: b) con valores de 0 a 2</b>		
<b>* Datos AxB</b>	<b>Réplica 1</b>	<b>Réplica 2</b>
<b>a0b0</b>	74	78
<b>a0b1</b>	41	43
<b>a0b2</b>	57	59
<b>a1b0</b>	41	41
<b>a1b1</b>	32	32
<b>a1b2</b>	23	23
<b>* Datos donde el Factor C corresponde al tratamiento c2</b>		

Los porcentajes de reducción de Cromo corresponden a los valores obtenidos a pH 8, mientras que los datos alcanzados a pH de 3 y 4,5 han sido eliminados por la baja efectividad de precipitar el metal. El reajuste de la matriz de tratamientos permite aumentar la confiabilidad del análisis estadístico. Utilizando el análisis de varianza ANOVA, se obtiene la siguiente tabla:

TABLA IX.- TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA CROMO FACTORIAL AxB

<b>TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA</b>						
<b>Valor K</b>	<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de Libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>Valor F</b>	<b>Prob</b>
2	<b>Factor A</b>	1	2133,333	2133,333	1066,6667	0
4	<b>Factor B</b>	2	1064,667	532,333	266,1667	0
6	<b>AB</b>	2	416,667	208,333	104,1667	0
7	<b>Error</b>	6	12	2		
	<b>Total</b>	11	3626,667			

Al analizar los valores F se determina que hay significancia entre los tratamientos, por ello se realiza un análisis de medias. Los valores obtenidos corresponden a las medias de cada uno de los tratamientos, teniendo en cuenta que tanto el factor A como el B deben estar en concordancia.

TABLA X.-TABLA DE MEDIAS CROMO FACTORIAL AxB

TABLA DE MEDIAS				
	a	b	Medias	Total
-	0	-	58,667	352,0
-	1	-	32,000	192,0
-	-	0	58,500	234,0
-	-	1	37,000	148,0
-	-	2	40,500	162,0
-	0	0	76,000	152,0
-	0	1	42,000	84,0
-	0	2	58,000	116,0
-	1	0	41,000	82,0
-	1	1	32,000	64,0
-	1	2	23,000	46,0
Cuadrado medio del error = 2.000				
Grados de libertad del error = 6				
Número de observaciones realizadas a las medias= 2				
Coeficiente de variación 3,12%				

TABLA XI.- TEST DE TUCKEY PARA ANÁLISIS DE MEDIAS CROMO FACTORIAL AxB

TEST DE SIGNIFICANCIA DE TUKEY											
s <sub>x</sub> = 1 y porcentaje de error = 0.050											
Orden original						Orden Rankeado					
a0b0c2	76	A				a0b0c2	76	A			
a0b1c2	42			C		a0b2c2	58		B		
a0b2c2	58		B			a0b1c2	42			C	
a1b0c2	41			C		a1b0c2	41			C	
a1b1c2	32				D	a1b1c2	32				D
a1b2c2	23					a1b2c2	23				E

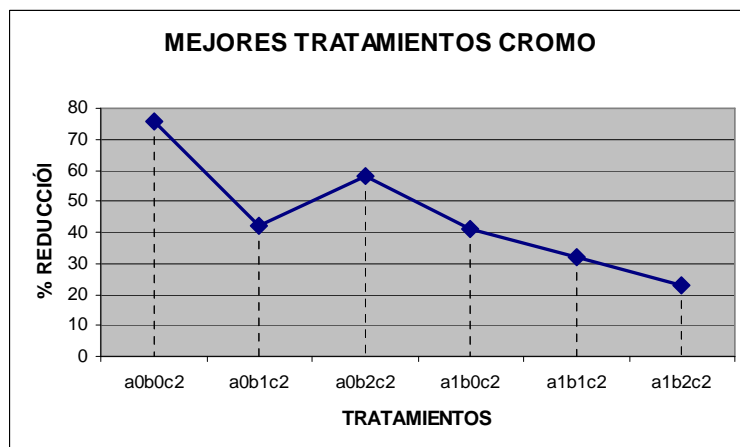
Por medio del test de Tuckey se determinó que el tratamiento a0b0c2 es el más adecuado. Para ello, las condiciones que propician una mayor formación de complejo estarían alrededor de 4,59 mg/ml de alcaloide, una concentración baja de metal y a pH 8; logrando reducirse el Cromo de los estándares en un 76 %.

TABLA XII.- MEJOR TRATAMIENTO DISEÑO EXPERIMENTAL AxBxC

MEJORES TRATAMIENTOS
a0b0c2

En la presente gráfica se observa los % de reducción del metal versus los tratamientos utilizados durante el análisis experimental, en donde el pico mayor corresponde al mejor tratamiento obtenido durante la parte experimental en el caso del Cromo.

**GRÁFICO 7.- PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE CROMO VS TRATAMIENTOS**



### 3.1.4.2.- Análisis estadístico y mejor tratamiento en Plomo

Utilizando la Ec. (5) se logran obtener los porcentajes de reducción de Plomo, por lo que la matriz de datos queda de la siguiente manera:

**TABLA XIII.- PORCENTAJES DE REDUCCIÓN DE PLOMO**

% DE REDUCCIÓN DE PLOMO TRAS PRECIPITACIÓN CON ALCALOIDES DEL CHOCHO		
MUESTRAS	RÉPLICA 1 %	RÉPLICA 2 %
a0b0c0	0	0
a0b0c1	0	0
a0b0c2	0	0
a0b1c0	15	15
a0b1c1	37	37
a0b1c2	59	61
a0b2c0	4	3
a0b2c1	2	3
a0b2c2	0	0
a1b0c0	33	33
a1b0c1	59	54
a1b0c2	0	0
a1b1c0	22	21
a1b1c1	89	90
a1b1c2	71	71
a1b2c0	87	87
a1b2c1	91	91
a1b2c2	73	75

**Donde:**

a = Tratamiento con alcaloide

a0 = 4,59 mg/l [ ] alcaloide

a1 = 1,24 mg/l [ ] alcaloide

b = [ ] del Metal

b0 = [ ]<sub>1</sub> Metal

b1 = [ ]<sub>2</sub> Metal

b2 = [ ]<sub>3</sub> Metal

c = variación de pH

c0 = pH 3

c1 = pH 4,5

c2 = pH 6

Como se muestra en el cuadro anterior, los datos obtenidos a partir de las mediciones de Plomo con y sin tratamiento de alcaloides son importantes a la hora de determinar los porcentajes de reducción de metal. Véase Anexo 3.

Según la Tabla XV se observa que los porcentajes de reducción de Plomo varían considerablemente de un tratamiento a otro, teniendo valores entre 0 y el 90%. Bajo condiciones neutras y alcalinas se producen inestabilidad en la solución del metal con lo que los valores obtenidos de estos tratamientos son bajos, mientras que a pH ácidos y ligeramente ácidos la reducción es altamente efectiva. Se observa además que a una concentración de 4,59 mg/ml de alcaloide, la reducción del Plomo es relativamente baja en comparación a los valores obtenidos con 1,24 mg/ml de alcaloide, esto se debe a que el alcaloide se consumiría minoritariamente en soluciones ácidas.

#### **3.1.4.2.1.- Diseño experimental factorial BxC en Plomo**

Como se analizó anteriormente, los tratamientos obtenidos a pH 3 y 4,5 presentan los mayores porcentajes de reducción del metal, por ello es conveniente realizar una reducción de tratamientos.

Tomando en cuenta que a pH 6 los porcentajes de reducción fueron relativamente bajos, se decide reducir de 3 a 2 el factor c, además los valores obtenidos con el factor a0 son bajos en comparación con los de a1, por consiguiente se elimina el factor a.

Tras reestructurar la matriz de datos con respecto a la medición de plomo, esta queda de la siguiente manera:

TABLA XIV.- MATRIZ DE DATOS MÁS RELEVANTES EN LA REDUCCIÓN DE PLOMO

<b>DISEÑO EXPERIMENTAL BxC</b>		
Réplicas (Var 1: repeticiones) con valores de 0 a 1		
Factor B (Var 2: a) con valores de 0 a 2		
Factor C (Var 3: b) con valores de 0 a 1		
* Datos BxC	Réplica 1	Réplica 2
b0c0	33	33
b0c1	59	54
b1c0	22	21
b1c1	89	90
b2c0	87	87
b2c1	91	91
* Datos donde el Factor A corresponde al tratamiento a1		

Los porcentajes de reducción de Plomo corresponden a los valores obtenidos a pH 3 y 4,5, mientras que los datos alcanzados a pH 6 y a una concentración de a0 equivalente a 4,59 mg/ml de alcaloide son eliminados de la matriz. Esta variación aumenta la confiabilidad del análisis estadístico.

Durante el análisis de varianza ANOVA, se obtiene la siguiente tabla:

TABLA XV.- TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA PLOMO FACTORIAL BxC

<b>TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA</b>						
Valor K	Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor F	Prob
2	Factor B	2	4261,167	2130,583	946,926	0
4	Factor C	1	3040,083	3040,083	1351,15	0
6	BC	2	2152,167	1076,083	478,259	0
7	Error	6	13,5	2,25		
	Total	11	9466,917			

Al analizar los valores F se determina que hay significancia entre los tratamientos, por ello se realiza un análisis de medias. Los valores obtenidos corresponden a las medias



de cada uno de los tratamientos, teniendo en cuenta que tanto el factor B como el C deben estar en concordancia.

**TABLA XVI.- TABLA DE MEDIAS PLOMO FACTORIAL BxC**

<b>TABLA DE MEDIAS</b>				
	<b>b</b>	<b>c</b>	<b>Medias</b>	<b>Total</b>
-	0	-	44,750	179,0
-	1	-	55,500	222,0
-	2	-	89,000	356,0
<hr/>				
-	-	0	47,167	283,0
-	-	1	79,000	474,0
<hr/>				
-	0	0	33,000	66,0
-	0	1	56,500	113,0
-	1	0	21,500	43,0
-	1	1	89,500	179,0
-	2	0	87,000	174,0
-	2	1	91,000	182,0
<hr/>				
<b>Cuadrado medio del error = 2.250</b>				
<b>Grados de libertad del error = 6</b>				
<b>Número de observaciones realizadas a las medias= 2</b>				
<b>Coefficiente de variación 2.38 %</b>				

**TABLA XVII.- TEST DE TUCKEY PARA ANÁLISIS DE MEDIAS PLOMO FACTORIAL**

<b>TEST DE SIGNIFICANCIA DE TUKEY</b>										
<b>s<sub>x</sub> = 1 y porcentaje de error = 0.050</b>										
<b>Orden original</b>					<b>Orden Rankeado</b>					
<b>a1b0c0</b>	33			<b>C</b>		<b>a1b2c1</b>	91	<b>A</b>		
<b>a1b0c1</b>	56,5		<b>B</b>			<b>a1b1c1</b>	89,5	<b>A</b>		
<b>a1b1c0</b>	21,5				<b>D</b>	<b>a1b2c0</b>	87	<b>A</b>		
<b>a1b1c1</b>	89,5	<b>A</b>				<b>a1b0c1</b>	56,5		<b>B</b>	
<b>a1b2c0</b>	87	<b>A</b>				<b>a1b0c0</b>	33			<b>C</b>
<b>a1b2c1</b>	91	<b>A</b>				<b>a1b1c0</b>	21,5			<b>D</b>

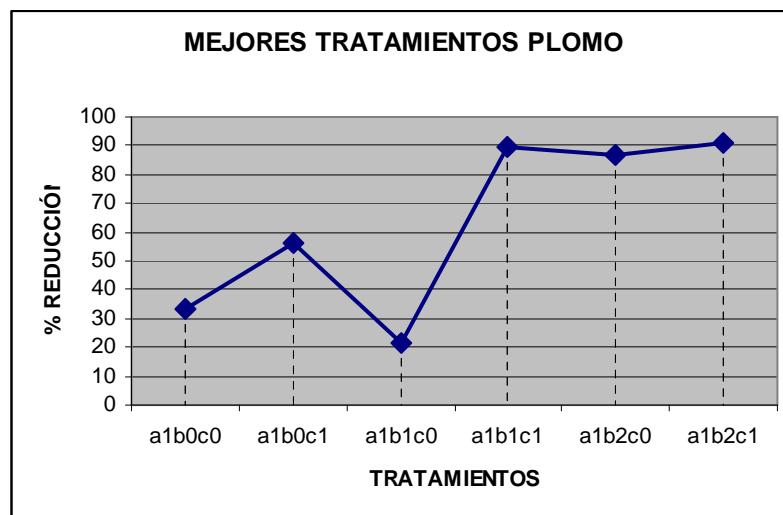
Por medio del test de Tuckey se determinó que los tratamientos a1b1c1, a1b2c0 y a1b2c1 son los mejores. Para ello, las condiciones que propician una mayor formación de complejo estarían alrededor de 1,24 mg/ml de alcaloide y un pH entre 3 y 4,5; logrando reducirse el plomo de los estándares en valores cercanos al 91 %.

TABLA XVIII.- MEJOR TRATAMIENTO DISEÑO EXPERIMENTAL AxBxC

MEJORES TRATAMIENTOS
a1b2c1
a1b1c1
a1b2c0

En el siguiente gráfico se observa los % de reducción del metal versus los tratamientos utilizados durante el análisis experimental, en donde los mayores picos corresponden a los mejores tratamientos obtenidos durante la parte experimental en el caso del plomo.

GRÁFICO 8.- PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE PLOMO VS TRATAMIENTOS



### 3.1.4.3.- Análisis estadístico y mejor tratamiento en Cadmio

Los datos obtenidos a partir de las mediciones de Cadmio con y sin tratamiento de alcaloides son importantes a la hora de determinar los porcentajes de reducción de metal. Véase Anexo 3.

Utilizando la Ec. (5) se logran obtener los porcentajes de reducción de cromo, por lo que la matriz de datos queda expresada de la siguiente manera:

TABLA XIX.- PORCENTAJES DE REDUCCIÓN DE CADMIO

MUESTRAS	RÉPLICA 1 %	RÉPLICA 2 %
a0b0c0	51	51
a0b0c1	69	69
a0b0c2	54	53
a0b1c0	69	70
a0b1c1	85	85
a0b1c2	46	45
a0b2c0	67	66
a0b2c1	63	64
a0b2c2	35	34
a1b0c0	34	33
a1b0c1	44	45
a1b0c2	41	42
a1b1c0	36	36
a1b1c1	58	57
a1b1c2	32	31
a1b2c0	37	37
a1b2c1	46	45
a1b2c2	31	31

Donde:

a = Tratamiento con alcaloide

a0 = 4,59 mg/l [ ] alcaloide

a1 = 1,24 mg/l [ ] alcaloide

b = [ ] del Metal

b0 = [ ]<sub>1</sub> Metal

b1 = [ ]<sub>2</sub> Metal

b2 = [ ]<sub>3</sub> Metal

c = Variación de pH

c0 = pH 4

c1 = pH 6

c2 = pH 8

Los porcentajes de reducción de Cadmio varían de un tratamiento a otro, teniendo valores entre el 30 y el 90%. Los Mejores resultados de precipitación de metales con alcaloides ocurren a pH de 4 y de 6, demostrando que el alcaloide y el metal tienden a reaccionar de mejor manera a condiciones ácidas ligeramente y ácidas; mientras que en medio alcalino, los alcaloides o la solución del metal pueden sufrir alteraciones, por lo que la reducción en este medio fue inferior a los otros. La mejor concentración de alcaloide fue de 4,59 mg/ml y del metal entre medio y alto, por lo que los mejores tratamientos se encuentran bajo estas condiciones.

### 3.1.4.3.1.- Diseño experimental factorial AxBxC en Cadmio

Como se analizó anteriormente, los tratamientos obtenidos a pH 4 y 6 presentan los mayores porcentajes de reducción del metal, debido a esto es conveniente realizar una reducción de tratamientos. Tomando en cuenta que a pH 8 los porcentajes de reducción fueron relativamente bajos, se decide reducir de 3 a 2 el factor C. Tras

reestructurar la matriz de datos con respecto a la medición de Cadmio, esta queda de la siguiente manera:

**TABLA XX.- MATRIZ DE DATOS MÁS RELEVANTES EN LA REDUCCIÓN DE CADMIO**

<b>DISEÑO EXPERIMENTAL AxBxC</b>		
Réplicas (Var 1: repeticiones) con valores de 0 a 1		
Factor A (Var 2: a) con valores de 0 a 1		
Factor B (Var 3: b) con valores de 0 a 2		
Factor C (Var 4: c) con valores de 0 a 1		
Datos AxBxC	Réplica 1	Réplica 2
a0b0c0	51	51
a0b0c1	69	69
a0b1c0	69	70
<b>a0b1c1</b>	<b>85</b>	<b>85</b>
a0b2c0	67	66
a0b2c1	63	64
a1b0c0	34	33
a1b0c1	44	45
a1b1c0	36	36
a1b1c1	58	57
a1b2c0	37	37
a1b2c1	46	45

Los porcentajes de reducción de Cadmio corresponden a los valores obtenidos a pH 4 y 6, mientras que los datos alcanzados a pH 8 son eliminados de la matriz. Esta variación aumenta la confiabilidad del análisis estadístico. Durante el análisis de varianza ANOVA se obtiene la siguiente tabla:

**TABLA XXI.- TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA CADMIO FACTORIAL AxBxC**

<b>TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA</b>						
Valor K	Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor F	Prob
2	<b>Factor A</b>	1	3775,0420	3775,042	12943,0000	0
4	<b>Factor B</b>	2	661,7500	330,875	1134,4286	0
6	<b>AB</b>	2	95,5830	47,792	163,8571	0
8	<b>Factor C</b>	1	852,0420	852,042	2921,2857	0
10	<b>AC</b>	1	18,3750	18,375	63,0000	0
12	<b>BC</b>	2	268,0830	134,042	459,5714	0
14	<b>ABC</b>	2	90,2500	45,125	154,7143	0
15	<b>Error</b>	12	3,5000	0,292		
	<b>Total</b>	23	5764,6250			

Al analizar los valores F se determina que hay significancia entre los tratamientos, por ello se realiza un análisis de medias. Los valores obtenidos corresponden a las medias de cada uno de los tratamientos, teniendo en cuenta que tanto el factor A, el factor B como el C deben estar en concordancia.

**TABLA XXII.- TABLA DE MEDIAS CADMIO FACTORIAL AxBxC**

<b>TABLA DE MEDIAS</b>					
	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>c</b>	<b>Medias</b>	<b>Total</b>
-	0	-	-	67,417	809,0
-	1	-	-	42,333	508,0
-	-	0	-	49,500	396,0
-	-	1	-	62,000	496,0
-	-	2	-	53,125	425,0
-	0	0	-	60,000	240,0
-	0	1	-	77,250	309,0
-	0	2	-	65,000	260,0
-	1	0	-	39,000	156,0
-	1	1	-	46,750	187,0
-	1	2	-	41,250	165,0
-	-	-	0	48,917	587,0
-	-	-	1	60,833	730,0
-	0	-	0	62,333	374,0
-	0	-	1	72,500	435,0
-	1	-	0	35,500	213,0
-	1	-	1	49,167	295,0
-	-	0	0	42,25	169
-	-	0	1	56,75	227
-	-	1	0	52,75	211
-	-	1	1	71,25	285
-	-	2	0	51,75	207
-	-	2	1	54,50	218
-	0	0	0	51,00	102
-	0	0	1	69,00	138
-	0	1	0	69,50	139
-	0	1	1	85,00	170
-	0	2	0	66,50	133
-	0	2	1	63,50	127
-	1	0	0	33,50	67

-	1	0	1	44,50	89
-	1	1	0	36,00	72
-	1	1	1	57,50	115
-	1	2	0	37,00	74
-	1	2	1	45,50	91
-	-	-	0	48,917	587,0
-	-	-	1	60,833	730,0
Cuadrado medio del error = 0.2920					
Grados de libertad del error = 12					
Número de observaciones realizadas a las medias= 2					
Coeficiente de variación 0.98 %					

TABLA XXIII.- TEST DE TUCKEY PARA ANÁLISIS DE MEDIAS CADMIO FACTORIAL AxByC

TEST DE SIGNIFICANCIA DE TUKEY									
s <sub>x</sub> = 0.3821 y porcentaje de error = 0.050									
Orden original									
a0b0c0	51,0						F		
a0b0c1	69,0		B						
a0b1c0	69,5		B						
a0b1c1	85,0	A							
a0b2c0	66,5			C					
a0b2c1	63,5				D				
a1b0c0	33,5								I
a1b0c1	44,5						G		
a1b1c0	36,0							H	
a1b1c1	57,5					E			
a1b2c0	37,0							H	
a1b2c1	45,5						G		
TEST DE SIGNIFICANCIA DE TUKEY									
s <sub>x</sub> = 0.3821 y porcentaje de error = 0.050									
Orden Rankeado									
a0b1c1	85	A							
a0b1c0	69,5		B						
a0b0c1	69		B						
a0b2c0	66,5			C					
a0b2c1	63,5				D				
a1b1c1	57,5					E			
a0b0c0	51						F		
a1b2c1	45,5							G	
a1b0c1	44,5							G	
a1b2c0	37								H
a1b1c0	36								H
a1b0c0	33,5								I

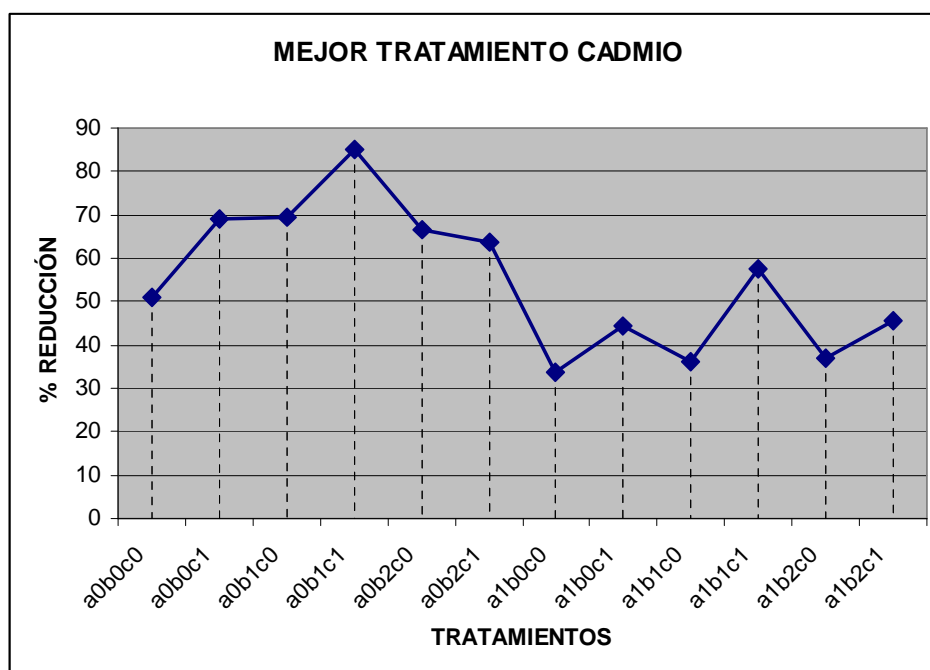
Por medio del test de Tuckey se determinó que el tratamiento a0b1c1 es el mejor. Para ello, las condiciones que propician una mayor formación de complejo estarían alrededor de 4,59 mg/ml de alcaloide y un pH de 4,5; logrando reducirse el Cadmio de los estándares en casi el 85 %.

**TABLA XXIV.- MEJOR TRATAMIENTO DISEÑO EXPERIMENTAL AxBxC**

MEJORES TRATAMIENTOS
a0b1c1

A continuación se observa los % de reducción del metal versus los tratamientos utilizados durante el análisis experimental, en donde el pico mayor corresponde al mejor tratamiento obtenido durante el experimento, que en este caso sería del cadmio.

**GRAFICO 9.- PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE CADMIO VS TRATAMIENTOS**



### 3.2.- RESULTADOS

#### 3.2.1- Análisis físico químico del agua de desamargado del chocho

Mediante el análisis físico-químico de las aguas de desamargado de chocho se pudo constatar que poseen alta carga contaminante, tanto la primera como la segunda muestra, estas a su vez presentan valores altos en lo referente a conductividad, turbiedad, DBO y DQO como se observa a continuación:

**TABLA XXV.- RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO AGUA DE DESAMARGADO**

PARÁMETRO	RESULTADOS	
	Agua Desamargado 1	Agua Desamargado 2
- Conductividad ( $\mu\text{s}$ )	1750	400
- pH	6.41	7.77
- Turbiedad (UNT)	142	190
- [ ] Alcaloide (mg/ml)	4.59	1.24
- DBO <sub>5</sub> (mg/l)	5100	
- DQO (mg/l)	10400	

Estos valores podrían estar alterados debido a que no se conoce a ciencia cierta que tipo de agua se utiliza en el proceso de desamargado, en este caso se utilizó agua entubada, por tanto los valores de la conductividad como DQO estarían afectados.

Como se indica en la Tabla XXV, durante los procesos de desamargado de chocho, la descarga más tóxica tiende a ser la del primer lavado debido a que los alcaloides están en mayor concentración que en la del segundo lavado, por ello, solamente la primera muestra es sometida al análisis de la DBO y DQO.

Según el TULAS (Libro VI Anexo 1 Capítulo 4, Tabla 11 y 12), Véase Anexo 3, los valores obtenidos de los análisis físico químicos del agua de desamargado 1



correspondería a una perturbación severa, por lo que es necesario su tratamiento o proceso de recuperación de contaminantes para lograr su disposición final, en este caso se la reutilizó en la complejación con metales pesados.

### 3.2.2.- Construcción de curvas de calibración de cada metal.

Para construir una curva de calibración de cada metal se necesitan al menos 5 datos obtenidos de mediciones con concentraciones conocidas de metal y un coeficiente de correlación cercano a 1.

#### 3.2.2.1.- Curva de de calibración de Cromo

Para la construcción de la curva de calibración de cromo, se procede a la preparación de 5 diferentes estándares con valores entre 0,01 y 0,09 ppm, proporcionándonos los siguientes resultados:

TABLA XXVI.- RESULTADOS CURVA DE CALIBRACIÓN CROMO

CURVA DE CALIBRACIÓN DE CROMO	
x	y
0,010	0,008
0,030	0,022
0,050	0,042
0,070	0,061
0,090	0,085

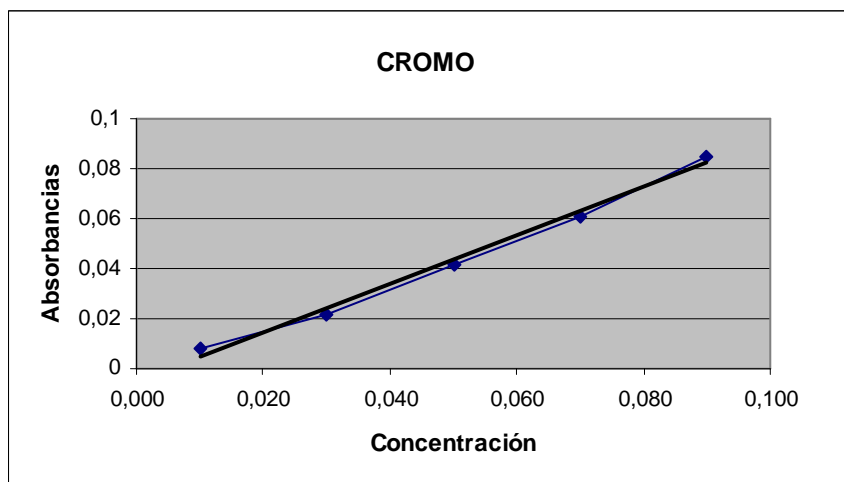
ECUACIÓN DE LA RECTA
$y = 0,965x - 0,0046$

COEF. DE CORRELACIÓN AL CUADRADO
$R^2 = 0,9925$

En este caso, los valores obtenidos a partir de la medición de los estándares de cromo en el Espectrofotómetro UV-Visible a 540 nm como se detalla anteriormente, se encuentra dentro del rango de confiabilidad, atribuido principalmente al coeficiente de correlación lineal elevado al cuadrado, que en este caso es de 0.9925. Con los valores obtenidos tanto de x como de y, se grafica la línea de tendencia como se observa a continuación:

**GRAFICO 10.- LINEA DE TENDENCIA Y CURVA DE CALIBRACIÓN CROMO**



### 3.2.2.2.- Curvas de calibración de Plomo

Para la construcción de la curva de calibración de plomo, se procede a la preparación de 5 diferentes estándares con valores entre 0,01 y 0,09 ppm, de los que se obtienen los siguientes resultados:

**TABLA XXVII.- RESULTADOS CURVA DE CALIBRACIÓN PLOMO**

<b>CURVA DE CALIBRACIÓN DE PLOMO</b>	
<b>x</b>	<b>y</b>
0,010	0,033
0,030	0,052
0,050	0,076
0,070	0,098
0,090	0,128

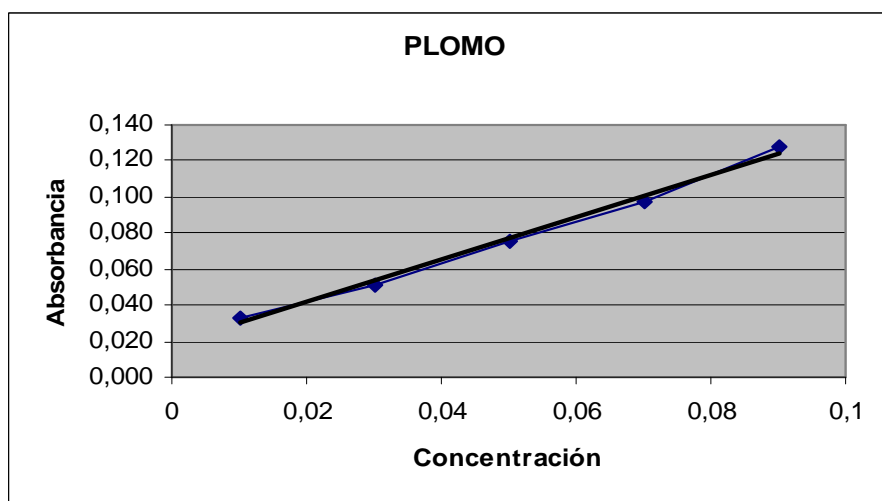
**ECUACIÓN DE LA RECTA**

$$y = 1,1825x + 0,0181$$

**COEF. DE CORRELACIÓN AL CUADRADO**

$$R^2 = 0,9935$$

Los valores obtenidos a partir de la medición de los estándares de plomo en el Espectrofotómetro UV-Visible a 525 nm como se detalla anteriormente, se encuentra dentro del rango de confiabilidad, atribuido principalmente al coeficiente de correlación lineal elevado al cuadrado, que en este caso es de 0.9935. Con los valores obtenidos tanto de x como de y, se grafica la línea de tendencia como se observa a continuación:

**GRAFICO 11.- LINEA DE TENDENCIA Y RECTA DE REGRESIÓN PLOMO****3.2.2.3.- Curvas de calibración de Cadmio**

Para la construcción de la curva de calibración de cadmio, se procede a la preparación de 5 diferentes estándares con valores entre 0,01 y 0,09 ppm, de los que se obtienen los siguientes resultados:

TABLA XXVIII.- RESULTADOS CURVA DE CALIBRACIÓN CADMIO

CURVA DE CALIBRACIÓN DE CADMIO	
x	y
0,01	0,024
0,03	0,041
0,05	0,071
0,07	0,088
0,09	0,118

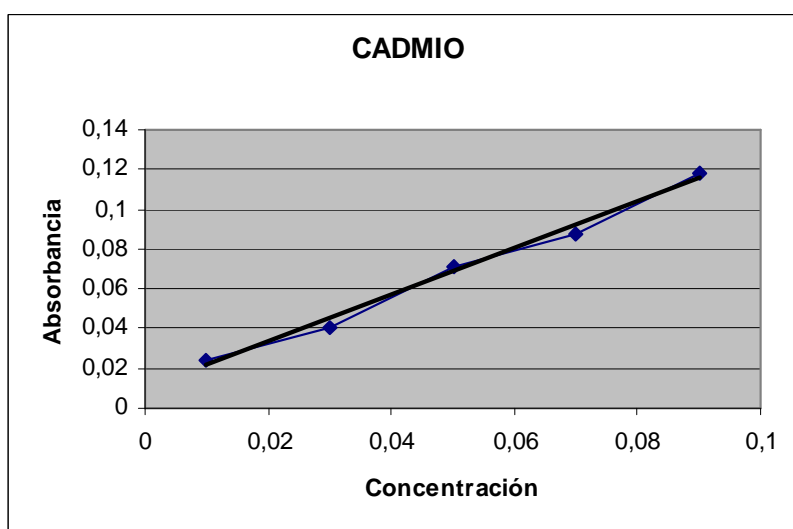
ECUACIÓN DE LA RECTA
$y = 1,175x + 0,0096$

COEF. DE CORRELACIÓN AL CUADRADO
$R^2 = 0,9909$

Los valores obtenidos a partir de la medición de los estándares de cadmio en el Espectrofotómetro UV-Visible a 526 nm como se detalla anteriormente, se encuentra dentro del rango de confiabilidad, atribuido principalmente al coeficiente de correlación lineal elevado al cuadrado, que en este caso es de 0.9909. Con los valores obtenidos tanto de x como de y, se grafica la línea de tendencia como se observa a continuación:

GRAFICO 12.- LINEA DE TENDENCIA Y RECTA DE REGRESIÓN CADMIO



### 3.3.- Mejores tratamientos obtenidos en los diseños experimentales.

Los resultados obtenidos muestran claramente las condiciones en las que se logró una mayor remoción de metal, cada metal muestra condiciones distintas y se detallan a continuación:

**TABLA XXIX.- CONDICIONES DE LOS MEJORES TRATAMIENTOS OBTENIDOS**

<b>CONDICIONES DEL MEJOR TRATAMIENTO</b>					
	<b>Código Mejor Tratamiento</b>	<b>[ ] Alcaloide mg/ml</b>	<b>[ ] Metal</b>	<b>pH</b>	<b>% Reducción</b>
<b>CROMO</b>	a0b0c2	4.59	Alta	8	76
<b>PLOMO</b>	a1b1c1	1.24	Media	4,5	89,5
	a1b2c0	1.24	Baja	3	87
	a1b2c1	1.24	Baja	4,5	91
<b>CADMIO</b>	a0b1c1	4.59	Media	4	85

Para precipitar metales con alcaloides, en el caso del cromo y del cadmio, la concentración del alcaloide debe ser alta, mientras que en el plomo lo óptimo es una baja concentración.

Con respecto al pH, el comportamiento es distinto, en el caso del plomo y cadmio se logró la formación del complejo a pH medianamente ácido, en el cromo fue en medio ligeramente básico, lo que demuestra que cada metal tiene un comportamiento distinto uno de otro.

### 3.4.- Resultados obtenidos al tratar una muestra problema.

Para el presente trabajo se utilizó una muestra de agua de formación de petróleo, con la cual se realiza el análisis de Plomo antes y después del tratamiento con alcaloides del chocho, obteniéndose los siguientes resultados:

TABLA XXX.- CONCENTRACIÓN DE PLOMO ANTES Y DESPUES DEL TRATAMIENTO

ANTES DE TRATAMIENTO	DESPÚES DE TRATAMIENTO
[ ] PLOMO ppm	[ ] PLOMO ppm
0,0349	0,0290
<b>REDUCCIÓN: 17 %</b>	

El porcentaje de reducción obtenido es del 17 %, mucho menor al porcentaje estimado, debido principalmente a la presencia de sales disueltas en la muestra de agua que puede interferir en la formación de complejos con metales pesados o alterar la naturaleza del alcaloide.

# CAPÍTULO 4

## 4.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1.- CONCLUSIONES

- Durante este estudio se demostró que los alcaloides presentes en las aguas de desamargado de Chocho forman complejos con metales como Cadmio, Plomo y Cromo, obteniendo valores superiores al 70% de reducción de los metales por reacciones de precipitación durante las pruebas de ensayo; y un 17 % de Plomo en una muestra de agua de formación de petróleo.
- Se logró contabilizar la presencia de alcaloides totales en las aguas de desamargado de chocho, siendo necesario realizar una caracterización físico-química de las dos muestras, proyectando los siguientes resultados:
  - Agua del Primer Lavado: [ ] Alcaloides Totales: 4,59 mg/ml; pH: 6,41; Conductividad: 1725  $\mu$ S; Turbiedad: 142 UNT; DQO: 10400 mg/l; y DBO: 5100 mg/l.
  - Agua del Segundo Lavado: [ ] Alcaloides Totales: 1.25 mg/ml; pH: 7,77; Conductividad: 400  $\mu$ S y Turbiedad: 190 UNT
- Los metales reaccionan con los alcaloides del chocho formando precipitados de color amarillo en el Cromo, y blanco en el Cadmio y Plomo, lo que afirma la hipótesis planteada.
- Durante el diseño experimental se comprobó que las mejores condiciones para formar complejos con el Plomo fueron a una concentración de 1,24 mg/ml de alcaloide y un pH entre 3 y 4,5, lográndose una remoción del Plomo cercana al 91



%; en el caso del Cadmio, las condiciones fueron a una concentración de 4,59 mg/ml de alcaloide y un pH de 4, lográndose remover el 85 % del Cadmio; En el Cromo, el mejor tratamiento se registró a una concentración de 4,59 mg/ml de alcaloide y a pH de 8, obteniéndose una remoción del 76 % de Cromo.

- El Plomo presente en una muestra de agua de formación de petróleo se reduce en un 17 % aplicando el mejor tratamiento obtenido del diseño experimental para este metal, lo que sugiere que existe interferencia por la matriz de la muestra y la interacción de los alcaloides con otros elementos.

#### 4.2.- RECOMENDACIONES

- La calidad del agua destilada incide en la obtención de datos experimentales, por lo que se recomienda utilizar agua destilada de calidad o en su defecto agua bidestilada.
  
- Para obtener una mayor confiabilidad en los datos obtenidos durante el desarrollo experimental es recomendable tomar en cuenta condiciones ambientales tales como la temperatura y velocidades de agitación, que incidirían en el proceso de complejión entre alcaloides y metales pesados.
  
- Los resultados obtenidos pueden utilizarse como punto de partida para el desarrollo de proyectos de remoción o recuperación de metales pesados, utilizando para esto diseños de plantas de tratamiento de agua.
  
- Se puede ampliar el presente estudio mediante el análisis experimental con otros metales pesados que podrían generar complejos con los alcaloides del chocho.
  
- En caso de que el tratamiento de los Metales Pesados con los Alcaloides del Chocho no obtenga un buen rendimiento, los alcaloides aportan con altos niveles de Nitrógeno, lo que favorecería al crecimiento bacteriano y de plantas acuáticas en proyectos de biorremediación y fitorremediación.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- (1) TROIANI, Rosa M. de. QUIMICA III: metabolitos secundarios. alcaloides. Argentina; Universidad Nacional de La Pampa. Facultad de Agronomía, s.f.
- (2) HIERBITAS.COM. Alcaloides.  
<http://www.hierbitas.com/principiosactivos/Alcaloides.htm>.  
2008-06-04.
- (3) HIERBITAS.COM. Alcaloides.  
<http://www.hierbitas.com/principiosactivos/Alcaloides.htm>.  
2008-06-04.
- (4) UNIVERSIDAD DE CHILE BIBLIOTECA DIGITAL, Alcaloides.  
[http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/ap/ciencias\\_quimicas\\_y\\_farmaceuticas/apbot-farm2c/evanswc01/31.html](http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/ap/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/apbot-farm2c/evanswc01/31.html). 2008-06-04.
- (5) WIKIPEDIA, Lupinus Mutabilis.  
[http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Lupinus\\_mutabilis&oldid=17865299](http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Lupinus_mutabilis&oldid=17865299).  
2008-06-04.
- (6) MANACORDA, A. CUADROS, D. Microbiología Ambiental.2005. (Documento)
- (7) PORTAL FARMA, Especies Vegetales con Posible Actividad Hipoglucemiante.  
[http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/voDocumentos/DF6B1758D92E61D2C1257003003FF378/\\$File/282\\_plantas.htm](http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/voDocumentos/DF6B1758D92E61D2C1257003003FF378/$File/282_plantas.htm).  
2008-06-04.

- (8) THIEL, I. Metales Pesados.  
<http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/MetalesPes.htm>.  
2008-06-04.
- (9) NORDBERG, G. Metales: propiedades químicas y toxicidad. ENCICLOPEDIA DE SALUD Y SEGURIDAD EN EL TRABAJO. Pp.63-10, 63-15, 63-39.  
[www.mtas.es/insht/EncOIT/pdf/tomo2/63.pdf](http://www.mtas.es/insht/EncOIT/pdf/tomo2/63.pdf).  
2008-02-12.
- (10) ECHARRI PRIM, L. Ciencias de la Tierra y del Medio Ambiente. España.  
[www.tecnun.es/Asignaturas/Ecologia/Hipertexto/11CAgu/120ProcC.htm.Naturales](http://www.tecnun.es/Asignaturas/Ecologia/Hipertexto/11CAgu/120ProcC.htm.Naturales) 2008-03-14.
- (11) AYORA, M. Reacciones de Formación de Complejos. España.  
[www.ujaen.es/mjayora/docencia\\_archivos/basesquimicas/tema2014.pdf](http://www.ujaen.es/mjayora/docencia_archivos/basesquimicas/tema2014.pdf).  
2008-03-14.
- (12) MONOGRAFIAS. Complejos Orgánicos de Metales Pesados. España.  
[www.apuntes.rincondelvago.com/complejos-organicos-de-metalespesados.html](http://www.apuntes.rincondelvago.com/complejos-organicos-de-metalespesados.html)  
2008-03-14.
- (13) MONOGRAFIAS. Complejos Orgánicos de Metales Pesados. España.  
[www.apuntes.rincondelvago.com/complejos-organicos-de-metalespesados.html](http://www.apuntes.rincondelvago.com/complejos-organicos-de-metalespesados.html)  
2008-03-14.

## BIBLIOGRAFÍA

### LIBROS Y REVISTAS

- APHA, AWWA, WPCF. Métodos Normalizados. para el análisis de aguas potables y residuales. 17<sup>ava</sup> ed. España: Días de Santos, 1992.
  
- MANACORDA, A. CUADROS, D. Microbiología Ambiental.2005. (Documento)
  
- TROIANI, Rosa M. de. QUIMICA III: metabolitos secundarios. alcaloides. Argentina; Universidad Nacional de La Pampa. Facultad de Agronomía, s.f.
  
- WHITTEN, K. Química General. 5<sup>ta</sup> ed. España: Mc Graw-Hill, 1998.

### TESIS

- JARRÍN, P. Tratamiento de Aguas de Desamargado de Chocho Proveniente de la Planta Piloto de la Estación Santa Catalina. INIAP. Tesis. Dra. Bioq-Farm. Riobamba. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia, 2003.
  
- PALACIOS J, ORTEGA R. Efecto del Tiempo de Remojo, Cocción y Lavado sobre el Contenido de Alcaloides y Proteína en Chocho (*Lupinus mutabilis* S). Tesis. Ing. en Alimentos. Ambato. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Escuela de Ingeniería en Alimentos. 2004.

**INTERNET**

- AYORA, M. Reacciones de Formación de Complejos. España.  
[www.ujaen.es/mjayora/docencia\\_archivos/basesquimicas/tema2014.pdf](http://www.ujaen.es/mjayora/docencia_archivos/basesquimicas/tema2014.pdf).  
2008-03-14.
  
- ECHARRI PRIM, L. Ciencias de la Tierra y del Medio Ambiente. España.  
[www.tecnun.es/Asignaturas/Ecologia/Hipertexto/11CAgu/120Proc.htm.Naturales](http://www.tecnun.es/Asignaturas/Ecologia/Hipertexto/11CAgu/120Proc.htm.Naturales)  
2008-03-14.
  
- HIERBITAS.COM. Alcaloides  
<http://www.hierbitas.com/principiosactivos/Alcaloides.htm>.  
2008-06-04.
  
- IMPACTO DE LOS RESIDUOS DE LAS TENERÍAS SOBRE EL MEDIO AMBIENTE Y LA SALUD HUMANA.  
[http://www.biologia.edu.ar/tesis/forcillo/pdf/impacto\\_de\\_los\\_residuos.pdf](http://www.biologia.edu.ar/tesis/forcillo/pdf/impacto_de_los_residuos.pdf).  
2008-03-14.
  
- LOOR, F, PÁEZ, M. Tratamiento de aguas: efluentes de curtiembres. Universidad Nacional de San Luis, Facultad Química, Bioquímica y Farmacia.  
[www.monografias.com/trabajos19/efluentes-curtiembres](http://www.monografias.com/trabajos19/efluentes-curtiembres). 2008-03-14.
  
- MONOGRAFIAS. Complejos Orgánicos de Metales Pesados. España.  
[www.apuntes.rincondelvago.com/complejos-organicos-de-metalespesados.html](http://www.apuntes.rincondelvago.com/complejos-organicos-de-metalespesados.html).  
2008-03-14.

- NORDBERG, G. Metales: propiedades químicas y toxicidad. ENCICLOPEDIA DE SALUD Y SEGURIDAD EN EL TRABAJO. Pp.63-10, 63-15, 63-39.  
[www.mtas.es/insht/EncOIT/pdf/tomo2/63.pdf](http://www.mtas.es/insht/EncOIT/pdf/tomo2/63.pdf).  
2008-02-12.
- PORTAL FARMA, Especies Vegetales con Posible Actividad Hipoglucemiante.  
[http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/voDocumentos/DF6B1758D92E61D2C1257003003FF378/\\$File/282\\_plantas.htm](http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/voDocumentos/DF6B1758D92E61D2C1257003003FF378/$File/282_plantas.htm).  
2008-06-04.
- SCHINITMAN, N. Metales Pesados, Ambiente y Salud. 2005.  
[www.ecoportal.net/content/view/full/37424](http://www.ecoportal.net/content/view/full/37424)  
2008-06-04.
- THIEL, I. Metales Pesados.  
<http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/MetalesPes.htm>.  
2008-06-04.
- UNIVERSIDAD DE CHILE BIBLIOTECA DIGITAL, Alcaloides.  
[http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/ap/ciencias\\_quimicas\\_y\\_farmaceuticas/apbot-farm2c/evanswc01/31.html](http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/ap/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/apbot-farm2c/evanswc01/31.html).  
2008-06-04.
- WIKIPEDIA, Lupinus Mutabilis.  
[http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Lupinus\\_mutabilis&oldid=17865299](http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Lupinus_mutabilis&oldid=17865299).  
2008-06-04.

# **ANEXOS**



## ANEXO 1.-

Tabla 1.1.- CLASIFICACIÓN DE LOS ALCALOIDES Y UBICACIÓN

I.- ALCALOIDES NO HETEROCÍCLICOS	
Hordenina o N-metil-tiramina	- En cebada germinada, <i>Hordeum distochon</i>
Mescalina, relacionada con la triptamina.	- <i>Lophophora williamsii</i> (Cactaceae)
Efedrina	- <i>Efedra</i> spp. (Ephedraceae)
Colchicina (núcleo de tropolona con nitrógeno en la cadena lateral)	- <i>Colchicum</i> spp. y géneros relacionados (Liliaceae)
Eritromicina (antibiótico)	- <i>Streptomyces erythreus</i> (Bacteriophyta, Actinomycetales)
Jurubina (esteroide con grupo 3-ameno)	- <i>Solanum paniculatum</i> (Solanaceae)
Paquisandrina A (esteroide con N en la cadena lateral C-17)	- <i>Pachysandra</i> terminales (Buxaceae)

II.- ALCALOIDES HETEROCÍCLICOS	
<b>1. PIRROL Y PIRROLIDINA</b>	
Higrinas	- <i>Coca</i> spp. (Erythroxylaceae); frecuentemente junto con alcaloides tropánicos de las Solanaceae
Estaquidrina	- <i>Stachys tubrifera</i> (Labiatae), semilla de soja y otras Leguminosae
<b>2. PIRROLIZIDINA</b>	
Sinfitina, equimidina	- <i>Symphytum</i> spp.
Senecionina, senecifilina, etc.	- <i>Senecio</i> spp.
<b>3. PIRIDINA Y PIPERIDINA</b>	
Trigonelina	- <i>Alholva</i> (Leguminosae), estrofanto (Apocinaceae), café (Rubiaceae)
Coniína o cicutina	- <i>Conium maculatum</i> (Umbelliferae)
Arecolina	- <i>Areca catechu</i> (Palmaceae)
Lobelina	- <i>Lobelia</i> spp. (Lobeliaceae)
Peletierina	- <i>Punica granatum, granado</i> (Punicaceae)
Nicotina (piridina + pirrolidina)	- <i>Nicotiana tabacum</i> y otras especies (Solanaceae)
Anabasina	- <i>Nicotiana glauca: Anabasis aphylla</i>
Piperina	- <i>Piper</i> spp. (Piperaceae)
Ricinina	- <i>Ricinus communis</i> (Euphorbiaceae)
<b>4. TROPANO (PIPERIDINA/N-METIL-PIRROLIDINA)</b>	
Hiosciamina, atropina, escopolamina, meteloidina, etc.	- Especies de <i>Atropa, Datura, Hyoscyamus, Duboisia, Mandragora</i> y <i>Scopolia</i> (Solanaceae)
Cocaína	- <i>Coca</i> spp. (Erythroxylaceae)
Seudopeletierina	- <i>Punica granatum</i> (Punicaceae)

## ANEXO 1.- (Continuación)

5. QUINOLEÍNA	
Quinina, quinidina, cinchonina, cinchonidina	- <i>Cinchona spp. (Rubiaceae), Remijia spp. (Rubiaceae)</i>
Cusparina	- Corteza de angostura o cusparia, <i>Galipea officinalis (Rutaceae)</i>
6. ISOQUINOLEÍNA	
Papaverina, narceína, narcotina	- <i>Papaver somniferum (Papaveraceae)</i>
Coridalina	- <i>Corydalis y Dicentra spp. (Papaveraceae)</i>
Hidrastina, berberina	- Numerosos géneros de las <i>Berberidaceae</i> , - <i>Ranunculaceae</i> y <i>Papaveraceae</i>
Tubocurarina	- Curare obtenido de <i>Menispermaceae</i>
Morfina, codeína	- <i>Papaver somniferum (Papaveraceae)</i>
7. APORFINA (ISOQUINOLEÍNA REDUCIDA-NAFTALENO)	
Boldina	- <i>Peumus boldus (Monimiaceae)</i>
8.- NOR-LUPINANO	
Esparteína, citisina, lupanina, laburnina	- Denominados a veces alcaloides lupínicos. Presentes sobre todo en <i>Leguminosae</i> , subfamilia <i>Papilionaceae</i> , por ejemplo retama, <i>Cytisus scoparius</i> ; retama de los tintoreros, <i>Genista tinetoria</i> : <i>Laburnum</i> y <i>Lupinus spp.</i>
9. INDOL O BENZOPIRROL	
Ergometrina, ergotamina	- <i>Claviceps spp. (Hipocreaceae)</i>
Amida del ácido lisérgico, alcaloides clavínicos	- <i>Rivea corymbosa, Ipomica violacea (Convolvulaceae)</i>
Fisostigmina	- <i>Physostigma venenosum (Leguminosae)</i>
Yohimbina, aspidospermina	- <i>Aspidosperma spp. (Apocynaceae)</i>
10. IMIDAZOL O GLIOXALINA	
Pilocarpina	- <i>Pilocarpus spp. (Rutaceae)</i>
11. PURINA (PIRIMIDINA/IMIDAZOL)	
Cafeína	- Té ( <i>Ternstroemiaceae</i> ), café ( <i>Rubiaceae</i> ), mate ( <i>Aquifoliaceae</i> ), guaraná ( <i>Sapindaceae</i> ), nuez de cola ( <i>Sterculiaceae</i> )
Teobromina	- <i>Cacao (Sterculiaceae)</i>
12. ESTEROIDES (ALGUNOS COMBINADOS AL ESTADO DE HETERÓSIDOS)	
Solanidina	- Brotes de la patata ( <i>Solanaceae, etc.</i> )
Esteres de alcanfor y sus heterósidos	- <i>Veratrum spp. y Schoenocaulon (Liliaceae)</i>
Funtumina	- <i>Funtumia elastica (Apocynaceae)</i>
13. TERPENOIDES	
Aconitina, atisina, lictonina, etc.	- <i>Aconitum y Delphinium spp. (Ranunculaceae)</i>

**ANEXO 2.-****2.1.- MATERIALES Y EQUIPOS****2.1.1.- Materiales**

- Vasos de precipitación de 50, 100, 250 y 500ml
- Tubos de ensayo
- Tubos de Centrífuga
- Probetas de 25, 50 y 100 ml
- Balones de aforación de 50, 100 y 1000 ml
- Balones de 250 ml
- Pipetas de 1, 5 y 10 ml
- Pipetas Volumétricas de 10 y 25 ml
- Micropipetas de 200 y 500 ul
- Buretas de 10 y 25 ml
- Matraces Erlenmeyers de 150, 250 y 500 ml
- Embudos
- Varillas de vidrio
- Frascos Weathon de 300 ml
- Refrigerantes de Bolas
- Soportes Universales
- Pinzas de Buretas
- Pinzas Universales
- Pinzas de buretas
- Papel filtro
- Gradillas
- Piseta
- Celda de Cuarzo de 10 mm

**2.1.2.- Reactivos**

- Ácido Sulfúrico 0.01 N
- Hidróxido de Sodio 0.01 N
- Reactivo de Drangendorff
- Óxido de Aluminio básico
- Solución de Hidróxido de Potasio al 15 %

**ANEXO 2.- (Continuación)**

- Cloroformo p.a
- Solución indicadora de Rojo de metilo
- Solución patrón de  $K_2Cr_2O_7$  0.0167 M
- Solución de  $H_2SO_4 + AgSO_4$
- Solución indicadora de ferroína
- Solución patrón de Sulfato ferroso amoniacal (FAS) 0.01M
- Solución patrón de Plomo (a base de  $Pb(NO_3)_4$ )
- Solución patrón de Cromo (a base de  $KCrO_4$  )
- Solución Patrón de Cadmio
- Solución de Cloruro de Calcio
- Solución de Cloruro de Magnesio
- Solución de Cloruro Férrico
- Buffer pH 7
- Solución de Azida Sódica
- Solución de Sulfato Manganoso
- Acido Sulfúrico concentrado
- Acido Nítrico p.a
- Amoniacó p.a
- Reactivo Cd 1
- Reactivo Cd 2 a base de N-N Dimetilformamida
- Reactivo Cd 3 a base de Tiourea
- Reactivo Pb 1 a base de Cianuro de Potasio
- Reactivo Pb 2 a base de Cloruro de Hidroxilamina
- Reactivo Cr 1 a base de Acido Sulfúrico – Agua
- Reactivo Cr 2 a base de Difenilcarbazida – Acetona
- Tiras indicadoras de pH
- Agua destilada

**2.1.3.- Equipos**

- Espectrofotómetro UV-visible Termo Espectronic Helios
- Colorímetro Nilton Roys
- Balanza analítica
- Balanza de precisión

**ANEXO 2.- (Continuación)**

- Phchimetro
- Conductímetro
- Turbidímetro
- Centrífuga
- Olla de presión
- Estufa
- Reverbero
- Termómetro

**2.2.- MÉTODOS****2.2.1- DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE ALCALOIDES DE CHOCHO  
MÉTODO ADOPTADO POR LA ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL.**

Se toma 0.2 ml de agua de desamargado de chocho, se agrega 0.6 g de óxido de aluminio básico, se mezcla bien y se añade 0.2 ml de KOH al 15 % y se agita hasta formar una pasta homogénea, luego se transfiere a tubos de centrifuga y se agrega 6 ml de Cloroformo p.a. Se agita hasta homogenización y se centrifuga por 2 minutos (entre 1500 y 3000 rpm).

Se recibe la fase clorofórmica en vasos perfectamente limpios provistos de embudos con algodón en la base del cono, repetir las extracciones por lo menos 10 veces, hasta que 1 ml del último extracto evaporado a sequedad en un vaso de 50 ml, suspendido en 4 o 5 gotas de ácido sulfúrico 0.01 N, de reacción negativa con 3 o 4 gotas de reactivo de Drangendorff.

Se recogen los lavados de todos los extractos, se evapora con calor suave sin llegar a sequedad, dejando en la etapa final 1 ml, que se desaparecerá rápidamente al enfriar en un recipiente con agua fría. Se agregan 5 ml de ácido sulfúrico 0.01 N, dos gotas de rojo de metilo y se titula el exceso de ácido con NaOH 0.01 N. El contenido de alcaloides se reporta como lupanina, considerando que:

1ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.01 N equivale a 2.48 mg de Lupanina.

**ANEXO 2.- (Continuación)****2.2.2- REQUERIMIENTO DE OXÍGENO QUÍMICO. (DQO)****MÉTODO DE REFLUJO ABIERTO (MÉTODOS NORMALIZADOS APHA, AWWA, WPCF. 5220 B)**

Se utiliza como una medida equivalente de oxígeno del contenido de materia orgánica de una muestra que es susceptible de oxidarse por un oxidante químico fuerte. El método de reflujo abierto es adecuado para una amplia gama de residuos.

**2.2.2.1.- Principio:**

La mayor parte de la materia orgánica resulta oxidada por una mezcla a ebullición del ácido crómico y sulfúrico. Se somete a reflujo una muestra en una solución ácida fuerte con un exceso conocido de dicromato de potasio. Después de la digestión el dicromato no reducido que queda se determina con FAS (sulfato ferroso amoniacal) para calcular la cantidad de dicromato consumido y calcular la materia orgánica oxidable en términos de equivalentes de oxígeno. El tiempo de reflujo es de 2 horas.

**2.2.2.2.- Materiales y equipos:**

- Equipo de reflujo
- Reverbero
- Balón de 250 ml
- Pipetas de 10 ml
- Solución patrón de dicromato de potasio 0.0167 M
- Reactivo de Ácido Sulfúrico añadido con Sulfato de Plata
- Solución indicadora de ferroína
- Solución patrón de Sulfato ferroso amoniacal (FAS) 0.01M

**2.2.2.3.- Procedimiento:**

- Determinar si es o no necesario realizar una dilución de muestra para evitar el consumo inmediato de dicromato de potasio en el reflujo por medio de un análisis sensorial y conductimétrico.
- En un balón de 250 ml añadir 10 ml de muestra problema y en otro balón 10 ml de agua pura (destilada o bidestilada).

## ANEXO 2.- (Continuación)

- A los balones preparados colocar 10 ml de  $K_2Cr_2O_7$  y con precaución añadir 14 ml de  $H_2SO_4+Ag_2SO_4$  a cada uno debido a que se produce una reacción exotérmica.
- Llevar al reflujo durante 2 horas, cumplido este tiempo dejar enfriar y añadir 50 ml de agua destilada.
- Titular tanto el blanco como la muestra con FAS utilizando la ferroína como solución indicadora hasta que la coloración final de la muestra sea de un tono marrón.
- Anotar los valores obtenidos y efectuar los cálculos respectivos.

### 2.2.2.4.- Cálculos:

$$DQO \text{ en } mgO_2/l = \frac{(\text{Blanco} - \text{muestra})ml \times \text{Molaridad}(FAS) \times 8000}{10ml}$$

#### Donde:

- ml de blanco = Mililitros de FAS gastados en la titulación con el agua destilada
- ml de muestra = Mililitros de FAS gastados en la titulación con la muestra.

### 2.2.3.- REQUERIMIENTO DE OXÍGENO BIOQUÍMICO ( DBO )

MÉTODO TITULOMÉTRICO (MÉTODOS NORMALIZADOS APHA, AWWA, WPCF. 4500 - O C).

#### 2.2.3.1.- Discusión general

Utilícese la modificación de azida para la mayoría de aguas residuales, diluyentes y muestras corrientes, especialmente si contienen más de  $50 \mu g NO_2 - N/l$  y no más de 1 mg de hierro ferroso/l. Deben estar ausentes otros agentes reductores u oxidantes. Si se añade 1 ml de solución KF antes de acidificar la muestra y no se retrasa la titulación, el método es aplicable en presencia de 100 a 200 mg de hierro férrico/l.

#### 2.2.3.2.- Reactivos

- **Solución de sulfato manganeso:** Disuélvanse 480 g de  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ , 400 g de  $MnSO_4 \cdot 2H_2O$  o 364 g de  $MnSO_4 \cdot H_2O$  en agua destilada, fíltrese y dilúyase a 1 l. La solución  $MnSO_4$  no debe dar color con almidón cuando se añade a una solución acidificada de yoduro potásico (KI).

**ANEXO 2.- (Continuación)**

- **Reactivo de álcali-yoduro-azida:** *Para muestras saturadas o menos que saturadas:* Disuélvase 500 g NaOH (o 700 g KOH) y 135 g NaI (o 150 g KI) en agua destilada y dilúyase a 1 l. Añádanse 10 g NaN<sub>3</sub> disueltos en 40 ml de agua destilada. Las sales de potasio y sodio pueden intercambiarse. Este reactivo no debe dar color con la solución de almidón cuando se diluya y acidifique. *Para muestras sobresaturadas:* Disuélvase 10 g NaN<sub>3</sub> en 500 ml de agua destilada. Añádanse 480 g de hidróxido de sodio (NaOH) y 750 g de yoduro de sodio (NaI), y agítese hasta disolución. Se producirá una turbidez blanca debida al carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), pero que no es perjudicial.
- **Ácido sulfúrico:** H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. 1 ml es equivalente a unos 3 ml de reactivo álcali-yoduro-azida.
- **Almidón:** Utilícese una solución acuosa o mezclas solubles de polvo de almidón. Para preparar una solución acuosa, disuélvase 2 g de almidón soluble calidad laboratorio y 0,2 g de ácido salicílico, como conservador, en 100 ml de agua destilada caliente.
- **Titulante de tiosulfato sódico patrón:** Disuélvase 6,205 g Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 5H<sub>2</sub>O en agua destilada. Añadir 1,5 ml de NaOH o 0,4 g de NaOH sólido y dilúyase a 1.000 ml. Estandarícese con solución de biyodato.
- **Solución patrón de biyodato potásico, 0,0021M:** Disuélvase 812,4 mg KH(IO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> en agua destilada y dilúyase a 1.000 ml.

**2.2.3.3.- Procedimiento**

A la muestra recogida en un frasco de 250 a 300 ml se añade 1 ml de solución MnSO<sub>4</sub>, y después 1 ml de reactivo álcali-yoduro-azida. Si se mojan las pipetas con la muestra, lávense antes de volver al frasco de reactivo. Alternativamente, manténgase la punta de la pipeta justo por encima de la superficie del líquido, al añadir los reactivos. Tápese con cuidado para excluir las burbujas de aire, y mézclese invirtiendo varias veces. Cuando el precipitado se ha depositado suficientemente (hasta aproximadamente al mitad del volumen del frasco), añádase 1,0 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc., para dejar un sobrenadante claro por encima del hidróxido de manganeso floculado. Vuélvase a tapar y mézclese invirtiendo varias veces hasta disolución completa. Titúlese con solución 0,025M de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> hasta color paja pálido.



## ANEXO 2.- (Continuación)

Añádanse unas gotas de solución de almidón y continúese valorando hasta la primera desaparición del color azul. Si se sobrepasa el punto final, valórese por retroceso con solución de biyodato 0,0021M añadido gota a gota, o por adición de un volumen medido de muestra tratada. Realícense las correcciones para la solución de biyodato o muestra.

### 2.2.3.4.- Cálculo

$$\frac{D}{B} \times \frac{m}{g} = \frac{(m_d - r_d - m_d) \times N}{2 \times m} \times N_{2S_2O_3 \times 8}$$

### 2.2.4.- DETERMINACIÓN DE pH

MÉTODO ELECTROMÉTRICO (MÉTODOS NORMALIZADOS APHA, AWWA, WPCF. 4500 - H<sup>+</sup> B).

#### 2.2.4.1.- Principios

La medida del pH es una de las pruebas más importantes y frecuentes utilizadas en el análisis químico del agua. Prácticamente todas las fases del tratamiento del agua para suministro y residual, como la neutralización ácido-base, suavizado, precipitación, coagulación, desinfección y control de la corrosión, dependen del pH. El pH se utiliza en las determinaciones de alcalinidad y dióxido de carbono y en muchos otros equilibrios ácido-base. A una temperatura determinada, la *intensidad* del carácter ácido o básico de una solución viene dada por la actividad del ión hidrógeno o pH. La alcalinidad y acidez son las capacidades neutralizantes de ácidos y bases de un agua, y normalmente se expresan como miligramos de CaCO<sub>3</sub> por litro. La capacidad tampón es la cantidad de ácido o base fuerte, normalmente expresada en moles de litro, necesaria para cambiar el valor del pH de 1 a 1 de muestra en 1 unidad. Sorenson, definió el pH como el -log [H<sup>+</sup>]; es el factor de <<intensidad>> o acidez. El agua pura está muy poco ionizada y en el equilibrio el producto iónico es:

$$[H^+] [OH^-] = K_w = 1,01 \times 10^{-14} \text{ a } 25 \text{ }^\circ\text{C}, \text{ y } [H^+] = [OH^-] = 1,005 \times 10^{-7}$$

**ANEXO 2.- (Continuación)****Donde:**

$[H^+]$	=	actividad de iones hidrógeno
$[OH^-]$	=	actividad de iones hidroxilo
$K_w$	=	producto iónico del agua

El uso del término pH supone que se está considerando la actividad del ión hidrógeno. La equivalencia *aproximada* con la molaridad,  $[H^+]$ , sólo se puede presumir en soluciones muy diluidas (fuerza iónica  $<0,1$ )

$$pH + pOH = pK_w$$

El principio básico de la determinación electrométrica del pH es la medida de la actividad de los iones hidrógeno por mediciones potenciométricas utilizando un electrodo patrón de hidrógeno y otro de referencia. El electrodo de hidrógeno consiste en un electrodo de platino por el que se pasan burbujas de hidrógeno gaseoso a una presión de 101 kPa.

Debido a la dificultad de utilizarlo y al potencial de intoxicación del electrodo de hidrógeno, se utiliza comúnmente el electrodo de vidrio. El pH de la muestra se determina por extrapolación. El instrumento para medir el pH se calibra potenciométricamente con un electrodo indicador (vidrio) y uno de referencia, utilizando los tampones del National Institute of Standards and Technology (NIST) de los Estados Unidos.

**2.2.4.2.- Interferencias:**

El electrodo de vidrio está relativamente libre de interferencias debidas al color, turbidez, materia coloidal o salinidad elevada. La temperatura afecta a la medida del pH de dos formas: efectos mecánicos producidos por cambios en las propiedades de los electrodos y efectos químicos causados por cambios de equilibrio. Dado que el equilibrio químico afecta al pH, los tampones patrón de pH tienen un pH específico a las temperaturas indicadas. Se debe indicar siempre a que temperatura se ha medido el pH.

## **ANEXO 2.- (Continuación)**

### **2.2.4.3.- Instrumental**

- Medidor de pH que conste de un potenciómetro, un electrodo de vidrio, un electrodo de referencia y un dispositivo para compensar la temperatura. El circuito se completa a través del potenciómetro cuando los electrodos se sumergen en la solución test. Muchos medidores de pH son capaces de medir pH o milivoltios y algunos tienen una expansión de escala que permite lecturas de hasta 0,001 unidades de pH, pero la mayoría de instrumentos nos son tan precisos.
- Electrodo de referencia consistente en media pila que suministra un potencial constante de electrodo. Normalmente se utilizan calomelanos y plata: electrodos de plata-cloruro.

### **2.2.5.- DETERMINACIÓN DE TURBIEDAD**

MÉTODO NEFELOMÉTRICO (MÉTODOS NORMALIZADOS APHA, AWWA, WPCF. 2130 B).

#### **2.2.5.1.- Principio:**

Este método se basa en la comparación de la intensidad de la luz dispersada por la muestra en condiciones definidas y la dispersada por una solución patrón de referencia en idénticas condiciones. Cuanto mayor es la intensidad de la luz dispersada, más intensa es la turbidez. Como suspensión patrón de turbidez de referencia se emplea el polímero formacina. Es fácil de preparar, y en cuanto a propiedades de dispersión de luz más reproducible que la arcilla o el agua turbia natural.

#### **2.2.5.2.- Interferencia:**

La turbidez puede determinarse en cualquier muestra de agua libre de residuos y privada de sedimentos gruesos. La suciedad del vidrio, la presencia de burbujas de aire y los efectos de las vibraciones que alteran la visibilidad superficial de la muestra, conducirán a resultados falsos. El color verdadero, es decir el color del agua debido a sustancias disueltas que absorben luz, origina que la turbidez sea más baja. Este efecto, por lo general, no resulta significativo en el caso de aguas tratadas.

## **ANEXO 2.- (Continuación)**

### **2.2.5.3.- Instrumental**

**2.2.5.3.1.- Turbidímetro:** consistente en un nefelómetro en una fuente de luz para iluminar la muestra, y uno o más detectores fotoeléctricos con un dispositivo de lectura exterior para indicar la intensidad de la luz dispersada a 90° de la vía de luz incidente. La sensibilidad del instrumento debería permitir la detección de diferencias de turbidez de 0,02 UNT o menos, en aguas con cifras de menos de 1 UNT, son margen entre 0 y 40 UNT.

**2.2.5.3.2.- Tubos de muestra de cristal incoloro, transparente:** Mantener los tubos escrupulosamente limpios, por dentro y por fuera, descartando los rayadas y manchados. No manejarlos cuando están bajo la luz. Utilícense de tipo extralargos con un estucho protector que facilite su manejo. Lléñense las muestras y los patrones después de agitación cuidadosa, dejando tiempo para que se eliminen las burbujas.

### **2.2.5.4.- Reactivos**

- Agua libre de turbidez
- Muestra

### **2.2.5.5.- Procedimiento**

Síganse las instrucciones del fabricante. A falta de una escala precalibrada, prepárense curvas de calibrado para cada margen del aparato. Utilizando estándares adecuados, compruébese la exactitud de cualquier escala de calibrado de que se disponga sobre un instrumento precalibrado. Verifíquese por lo menos un estándar en cada margen del aparato que se vaya a utilizar. Compruébese que el turbidímetro facilita lecturas estables en todos los márgenes de sensibilidad utilizados.

## **2.2.6.- DETERMINACIÓN DE CONDUCTIVIDAD**

MÉTODO DE LABORATORIO (MÉTODOS NORMALIZADOS APHA, AWWA, WPCF. 2510 D).

### **2.2.6.1.- Principio:**

Las mediciones de conductividad en laboratorios se utilizan para:

## ANEXO 2.- (Continuación)

- a) Establecer el grado de mineralización para determinar el efecto de la concentración total de iones sobre equilibrios químicos, efectos fisiológicos en plantas y animales, tasas de corrosión, etcétera.
- b) Determinar el grado de mineralización del agua destilada y desionizada.
- c) Evaluar las variaciones de la concentración de minerales disueltos en aguas naturales y residuales. La variación estacional mínima que se encuentra en las aguas embalsadas contrasta notablemente con las fluctuaciones diarias de algunas aguas de río contaminadas. Las aguas residuales que contienen cantidades significativas de desechos industriales muestran también una variación diaria considerable.
- d) Valorar el tamaño de la muestra que se vaya a utilizar para determinaciones químicas comunes y para investigar los resultados de un análisis químico.

### 2.2.6.2.- Instrumental

- **Instrumental de conductividad autocontenida:** Utilícese un dispositivo consistente en una fuente de corriente alterna, un puente de Wheatstone, un indicador de valor nulo y una célula de conductividad u otro instrumento que mida el índice de corriente alterna y su voltaje a través de la célula, teniendo este último la ventaja de proporcionar una lectura lineal de la conductividad. Elíjase un instrumento capaz de medir la conductividad con un error que no exceda el 1 por 100 o 1  $\mu\text{mho/cm}$ .
- **Termómetro:** Capaz de marcar hasta 0,1 °C cubriendo una amplitud de 23 a 27 °C. Por la rapidez de su respuesta, resulta conveniente emplear un termómetro eléctrico provisto de un pequeño sensor de temperatura.
- **Célula de conductividad:**

*Tipo electrodo de platino.-* Utilícese células de conductividad con electrodos hechos de platino para trabajos de laboratorio que requieren mayor precisión.

*Tipo electrodo no de platino.-* Utilícese células de conductividad con electrodos hechos de metales comunes duraderos (acero inoxidable entre otros) para monitorización continua y estudios de campo.

## ANEXO 2.- (Continuación)

### 2.2.6.3.- Reactivos

- Agua de conductividad
- Solución estándar de cloruro potásico, KCl, 0,0100M

### 2.2.6.4.- Procedimiento

- **Determinación de la constante de la célula:** Aclárese la célula de conductividad al menos con tres porciones de solución KCl 0,01M. Ajustese la temperatura de la cuarta porción a  $25,0 \pm 0,1$  °C, mídase su resistencia y anótese el valor térmico. Calcúlese la constante celular C.
- **Medición de la conductividad:** Aclárese la célula con una o más porciones de la muestra. Ajustese la temperatura de una última porción a  $25,0 \pm 0,1$  °C. Mídase la resistencia o conductividad de la muestra y anótese la temperatura.

### 2.2.7.- DETERMINACIÓN DE CROMO

METODO COLORIMÉTRICO MERCK (MANUAL MERCK COLORIMETRÍA. CROMO. DIFENIL CARBAZIDA)

En un matraz aforado de 50 ml. se tratan 30 ml. de la solución problema neutralizada previamente, y en la que el cromo ha de estar presente en forma de cromato (Cr VI), con 2 ml. de ácido sulfúrico y 1 ml. de solución de reactivo. En caso necesario se oxida el cromo trivalente con un poco de amonio peroxodisulfato. Se enrasa con agua hasta los 50 ml. y la solución (con una normalidad sulfúrica aproximada de 0,2 N) se mide a 540 nm. en cubetas de 1 cm. tomando agua como referencia.

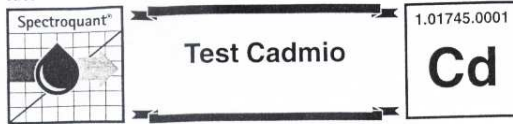
Interfieren  $\text{NO}_3^-$ , Ag, Al, Co, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn.

1. Solución de reactivos: Se disuelven 0,25 g. de difenilcarbazida p, análisis en 100 ml. de acetona p. análisis.
2. Ácido sulfúrico: Se añaden 57 ml. de ácido sulfúrico al 96% a 375 ml. de agua. La solución caliente es enfriada a temperatura ambiente después de haber añadido una gota de potasio permanganato 0,1 N.
3. Amonio peroxodisulfato p. análisis.

## 2.2.8.- DETERMINACIÓN DE CADMIO

### METODO ESPECTROFOTOMÉTRICO MERCK (SPECTROQUANT TEST CADMIO 1.01745.0001)

05/03



#### 1. Método

En solución alcalina los iones cadmio forman con un derivado de cadión (cadión = nombre usual de 1-(4-nitrofenil)-3-(4-fenilazofenil)triazeno) un complejo rojo que se determina fotométricamente.

#### 2. Intervalo de medida y número de determinaciones

Longitud de onda <sup>1)</sup> nm	Cubeta mm	Intervalo de medida mg/l de Cd	Número de determinaciones
526	50	0,002 - 0,100	55
	20	0,005 - 0,250	
	10	0,010 - 0,500	

<sup>1)</sup> Máximo de absorción; la longitud de onda memorizada en los fotómetros del sistema puede diferir de este valor.

#### 3. Campo de aplicaciones

El test determina solamente iones cadmio. Para la determinación de cadmio no disueltos o unidos en forma de complejo, es necesaria una disgregación de la muestra (ver apartado 6).

##### Material de las muestras:

Aguas subterráneas y superficiales  
Agua potable  
Aguas industriales  
El test **no** es adecuado para agua de mar.

#### 4. Influencia de sustancias extrañas

Ésta se comprobó en soluciones con 0,25 y con 0 mg/l de Cd. La determinación todavía no es interferida por las concentraciones de sustancias extrañas indicadas en la tabla.

Concentración de sustancias extrañas en mg/l o en %							
Al <sup>3+</sup>	25	Fe <sup>2+</sup>	1	Ni <sup>2+</sup>	0,1	NaCl	1 %
Ca <sup>2+</sup>	1000	Mg <sup>2+</sup>	1000	Pb <sup>2+</sup>	100	NaNO <sub>3</sub>	10 %
Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>2-</sup>	100	Mn <sup>2+</sup>	50	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	100	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 %
Cu <sup>2+</sup>	10	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	100	Zn <sup>2+</sup>	1		

#### 5. Reactivos y auxiliares

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

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

##### Contenido del envase:

1 frasco de reactivo Cd-1  
1 frasco de reactivo Cd-2  
1 frasco de reactivo Cd-3  
1 AutoSelector

##### Otros reactivos y accesorios:

Ácido nítrico 65 % para análisis, art. 1.00456.  
Spectroquant® Crack Set 10C, art. 1.14688.0001  
+ termorreactor  
Spectroquant® Crack Set 10, art. 1.14687.0001  
+ disgregador de microondas  
o + cubetas vacías con tapa roscada (25 unidades), art. 1.14724.0001  
+ termorreactor  
Varillas indicadoras universales pH 0 - 14, art. 1.09535.0001  
Sodio hidróxido en solución 1 mol/l, art. 1.09137.  
Ácido sulfúrico 0,5 mol/l, art. 1.09072.  
Cadmio - solución patrón CertiPUR®, 1000 mg/l de Cd, art. 1.19777.  
Pipetas para volúmenes de pipeteo de 0,20, de 1,0 y de 10 ml  
Cubetas rectangulares 10, 20 y 50 mm (2 unidades de cada tipo), art. 1.14946.0001, 1.14947.0001 y 1.14944.0001

#### 6. Preparación

- Analizar las muestras inmediatamente después de la toma de muestras. En otro caso conservar con ácido nítrico al 65 % (añadir 1 ml de ácido nítrico a 1 l de solución de la muestra).
- El cadmio no disuelto o unido en forma de complejo puede determinarse después de la preparación de la muestra con uno de los Crack Sets Spectroquant®.
- Las muestras con más de 0,5 mg/l de Cd deben diluirse con agua destilada antes de la disgregación.
- El valor del pH debe encontrarse en el intervalo 3 - 11  
Si es necesario, ajustar con solución de hidróxido sódico o con ácido sulfúrico.
- Filtrar las muestras turbias.

#### 7. Técnica

Reactivo Cd-1	1,0 ml	Pipetear en un tubo de ensayo.
Muestra preparada (10 - 40 °C)	10 ml	Añadir con pipeta y mezclar.
Reactivo Cd-2	0,20 ml	Añadir con pipeta y mezclar.
Reactivo Cd-3	1 microcuchara verde rasa (en la tapa del frasco Cd-3)	Añadir y agitar vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente.

Dejar en reposo 2 minutos (tiempo de reacción), luego introducir la muestra de medición en la cubeta y medir en el fotómetro.

##### Notas sobre la medición:

- Ciertos fotómetros exigen una muestra en blanco (preparación como la muestra de medición, pero con agua destilada en lugar de la muestra).
- Para la medición fotométrica las cubetas deben estar limpias. Si es necesario, limpiarlas con un paño seco y limpio.
- Las turbideces después de acabada la reacción dan como resultado valores falsamente elevados.
- El valor del pH de la solución de medición debe encontrarse en el intervalo 9,3 - 9,7.
- El color de la solución de medición permanece estable como mínimo 60 minutos después de transcurrido el tiempo de reacción antes indicado.

#### 8. Aseguramiento analítico de la calidad

El reconocimiento de los resultados de medición presupone la comprobación de que tiene lugar el aseguramiento analítico de la calidad (ATV M 704). Para comprobar el sistema fotométrico de medición (reactivos del test, dispositivo de medición, manipulación) y el modo de trabajo puede usarse una solución patrón de cadmio diluida de 0,250 mg/l de Cd. Mediante adición de patrón se pueden determinar las interferencias dependientes de la muestra (efectos de la matriz).

##### Datos característicos del procedimiento:

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

Desviación estándar del procedimiento	± 0,005 mg/l de Cd
Coefficiente de variación del procedimiento	± 1,90 %
Intervalo de confianza	± 0,012 mg/l de Cd
Número de lotes	1

Sensibilidad: 0,010 A (absorbancia) ± 0,007 mg/l de Cd (cubeta de 10 mm)  
0,001 mg/l de Cd (cubeta de 50 mm)

Exactitud de un valor de medición: máx. ± 0,001 mg/l de Cd (cubeta de 10 mm)

#### 9. Nota

Cerrar de nuevo inmediatamente los frascos tras la toma de los reactivos.

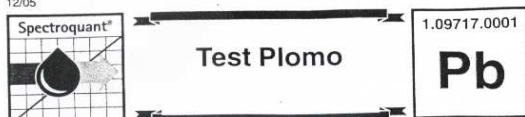
## ANEXO 2.- (Continuación)

### 2.2.8.- DETERMINACIÓN DE PLOMO

#### METODO ESPECTROFOTOMÉTRICO MERCK (SPECTROQUANT TEST PLOMO

1.09717.0001)

12/05



#### 1. Método

En solución alcalina los iones plomo(II) forman con 4-(2-piridilazo)-resorcina (PAR) un complejo rojo que se determina fotométricamente.

#### 2. Intervalo de medida y número de determinaciones

Cubeta mm	Intervalo de medida mg/l de Pb	Número de determinaciones
50	0,010 - 1,000	50
10	0,10 - 5,00	

Datos de programación para determinados fotómetros / espectrofotómetros, ver sitio web.

#### 3. Campo de aplicaciones

El test determina solamente iones plomo(II). Para la determinación del plomo no disuelto o unido en forma de complejo, es necesaria una disgregación de la muestra (ver apartado 6).

##### Material de las muestras:

Aguas subterráneas y superficiales  
Aguas potables y minerales  
Aguas industriales  
Aguas residuales y de infiltración  
Lodos de clarificación  
Suelos tras preparación apropiada de la muestra  
El test **no es adecuado** para agua de mar.

#### 4. Influencia de sustancias extrañas

Ésta se comprobó en soluciones con 2,5 y con 0 mg/l de Pb. La determinación todavía no es interferida por las concentraciones de sustancias extrañas indicadas en la tabla.

Concentración de sustancias extrañas en mg/l o en %					
Ag <sup>+</sup>	50	Fe <sup>3+</sup>	2	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	50
Al <sup>3+</sup>	500	Hg <sup>2+</sup>	50	Zn <sup>2+</sup>	25
Ca <sup>2+</sup>	250	Mg <sup>2+</sup>	250	EDTA	0,25
Cd <sup>2+</sup>	25	Mn <sup>2+</sup>	0,1	Tensioactivos <sup>1)</sup>	500
Cr <sup>3+</sup>	25	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1000	Na-acetato	20 %
Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>2-</sup>	10	Ni <sup>2+</sup>	100	NaCl	20 %
Cu <sup>2+</sup>	100	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	1000	NaNO <sub>3</sub>	5 %
				Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	15 %
				Dureza total	53,4 <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> ensayado con tensioactivos no iónicos, catiónicos y aniónicos

#### 5. Reactivos y auxiliares

**¡Tener en cuenta las advertencias de peligro que se encuentran en los diferentes componentes del envase! ¡Atención! ¡El reactivo Pb-1 contiene cianuro potásico!**

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

##### Contenido del envase:

1 frasco de reactivo Pb-1  
1 frasco de reactivo Pb-2  
1 AutoSelector

##### Otros reactivos y accesorios:

Ácido nítrico 65 % para análisis, art. 100456  
Spectroquant® Crack Set 10C, art. 1.14688.0001  
+ termorreactor

o

Spectroquant® Crack Set 10, art. 1.14687.0001  
+ cubetas vacías 16 mm con tapa roscada (25 unidades), art. 1.14724.0001  
+ termorreactor

Varillas indicadoras universales pH 0 - 14, art. 1.09535.0001  
Amoniaco en solución 25 % para análisis, art. 105432  
Ácido nítrico Titrisol® 1 mol/l, art. 1.09966.0001  
Plomo - solución patrón CertiPUR®, 1000 mg/l de Pb<sup>2+</sup>, art. 119776  
Pipetas para volúmenes de pipeteo de 0,50 y de 8,0 ml  
Cubetas rectangulares 10 y 50 mm (2 unidades de cada tipo), art. 1.14946.0001 y 1.14944.0001

#### 6. Preparación

- Analizar las muestras inmediatamente después de la toma de muestras. En otro caso conservar con ácido nítrico al 65 % (añadir 1 ml de ácido nítrico a 1 l de solución de la muestra).
- El plomo no disuelto o unido en forma de complejo puede determinarse después de la preparación de la muestra con uno de los Spectroquant® Crack Sets.
- Las muestras con más de 5 mg/l de Pb deben diluirse con agua destilada **antes** de la disgregación.
- El valor del pH debe encontrarse en el intervalo 3 - 6. Si es necesario, ajustar con solución diluida de amoníaco o con ácido nítrico.
- Filtrar las muestras turbias.

#### 7. Técnica

¡Atención! ¡El reactivo Pb-1 contiene cianuro potásico! ¡Observar estrictamente el orden de dosificación indicado!		
Reactivo Pb-1	0,50 ml	Pipetear en un tubo de ensayo.
Reactivo Pb-2	0,50 ml	Añadir con pipeta y mezclar.
Muestra preparada (10 - 40 °C)	8,0 ml	Añadir con pipeta y mezclar.
Introducir la muestra de medición en la cubeta y medir en el fotómetro.		

##### Notas sobre la medición:

- **Ciertos fotómetros exigen una muestra en blanco** (preparación como la muestra de medición, pero con agua destilada en lugar de la muestra).
- Para la medición fotométrica las cubetas deben estar limpias. Si es necesario, limpiarlas con un paño seco y limpio.
- Las turbideces después de acabada la reacción dan como resultado valores falsamente elevados.
- El valor del pH de la solución de medición debe encontrarse en el intervalo 8,0 - 8,3.
- El color de la solución de medición permanece estable como mínimo 60 minutos.

#### 8. Aseguramiento analítico de la calidad

El reconocimiento de los resultados de medición presupone la comprobación de que tiene lugar el aseguramiento analítico de la calidad (ATV A 704). Para comprobar el sistema fotométrico de medición (reactivos del test, dispositivo de medición, manipulación) y el modo de trabajo puede usarse una solución patrón de plomo diluida de 2,50 mg/l de Pb<sup>2+</sup>. Mediante adición de patrón se pueden determinar las interferencias dependientes de la muestra (efectos de la matriz).

##### Datos característicos de la calidad:

En el control de producción se determinaron los siguientes datos según ISO 8466-1 y DIN 38402 A51 (cubeta de 10 mm):

Desviación estándar del procedimiento (mg/l de Pb)	± 0,015
Coefficiente de variación del procedimiento (%)	± 0,60
Intervalo de confianza (mg/l de Pb)	± 0,04
Número de lotes	4

##### Datos característicos del procedimiento:

	Intervalo de medida mg/l de Pb	
	0,010 - 1,000	0,10 - 5,00
Sensibilidad: Absorbancia 0,010 A corresponde a (mg/l de Pb)	0,013	0,06
Exactitud de un valor de medición (mg/l de Pb)	máx. ± 0,025	máx. ± 0,13

Certificados de calidad y de lote para los tests Spectroquant®, ver sitio web.

#### 9. Notas

- Cerrar de nuevo inmediatamente los frascos tras la toma de los reactivos.
- **¡Los reactivos del test no deben ir a las aguas residuales!**  
La organización local de Merck o su suministrador le informará sobre la eliminación o el retorno de residuos.



## ANEXO 3.-

## 3.1.- VALORES EN PPM OBTENIDOS DE LOS TRATAMIENTOS DISEÑO EXPERIMENTAL AxBxC EN CROMO

TABLA 3.1.- MEDICIÓN DE LA CONCENTRACIÓN EN PPM DE CROMO A CADA MUESTRA

MUESTRAS	RÉPLICA 1	RÉPLICA 2
agua. b0.c0	73,500	73,500
agua. b0.c1	73,500	68,675
agua. b0.c2	136,225	131,400
agua. b1.c0	121,750	116,925
agua. b1.c1	112,100	107,275
agua. b1.c2	170,000	174,825
agua. b2.c0	170,000	170,000
agua. b2.c1	184,475	179,650
agua .b2.c2	227,900	227,900
a0b0c0	63,850	68,675
a0b0c1	59,025	63,850
a0b0c2	34,900	30,075
a0b1c0	97,625	97,625
a0b1c1	107,275	112,100
a0b1c2	102,450	97,625
a0b2c0	131,400	136,225
a0b2c1	121,750	121,750
a0b2c2	97,625	92,800
a1b0c0	68,675	63,850
a1b0c1	63,850	68,675
a1b0c2	78,325	78,325
a1b1c0	112,100	107,275
a1b1c1	73,500	78,325
a1b1c2	116,925	116,925
a1b2c0	155,525	160,350
a1b2c1	150,700	150,700
a1b2c2	174,825	174,825

## Donde:

- El factor **agua** representa a los valores obtenidos de la adición de agua destilada en vez de agua de desamargado.
- Los factores **a0 y a1** son los tratamientos con las aguas de desamargado chocho con concentraciones de 4.59 y 1.24 mg/ml de alcaloides totales respectivamente.
- El factor **b 0,1, 2** son las diferentes concentraciones de cromo en los que se dosificó el agua de desamargado.
- El factor **c 0,1, 2** son los tratamientos efectuados a pH 4, 6 y 8

## ANEXO 3.- (Continuación)

## 3.2.- Valores en ppm obtenidos de los tratamientos diseño experimental AxBxC en Plomo

TABLA 3.2.- MEDICIÓN DE LA CONCENTRACIÓN EN PPM DE PLOMO A CADA MUESTRA

MUESTRAS	RÉPLICA 1	RÉPLICA 2
agua. b0.c0	9,95	9,95
agua. b0.c1	10,42	10,42
agua. b0.c2	10,42	10,89
agua. b1.c0	32,04	32,04
agua. b1.c1	39,56	40,03
agua. b1.c2	24,05	24,52
agua. b2.c0	45,2	45,67
agua. b2.c1	45,67	46,14
agua .b2.c2	33,45	33,92
a0b0c0	10,89	10,89
a0b0c1	11,83	11,83
a0b0c2	11,36	11,83
a0b1c0	27,34	27,34
a0b1c1	24,99	24,99
a0b1c2	9,95	9,48
a0b2c0	43,79	44,26
a0b2c1	45,2	44,73
a0b2c2	34,39	34,86
a1b0c0	6,66	6,66
a1b0c1	4,31	4,78
a1b0c2	11,83	11,83
a1b1c0	24,99	25,46
a1b1c1	4,31	3,84
a1b1c2	7,13	7,13
a1b2c0	5,72	5,72
a1b2c1	4,31	4,31
a1b2c2	9,01	8,54

## Donde:

- El factor **agua** representa a los valores obtenidos de la adición de agua destilada en vez de agua de desamargado.
- Los factores **a0** y **a1** son los tratamientos con las aguas de desamargado chocho con concentraciones de 4.59 y 1.24 mg/ml de alcaloides totales respectivamente.
- El factor **b 0,1, 2** son las diferentes concentraciones de plomo en los que se dosificó el agua de desamargado.
- El factor **c 0,1, 2** son los tratamientos efectuados a pH 3, 4,5 y 6

## ANEXO 3.- (Continuación)

## 3.3.- Valores en ppm obtenidos de los tratamientos diseño experimental AxBxC en Cadmio

TABLA 3.3.- MEDICIÓN DE LA CONCENTRACIÓN EN PPM DE CADMIO A CADA MUESTRA

MUESTRAS	RÉPLICA 1	RÉPLICA 2
agua. b0.c0	429,88	429,88
agua. b0.c1	365,25	371,13
agua. b0.c2	518,00	518,00
agua. b1.c0	523,88	529,75
agua. b1.c1	617,88	623,75
agua. b1.c2	682,50	700,13
agua. b2.c0	600,25	606,13
agua. b2.c1	823,50	823,50
agua .b2.c2	882,25	882,25
a0b0c0	212,50	212,50
a0b0c1	112,63	112,63
a0b0c2	236,00	241,88
a0b1c0	165,50	159,63
a0b1c1	95,00	95,00
a0b1c2	371,13	382,88
a0b2c0	200,75	206,63
a0b2c1	300,63	294,75
a0b2c2	576,75	582,63
a1b0c0	283,00	288,88
a1b0c1	206,63	200,75
a1b0c2	306,50	300,63
a1b1c0	335,88	335,88
a1b1c1	259,50	265,38
a1b1c2	471,00	476,88
a1b2c0	382,88	382,88
a1b2c1	441,63	453,38
a1b2c2	606,13	612,00

Donde:

- El factor **agua** representa a los valores obtenidos de la adición de agua destilada en vez de agua de desamargado.
- Los factores **a0 y a1** son los tratamientos con las aguas de desamargado chocho con concentraciones de 4.59 y 1.24 mg/ml de alcaloides totales respectivamente.
- El factor **b 0,1, 2** son las diferentes concentraciones de cadmio en los que se dosificó el agua de desamargado.
- El factor **c 0,1, 2** son los tratamientos efectuados a pH 4, 6 y 8

### ANEXO 3.- (Continuación)

#### 3.1.- Sección textual del TULAS

#### 4.- Criterios generales para la descarga de efluentes

4.2.2.3 Toda descarga al sistema de alcantarillado deberá cumplir, al menos, con los valores establecidos a continuación:

**TABLA 11. Límites de descarga al sistema de alcantarillado público**

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Aceites y grasas	Sustancias solubles en hexano	mg/l	100
Alkil mercurio		mg/l	<b>No detectable</b>
Acidos o bases que puedan causar contaminación, sustancias explosivas o inflamables.		mg/l	Cero
Aluminio	Al	mg/l	5,0
Arsénico total	As	mg/l	0,1
Bario	Ba	mg/l	5,0
Cadmio	Cd	mg/l	0,02
Carbonatos	CO <sub>3</sub>	mg/l	0,1

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Caudal máximo		l/s	1.5 veces el caudal promedio horario del sistema de alcantarillado.
Cianuro total	CN <sup>-</sup>	mg/l	1,0
Cobalto total	Co	mg/l	0,5
Cobre	Cu	mg/l	1,0
Cloroformo	Extracto carbón cloroformo (ECC)	mg/l	0,1
Cloro Activo	Cl	mg/l	0,5
Cromo Hexavalente	Cr <sup>+6</sup>	mg/l	0,5
Compuestos fenólicos	Expresado como fenol	mg/l	0,2
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	D.B.O <sub>5</sub> .	mg/l	250

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Demanda Química de Oxígeno	D.Q.O.	mg/l	500
Dicloroetileno	Dicloroetileno	mg/l	1,0
Fósforo Total	P	mg/l	15
Hierro total	Fe	mg/l	25,0
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/l	20
Manganeso total	Mn	mg/l	10,0
Materia flotante	Visible		<b>Ausencia</b>
Mercurio (total)	Hg	mg/l	0,01
Níquel	Ni	mg/l	2,0
Nitrógeno Total Kjeldahl	N	mg/l	40
Plata	Ag	mg/l	0,5
Plomo	Pb	mg/l	0,5
Potencial de hidrógeno	pH		5-9
Sólidos Sedimentables		ml/l	20
Sólidos Suspendidos Totales		mg/l	220
Sólidos totales		mg/l	1 600
Selenio	Se	mg/l	0,5
Sulfatos	SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	mg/l	400
Sulfuros	S	mg/l	1,0

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Temperatura	°C		< 40
Tensoactivos	Sustancias activas al azul de metileno	mg/l	2,0
Tricloroetileno	Tricloroetileno	mg/l	1,0
Tetracloruro de carbono	Tetracloruro de carbono	mg/l	1,0
Sulfuro de carbono	Sulfuro de carbono	mg/l	1,0
Compuestos organoclorados (totales)	Concentración de organoclorados totales.	mg/l	0,05
Organofosforados y carbamatos (totales)	Concentración de organofosforado sy carbamatos totales.	mg/l	0,1
Vanadio	V	mg/l	5,0
Zinc	Zn	mg/l	10

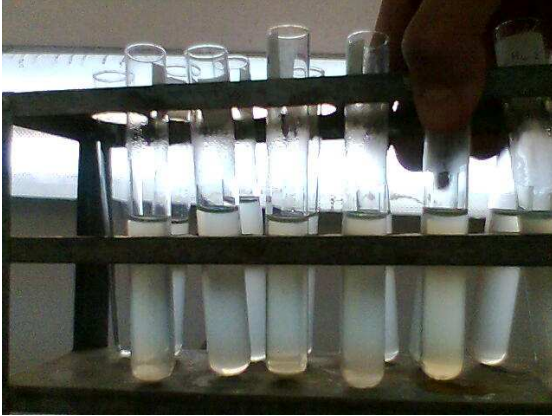
## ANEXO 3.- (Continuación)

TABLA 12. Factores indicativos de contaminación

<b>Factor de contaminación (Concentración presente/ valor de fondo)</b>	<b>Grado de perturbación.</b>	<b>Denominación</b>
< 1,5	0	Cero o perturbación insignificante
1,5 – 3,0	1	Perturbación evidente.
3,0 – 10,0	2	Perturbación severa.
> 10,0	3	Perturbación muy severa.

Los valores de fondo de mayor confiabilidad serán aquellos derivados de muestras a tomarse en aquellas partes inmediatas fuera del área bajo estudio, que se considere como no afectada por contaminación local. En el caso de ausencia total de valores de fondo de las áreas inmediatas fuera del área bajo estudio, se podrá obtener estos valores de estudios de áreas regionales o nacionales aplicables.

**ANEXO 4.-****4.1.- Imágenes de la extracción y cuantificación de Alcaloides****4.2.- Imágenes de la formación del precipitado Metal- Alcaloide**

**ANEXO 4.-****4.3.- Precipitado y centrifugación de la muestra tratada****4.2.- Generación de color y medición en el Espectrofotómetro UV-Visible**