

# BIOSORCIÓN DE COBRE – CANAL LOS ÁNGELES

Evaluación de la biosorción de cobre (Cu) mediante adsorbentes bacterianos provenientes del  
Canal Los Ángeles de la ciudad de Bogotá D.C.

Meyver Quiroga Velasco

Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD

Notas del Autor

Meyver Quiroga Velasco, Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente

ECAPMA, CEAD Vélez Santander

La correspondencia relacionada con esta investigación deberá ser enviada a: Meyver Quiroga

Velasco, Contacto: [meyverq@gmail.com](mailto:meyverq@gmail.com)

Evaluación de la biosorción de cobre (Cu) mediante adsorbentes bacterianos Canal Los Ángeles  
de la ciudad de Bogotá D.C.

Meyver Quiroga Velasco

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Ingeniero Ambiental

Asesor

Carlos Andrés Fajardo Gómez

MSc. Ciencias

Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD

Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente ECAPMA

Programa de Ingeniería Ambiental

Bogotá octubre de 2018

**Página de Constancia de Aprobación**

---

**Nota de Aceptación**

---

**Firma del presidente de jurado**

---

**Firma del jurado**

**Bogotá D.C. (octubre de 2018).**

## **Dedicatoria**

A la memoria de mis padres:

Jorge Alirio Quiroga Quiroga y Teresa Velasco Velasco.

.....

A mi hijo:

Juan Sebastián Quiroga Herreño.

La victoria no siempre es del más rápido y más fuerte... Eclesiastés 9:11

## **Agradecimientos**

*A Dios*, por darme fortaleza, apoyo y sabiduría sobre todo en los momentos más difíciles, en los instantes en donde a veces se pierde el rumbo y las metas parecen inalcanzables.

*A Yesid Quiroga Velasco*, mi hermano por ayudarme de forma incondicional, por no permitir que desfalleciera en el logro de este objetivo, por ser la persona que siempre estuvo ahí cuando más necesité del apoyo de alguien.

*A Everth Armando Jiménez Galeano*, por darme luces en la concepción del tema investigativo.

*A Carlos Andrés Fajardo Gómez*, mi director de tesis, por dirigir con paciencia y rigor académico la investigación de forma que se cumpliera a cabalidad con los objetivos propuestos.

*A la familia UNAD*, por darme la oportunidad de emprender este gran reto, porque gracias a su metodología incluyente se puede llevar la universidad a más hogares colombianos y mediante el sacrificio personal cumplir los sueños.

*A Emilse Flórez Ruiz*, por su acompañamiento, ayuda y comprensión.

**Tabla de contenido**

	Página
Lista de Tablas .....	8
Lista de Figuras .....	9
Lista de Anexos.....	10
Glosario.....	11
Resumen.....	16
Introducción.....	18
1. El Problema.....	21
1.1 Línea de Investigación .....	21
1.2 Formulación del Problema .....	21
1.3 Objetivos .....	21
1.3.1 Objetivo General.....	21
1.3.2. Objetivos Específicos .....	21
2. Marco Referencial.....	22
2.1 Marco Conceptual y Teórico.....	22
2.1.1 Contaminación del afluente Canal Los Ángeles.....	22
2.1.2 Posibles fuentes contaminantes. ....	24
2.1.3 Los metales pesados en las aguas residuales industriales.....	26
2.1.4 Evaluación de la calidad de agua en el humedal Jaboque .....	28
2.1.5 Afectación ambiental por vertimiento de metales pesados en el Canal Los Ángeles. 30	
2.1.5.1 Afectación ambiental de la contaminación por cobre.....	31
2.1.5.2 Biosorción de metales pesados en aguas residuales .....	33
2.1.5.3 Biosorción de cobre mediante adsorbentes bacterianos.....	36
2.2 Marco Normativo .....	38
2.2.1 Normativa del recurso hídrico .....	38
3. Metodología .....	42
3.1 Ubicación .....	42
3.2 Diseño de la Investigación .....	42

3.3	Identificación de Puntos Críticos .....	43
3.3.1	Identificación zona de estudio .....	43
3.3.2	Tramos .....	44
3.4	Medición de Concentración de cobre (Cu) .....	45
3.4.1	Tiras reactivas factor simple.....	45
3.4.2	Comprobación efectividad de las tiras en laboratorio .....	47
3.4.3	Toma de muestras de agua residual del canal. ....	47
3.4.4	Medición de concentración de cobre mediante el colorímetro.....	48
3.5	Aislamiento de las Cepas Bacterianas.....	49
3.5.1	Medio de cultivo sólido (LB) .....	49
3.5.1.1	Inoculación en medio sólido .....	51
3.5.2	Medio de cultivo líquido (LB).....	52
3.5.2.1	Inoculación en medio líquido.....	52
3.6	Tinción Gram .....	52
3.7	Prueba de Resistencia de las Cepas Bacterianas .....	54
3.7.1	Medición de absorbancia .....	55
3.8	Prueba de Biosorción de Cobre Mediante las Cepas Bacterianas .....	57
3.8.1	Con biomasa viva .....	57
3.8.2	Con biomasa muerta .....	57
3.9	Flujograma Metodológico del Proyecto.....	59
4.	Análisis de Resultados Obtenidos.....	60
4.1	Resultado Concentración de Cobre, pH y Conductividad.....	60
4.1.1	Resultado tiras reactivas factor simple .....	60
4.2	Tinción Gram .....	61
4.3	Absorbancia.....	61
4.4	Prueba de Biosorción de Cobre con Biomasa Viva .....	63
4.5	Prueba de Biosorción con Biomasa Muerta .....	65
5.	Conclusiones y Recomendaciones .....	69
	Referencias Bibliográficas .....	71
	Anexos .....	73

**Lista de Tablas**

	Página
Tabla 1. Límites de concentración .....	28
Tabla 2. Materiales biosorbentes .....	35
Tabla 3. Medio de cultivo sólido LB (caldo de Luria Bertani).....	50
Tabla 4. Resultados pH, conductividad y concentración de cobre .....	60
Tabla 5. Resultado en microscopio de los tipos de bacterias.....	61
Tabla 6. Absorbancia de las muestras a distintas concentraciones .....	62
Tabla 7. Medición de concentración de cobre de las cepas bacterianas más resistentes .....	63
Tabla 8. Resultado prueba biosorción de cobre con biomasa muerta.....	65
Tabla 9. Análisis de varianza .....	67

## Lista de Figuras

	Página
<i>Figura 1.</i> Mancha azul en el humedal Jaboque	Fuente: Daniel Bernal 2016..... 23
<i>Figura 2.</i> Tingua pico rojo manchada de tinta azul	Fuente: Daniel Bernal 2016..... 24
<i>Figura 3.</i> Vertimientos industriales - humedal Jaboque	Fuente: Daniel Bernal 2016..... 31
<i>Figura 4.</i> Contaminación por sulfato de cobre - Río Sonora México	Foto/Cuartoscuro 2015 .. 33
<i>Figura 5.</i> Trayecto Canal los Ángeles	Fuente: Google Maps.....42
<i>Figura 6.</i> Recorrido inicial - 2,17 Km	Fuente: Google Maps ..... 44
<i>Figura 7.</i> Puntos de inicio y final del Canal los Ángeles - Bogotá	Fuente: El autor... 45
<i>Figura 8.</i> Tubo y escala colorimétrica	Fuente: El autor.....46
<i>Figura 9.</i> Evaluación de presencia de cobre mediante tiras reactivas	Fuente: El autor ..... 46
<i>Figura 10.</i> Prueba en laboratorio de las tiras reactivas	Fuente: El autor..... 47
<i>Figura 11.</i> Toma de muestras de agua residual del Canal los Ángeles	Fuente: El autor ..... 47
<i>Figura 12.</i> Reactivo cobre alto rango y colorímetro	Fuente: El autor.... 48
<i>Figura 13.</i> Puntos de muestreo (5)	Fuente: Google Maps.... 49
<i>Figura 14.</i> Componentes medio de cultivo sólido y pesaje	Fuente: El autor .... 50
<i>Figura 15.</i> Medio de cultivo sólido y esterilización en autoclave	Fuente: El autor 50
<i>Figura 16.</i> Fusión medio de cultivo sólido y cajas Petri esterilizadas	Fuente: El autor..... 51
<i>Figura 17.</i> Inoculación en medio sólido	Fuente: El autor .. 51
<i>Figura 18.</i> Inoculación en medio líquido, incubación a 37°C por 24 horas	Fuente: El autor ... 52
<i>Figura 19.</i> Protocolo para la coloración de Gram	Fuente: El autor..... 52
<i>Figura 20.</i> Vista de bacterias al microscopio - objetivo de 100x	Fuente: El autor .. 53
<i>Figura 21.</i> Preparación y esterilización medio de cultivo líquido	Fuente: El autor ..... 54
<i>Figura 22.</i> Preparación muestras prueba de resistencia	Fuente: El autor... 54
<i>Figura 23.</i> Agitador orbital	Fuente: El autor.....55
<i>Figura 24.</i> Medición absorbancia mediante espectrofotómetro	Fuente: El autor .... 55
<i>Figura 25.</i> Inoculación en medio líquido por triplicado	Fuente: El autor .... 57
<i>Figura 26.</i> Deseccación muestras en horno MEMMERT	Fuente: El autor ..... 58
<i>Figura 27.</i> Diagrama de flujo del proyecto	Fuente: El autor.. 59
<i>Figura 28.</i> Absorbancia de las muestras a 400 ppm	Fuente: El autor ... 62
<i>Figura 29.</i> Prueba de biosorción de cobre con biomasa viva	Fuente: El autor ..... 64
<i>Figura 30.</i> Prueba de biosorción de cobre con biomasa muerta	Fuente: El autor ... 66
<i>Figura 31.</i> Diferencia de las medias para ABCAC	Fuente: El autor..... 68
<i>Figura 32.</i> Agrupaciones de las medias de las áreas bajo la curva de adsorción de Cu <sup>+2</sup>	..... 68

**Lista de Anexos**

	Página
Anexo A 1. Especificaciones técnicas tiras reactivas ANSAM.....	73
Anexo A 2. Instrucciones de uso tiras reactivas factor simple parámetro cobre.....	74
Anexo A 3. Cotización Soluciones Técnicas Hidráulicas Soltech Ltda.....	75
Anexo B 1. Protocolo de colorímetro para medición de concentración de cobre HI 93702.....	76
Anexo C 1. Cálculos para preparar 300 ml solución medio de cultivo sólido LB.....	77
Anexo D 1. Análisis estadístico de la varianza ANOVA.....	77

## Glosario

**Acueducto:** Conducto para transportar agua, generalmente en grandes cantidades para abastecer a una población.

**Adsorbente:** Se refiere a un cuerpo que tiene la capacidad de retener sobre su superficie un componente presente en corrientes líquidas o gaseosas.

**Adsorción:** Fenómeno mediante el cual un sólido o líquido atrae y retiene en su superficie gases, vapores, líquidos o cuerpos disueltos. Atracción y retención que realiza un cuerpo en su superficie ya sea de iones, átomos o moléculas que pertenecen a un cuerpo diferente.

**Afluente:** Arroyo o río secundario que lleva sus aguas a otro mayor o principal, cuerpo de agua cuya desembocadura no se produce en el mar, sino que lo hace en un río superior o de mayor importancia.

**Agar:** Sirve como medio de cultivo para el desarrollo de hongos y bacterias, cuando se disuelve en agua a alta temperatura y luego se enfría adquiere consistencia de gelatina. Es un elemento solidificante empleado para la preparación de medios de cultivo.

**Aguas lluvias:** Agua que cae en forma líquida desde las nubes, las cuales se forman por condensación del vapor de agua.

**Aguas residuales domésticas:** Desechos líquidos provenientes de la actividad doméstica en residencias, edificios e instituciones.

**Aguas residuales industriales:** Desechos líquidos provenientes de las actividades industriales.

**Aguas residuales:** Desechos líquidos provenientes de residencias, edificios, instituciones, fábricas o industrias.

**Aliviadero:** Estructura diseñada en colectores combinados con el propósito de separar los caudales que exceden la capacidad del sistema, para conducirlos a un sistema de drenaje de agua lluvia.

**Análisis estadístico:** Componente del análisis de datos, cuyo objetivo final es inferir estadísticamente algo sobre la población o sacar una conclusión que caracteriza la población.

**Arcillas:** Suelos que al estar mojados parecen barro y son de contextura chiclosa, al secarse se endurecen formando terrones y en algunos casos se agrietan. Masa blanda y compacta de tierra y agua.

**Asa:** Instrumento de laboratorio que consta de una base hecha de platino, acero, aluminio y un filamento que puede ser de nicromo, tungsteno o platino que termina en un aro de 5 mm o en punta.

**Asepsia:** Ausencia de gérmenes que puedan provocar contaminación biológica.

**Bacteria:** Organismo microscópico unicelular, carente de núcleo, se multiplica por división celular sencilla o por esporas.

**Biosorbente:** Se refiere a la biomasa viva o muerta, microorganismos, bacterias u organismos cultivados y que pueden realizar la tarea específica de adsorción.

**Biosorción:** Se refiere a la técnica de adsorción de metales pesados llevada a cabo por una biomasa (viva o muerta), en este caso utilizando adsorbentes bacterianos. Es una tecnología emergente en la cual los materiales biológicos son usados como medio de intercambio iónico.

**Caja Petri:** Recipiente redondo de cristal o plástico, con una cubierta de la misma forma que la placa, pero algo más grande de diámetro que permite cerrar el recipiente.

**Canal:** Conducto artificial por donde se conduce el agua para sus diferentes usos.

**Cepa:** Se dice de los organismos que disponen de una ascendencia común y mantienen un cierto parentesco, es posible hablar de las cepas de los virus o de las bacterias por ejemplo, también suele referirse a como colonias puras de bacterias.

**Cobre:** Elemento químico que pertenece al grupo de los metales, se caracteriza por su brillo y tonalidad roja, puede llegar a ser muy tóxico en ingestas excesivas.

**Colorímetro:** Instrumento que permite medir la absorbancia de una disolución en una frecuencia de luz específica.

**Concentración:** Magnitud que da a conocer cuanta cantidad de sustancia se puede encontrar en una unidad de volumen, un ejemplo de unidad de medida de concentración son las partes por millón (ppm).

**Contaminación del agua:** Consiste en cualquier cambio químico, físico o biológico en la calidad del agua que tiene un efecto dañino en cualquier ser vivo que la consuma.

**Cultivo bacteriano:** Es una técnica de laboratorio que consta de un gel o una solución con nutrientes necesarios para permitir el crecimiento de virus, microorganismos, células, tejidos vegetales o incluso pequeñas plantas en condiciones favorables de pH y temperatura.

**Efluente:** Líquido proveniente de un proceso de tratamiento.

**Humedal:** Es un ecosistema conformado básicamente por cuerpos de agua con poca profundidad, sirven como freno a las inundaciones de los ríos y en ellos habitan gran diversidad de especies de alto valor ecológico.

**Limos:** Su color es marrón oscuro, los limos se componen de una mezcla de arena fina y arcilla que forman una especie de barro junto al lodo y restos vegetales, suele darse en los lechos de los ríos.

**Impacto ambiental:** Alteración del entorno ocasionada por la ejecución de una obra o actividad.

**Inocular:** Consiste en introducir artificialmente una porción de muestra (inóculo) en un medio adecuado, con el fin de iniciar un cultivo microbiano para su desarrollo y multiplicación, una vez sembrado, el medio de cultivo se incuba a una temperatura adecuada para el crecimiento.

**Inóculo:** Se refiere a los microorganismos o sus partes (esporas, fragmentos miceliales) capaces de provocar infección o simbiosis cuando se transfieren a un huésped, se refiere a organismos simbióticos o patógenos transferidos por cultivo.

**Medio de cultivo:** Es una solución líquida o gelatinosa que contiene los nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos.

**Metal pesado:** Son un grupo de elementos químicos que presentan una densidad relativamente alta y cierta toxicidad para el ser humano, entre ellos se encuentran el arsénico, cadmio, cobalto, cromo, cobre, mercurio, níquel, plomo, estaño y zinc.

**Muestreo aleatorio simple:** Es un tipo de muestreo probabilístico que da a cada elemento de la población objetivo de estudio y a cada posible muestra de un tamaño determinado, la misma probabilidad de ser seleccionado, se debe tener un tamaño de muestra correcta para no tener un error de muestreo.

**Punto de muestreo:** Sitio específico en donde se toma la muestra representativa del cuerpo de agua.

**Residuos sólidos:** Materiales desechados tras su vida útil, proceden de materiales utilizados en la fabricación, transformación o utilización de bienes de consumo, la mala disposición de residuos sólidos genera diversas problemáticas para el medio ambiente.

**Sedimento:** Es la materia que después de haber estado en suspensión en un líquido, termina en el fondo por su mayor gravedad, este proceso es conocido como sedimentación.

**Tiras reactivas:** Cinta de material plástico o de papel, de aproximadamente 5 ml de ancho, presentan una almohadilla impregnada de sustancias químicas que reaccionan con los compuestos a analizar, los resultados se obtienen mediante comparación de color y relación con una escala de concentración en ppm.

**Turbidez:** Es una medida del grado en el cual el agua pierde su transparencia debido a la presencia de partículas en suspensión.

**Vertimiento:** Conjunto de materiales de desecho, por lo general líquidos, que se arrojan en un lugar, especialmente los procedentes de instalaciones industriales o energéticas.

## Resumen

Las ciudades ejercen una gran presión sobre los recursos naturales, el hombre en su afán de deshacerse de los diferentes tipos de residuos generados en su cotidiano vivir muchas veces no es consciente del alcance perjudicial que tiene para el medio ambiente el mal manejo de los mismos, en el caso del Canal Los Ángeles de la ciudad de Bogotá este funciona como receptor de agua lluvia así como de gran cantidad de residuos sólidos, de aguas residuales de tipo doméstico e industrial, presentando un alto grado de contaminación por vertimientos, para el desarrollo es este proyecto de investigación se tuvo en cuenta la contaminación por cobre (Cu), que fue confirmada mediante el uso de la técnica del colorímetro en laboratorio en las distintas muestras de agua residual del canal, así mismo también se confirmó el potencial biosorbente de cobre de cepas aisladas provenientes del mismo, como una alternativa tecnológica prometedora de recuperación de metales pesados en las aguas residuales.

*Palabras clave:* Afluente, biosorción, vertimiento, muestras, cobre, cepa bacteriana.

### **Abstract**

The cities exert a great pressure on natural resources, the man in his eagerness to get rid of the different types of waste generated in his daily life is often not aware of the harmful scope that has for the environment the mishandling of the same, In the case of the Los Ángeles canal in the city of Bogotá, this works as a receiver of rainwater as well as a large amount of solid waste, domestic and industrial wastewater, presenting a high degree of contamination by dumping, for development it is this research project took into account copper contamination (Cu), which was confirmed by the use of the colorimeter technique in the laboratory in the different samples of wastewater from the canal, as well as confirming the copper biosorbent potential of isolated strains from it, as a promising technological alternative to recover heavy metals in the waters residuals

*Key words:* Affluent, biosorption, shedding, samples, copper, bacterial strain.

## Introducción

“El activista no es quien dice que el río está sucio. El activista es quien limpia el río”

-Ross Perot

El jueves 31 de Marzo de 2016, a mediodía, se evidenció el vertimiento ilegal que llegaba al Humedal Jaboque. Una mancha azul invadió el espejo de agua en el tercio alto y medio del humedal. La comunidad acudió a las autoridades ambientales y puso la queja en la SDA, EAAB, Bomberos y la CAL de Engativá. Visitamos la zona y el panorama fue devastador, espejos de agua pintados con azul, vegetación azul, tinguas con su lomo y patas azules, chorlitos pintados, patos enjuagándose las manchas, entre otros. (Fundación Humedales Bogotá, 2016).

En años anteriores se ha venido evidenciando la existencia de vertimientos de aguas industriales al principal afluente del humedal Jaboque, el Canal Los Ángeles de la ciudad de Bogotá D.C. Una de las noticias fue difundida por noticias caracol televisión el día 2 de abril de 2016 en su emisión de medio día en donde se encienden las alarmas por la aparición de tinta azul en el Canal Los Ángeles, la cual llegaba hasta el espejo de agua del humedal Jaboque, afectando de forma dramática la fauna y flora del lugar. “Alerta ambiental por vertimiento de tinta en humedal Jaboque en Bogotá”. (Noticias CARACOL, 2016). De acuerdo a esta información el canal recibe entre otro tipo de aguas residuales, aguas residuales industriales que permiten inferir la presencia de metales pesados en el cuerpo de agua del canal, ¿Existe presencia de cobre (Cu), en las aguas del afluente Canal Los Ángeles?

Bogotá se ha constituido en uno de los principales centros manufactureros del país, cuenta con industrias como la metalmecánica, de plásticos, química, siderurgia, fábrica de pilas y

baterías, fabricación de tintas, pinturas, industria papelera, textil, eléctrica entre otras. Teniendo en cuenta la intensa actividad industrial de la zona, es conveniente preguntarse hacia donde se dirige los desechos de estas actividades. (Redacción Bogotá, 2009).

El canal Los Ángeles pertenece a la localidad de Engativá, ha sido receptor de vertimientos de aguas residuales, tanto domésticas como industriales sin ningún tratamiento previo, la contaminación generada por vertimientos industriales se caracteriza por su contenido mineral, como metales pesados y sales vertidas directamente. (Acherman, 2007).

El cobre (Cu) es catalogado como un metal pesado, su conductividad térmica y eléctrica son muy altas y se encuentra dentro del grupo de metales pesados más conocidos por su tendencia a representar serios problemas medioambientales, la peligrosidad reside en que no pueden ser degradados ni química ni biológicamente, tiende a bioacumularse y biomagnificarse, en el ser humano se ha detectado efectos físicos como: dolores crónicos, problemas sanguíneos, ansiedad, pasividad, entre otros.

Los ríos depositan barro en sus orillas que están contaminados con cobre, debido al vertimiento de aguas residuales contaminadas con cobre, este terminará mayormente en los suelos, sedimentos de cursos de agua, sedimentos de limos y arcillas, el cobre es frecuentemente encontrado cerca de minas, asentamientos industriales, vertederos y lugares de residuos, puede ser encontrado en el agua superficial tanto suspendido sobre las partículas de lodos como iones libres (Fernando Londoño-Franco, Londoño-Muñoz, & Muñoz-García, n.d.).

En la actualidad existe un gran número de dispositivos y métodos para determinar los parámetros de la calidad del agua. Esta investigación hace énfasis en la detección de cobre en las aguas del canal y el uso de la técnica de biosorción por adsorbentes bacterianos como alternativa tecnológica de recuperación de metales pesados en las aguas.

La técnica de biosorción de cobre por adsorbentes bacterianos es una tecnología emergente en la cual los materiales biológicos son usados como medio de intercambio iónico, consiste en una técnica de captación de metales pesados llevada a cabo por una biomasa viva o muerta, para ello se cultiva a nivel de laboratorio microorganismos que se reproducen rápidamente y tienen la propiedad de atraer hacia su superficie el cobre, la biomasa bacteriana cumple un papel fundamental a la hora de obtener buenos resultados de biosorción de cobre.

## 1. El Problema

### 1.1 Línea de Investigación

La cadena de formación ambiental de la Escuela de Ciencia Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente (ECAPMA) cuenta con las siguientes líneas de investigación: manejo de residuos, ecoeficiencia, control de la contaminación atmosférica, aprovechamiento de energías renovables y tratamiento de aguas.

Este proyecto de investigación se encuentra dentro de la línea de investigación manejo y tratamiento de aguas, perteneciente a la cadena de formación ambiental de la UNAD.

### 1.2 Formulación del Problema

*¿Las cepas bacterianas aisladas de muestras de agua residual provenientes del Canal los Ángeles, tienen capacidad de biosorción de cobre (Cu)?*

### 1.3 Objetivos

#### 1.3.1 Objetivo General

✓ Evaluar la biosorción de cobre (Cu) mediante el uso de adsorbentes bacterianos provenientes de muestras de agua residual del Canal los Ángeles de la ciudad de Bogotá.

#### 1.3.2. Objetivos Específicos

✓ Identificar los puntos críticos a lo largo del Canal Los Ángeles donde pueda haber presencia de cobre (Cu).

✓ Determinar la presencia de cobre (Cu) *In Situ* y en laboratorio del agua residual del Canal los Ángeles.

✓ Evaluar el potencial biosorbente de cobre en cepas bacterianas aisladas a partir de muestras del Canal los Ángeles.

## 2. Marco Referencial

### 2.1 Marco Conceptual y Teórico

Para entrar en contexto se debe tener en cuenta que el Canal los Ángeles es el mayor afluente que tiene actualmente el humedal Jaboque, por lo tanto el canal como el humedal comparten tipos de contaminación muy similares, esto lleva a que en algunas partes de la investigación se mencione la contaminación en el humedal, como una forma de entender la contaminación del canal mismo.

**2.1.1 Contaminación del afluente Canal Los Ángeles.** El Canal los Ángeles ha presentado episodios pasados en donde se evidencia sus diversas formas de contaminación. Ardila y Arévalo, 2014 manifestó: “Los vertimientos presentan apariencia de tintas en color rojo y azul, unido a esto, los olores emitidos son altamente penetrantes”. Por su parte, en la misma fecha el edil Jairo Jaramillo solicita la intervención de la Secretaría Distrital de Ambiente para dar cumplimiento a la resolución No. 3957 de la Secretaría con la cual se regula los vertimientos de desechos líquidos industriales, debido al vertimiento de posibles residuos tóxicos, por otra parte Ardila y Arévalo, 2014 afirman:

La zona presenta bastante actividad de tipo industrial y doméstica, una deficiente gestión de residuos sólidos, invasión del espacio público, construcciones legales e ilegales, disminución de su capacidad de retención de agua, quemas dentro del humedal, arrojo de escombros, indigencia, falta de control de asentamientos humanos.

Prácticamente son los mismos males que aquejan la zona, tanto a nivel del humedal Jaboque como en el afluente Canal Los Ángeles, durante el trayecto del afluente y hacia el sitio

donde empieza el humedal se avista una mala disposición de residuos sólidos, escombros arrojados dentro del canal, tuberías que vierten sus aguas residuales de tipo doméstico como industrial, existe una alta sedimentación, hay presencia de personas que habitan tanto en el canal como en el humedal, en algunas partes hay un crecimiento excesivo de plantas y algas (eutrofización) que afecta los cuerpos de agua de forma que disminuye su volumen.

Noticias Caracol televisión el día 2 de abril de 2016 en su emisión de medio día también reportó un hecho en donde se encienden las alarmas por la aparición de una sustancia extraña de color azul en el Canal los Ángeles y que conducía hacia el humedal “Alerta Ambiental por vertimiento de tinta en humedal Jaboque en Bogotá”, así mismo para la misma fecha Fundación Humedales Bogotá, 2016 afirma:

El jueves 31 de Marzo de 2016, a mediodía, se evidenció el vertimiento ilegal que llegaba al Humedal Jaboque. Una mancha azul invadió el espejo de agua en el tercio alto y medio del humedal. Figura 1.



*Figura 1.* Mancha azul en el humedal Jaboque

Fuente: Daniel Bernal 2016

La comunidad acudió a las autoridades ambientales y puso la queja en la SDA, EAAB, Bomberos y la CAL de Engativá.

Visitamos la zona y el panorama fue devastador, espejos de agua pintados con azul,

vegetación azul, tinguas con su lomo y patas azules, chorlitos pintados, patos enjuagándose las manchas, entre otros.



*Figura 2.* Tingua pico rojo manchada de tinta azul Fuente: Daniel Bernal 2016

La Tingua de Pico Rojo, Figura 2, es una de las más frecuentes aves en los humedales de Bogotá, incluso se pueden ver en aguas algo contaminadas, suelen aparecer en parejas o pequeños grupos familiares, caminan sobre la vegetación flotante o nadan, se alimentan de plantas y pequeños invertebrados.

**2.1.2 Posibles fuentes contaminantes.** Las posibles fuentes de vertimientos industriales con metales pesados en la zona aferente del humedal Jaboque, Canal Los Ángeles, son la industria de pintura, la industria de fabricación de productos metálicos para uso estructural y la industria básica de hierro y acero.

Bogotá se ha constituido en uno de los principales centros manufactureros del país, cuenta con una gran industria metalmecánica, de plásticos, química, siderurgia, fábrica de pilas y baterías, fabricación de pinturas, industria papelera, entre otras, ahora es conveniente preguntarse hacia donde se dirige los desechos de estas actividades industriales, si reciben un adecuado tratamiento antes de ser devueltos al medio ambiente.

El estado actual del humedal Jaboque es el resultado del proceso de urbanización, donde aparece la descarga de aguas contaminadas por desechos orgánicos y químicos, es importante identificar las industrias dentro de la zona que vierten metales pesados y los efectos sobre la biota.

El humedal Jaboque pertenece a la localidad de Engativá, ha sido receptor de vertimientos de aguas residuales, tanto domésticas como industriales sin ningún tratamiento previo, la contaminación generada por vertimientos industriales se caracteriza por su contenido mineral, como metales pesados y sales vertidas directamente.

(Acherman, 2007).

La zona de trayecto del Canal Los Ángeles se caracteriza por una fuerte actividad de tipo industrial, residencial (urbanizaciones, colegios, unidades habitacionales) y de comercio (restaurantes, panaderías, cafeterías, fruver, mini mercados, distribuidoras de pollo y carnes, droguerías, estaciones de servicio de combustible, cigarrerías, centros comerciales, empresas de oficinas) en el área denominada zona industrial de álamos tiene presente sus operaciones industriales empresas como: *Ajover* (empresa dedicada a la fabricación y distribución de materiales de construcción, cubiertas, tejas y tejados), *Conservas California* (empresa dedicada a la producción de mermeladas, vegetales en conserva, frutas en conserva, salsas, ají, jugos, mostaza, salsa de tomate, pulpas de fruta), *Printer Colombiana* (empresa dedicada a la industria gráfica, impresión, fabricación de tintas), *Protela* (empresa dedicada a la elaboración y comercialización de textiles, tintura, estampación, acabados), *Legrand Colombia* (dedicada a la transformación, distribución, protección de la energía eléctrica, sistemas para conducción de cableados, infraestructura para comunicaciones), diversas industrias de la metalmecánica que se dedican a la transformación del metal en láminas, alambre y placas,

aleaciones, son proveedoras de partes a las demás industrias, también existe presencia de la industria de pilas y baterías que se encuentran en sitios más alejados del Canal los Ángeles pero no se descarta el posible vertimiento proveniente de alguna conexión ilegal al sistema de alcantarillado de la ciudad.

Las actividades antropogénicas que más pueden aportar contaminantes de la categoría de metales pesados y en este caso cobre, son las de vertimiento de aguas industriales al Canal Los Ángeles, como son la industria de textiles, la industria de pinturas, industria del sector eléctrico, industria de tintas e impresión, industria de la metalmecánica, la industria de pilas y baterías, según El ESPECTADOR, 2009 afirma: Igualmente, la Secretaría de Ambiente y el Acueducto visitarán las industrias aledañas al humedal para identificar el origen de los vertimientos de las fábricas textiles del sector y así contrarrestar la contaminación.

Con el trabajo de campo, se identificó que en el canal de Los Ángeles hay una estructura de aguas lluvias de la EAAB que produce olores y características propias de vertimientos originados por la industria del sector textil. El resultado de dichas revisiones arrojó que el vertimiento es causado por conexiones erradas de industrias y viviendas del sector a la red de alcantarillado pluvial.

**2.1.3 Los metales pesados en las aguas residuales industriales.** Las aguas residuales industriales contienen un gran número de metales pesados diferentes, entre ellos se destaca el níquel, manganeso, plomo, cromo, cadmio, zinc, cobre, hierro y mercurio entre otros. Todo ellos se encuentran catalogados como residuos peligrosos que se deben tener en cuenta de forma obligatoria para fijar valores límites de emisiones. (Tajudin, Azmi, & Nabila, 2016).

La fuentes habituales de aguas residuales que contienen grandes cantidades de metales pesados como el cromo, cadmio, cobre, mercurio, plomo y zinc, proceden principalmente de limpieza de metales, recubrimientos, curados, refinado de fosfato y bauxita, generación de cloro, fabricación de baterías y teñidos. Los efectos que ocasionan sobre el medio ambiente son los siguientes: alta toxicidad, alta persistencia, rápida acumulación por los organismos vivos, mortalidad de los peces, envenenamiento de ganado, mortalidad de plancton, acumulaciones en el sedimento de peces y moluscos, contaminan el suelo, contaminan el aire, se acumulan en las plantas y los tejidos orgánicos, en las plantas producen clorosis que es una enfermedad donde la planta pierde su color verde y daño a nivel radicular, una vez emitidos pueden permanecer cientos de años en el ambiente, su concentración en los seres vivos aumenta a medida que son ingeridos por otros, degradan la salud humana, entre otros.(Fernando Londoño-Franco et al., n.d.)

Debido a su toxicidad, la presencia de cualquiera de los metales pesados, en cantidades excesivas interferirá en los diferentes usos del agua, para el cobre el valor límite en cuanto a vertidos de líquidos industriales al Sistema Integral de Saneamiento establece, cobre (Cu): 3mg/L. El valor límite máximo permisible, en cuanto a vertimientos puntuales de aguas residuales se refiere, a cuerpos de agua superficial es de 0,5 mg/L de cobre (Cu).(Ambiente, 2015)

(Tajudin et al., 2016) Afirma: Debido a su naturaleza tóxica, algunos metales pesados como el cadmio, el bicromato, cobre, níquel, zinc, entre otros, causan impacto negativo sobre los tratamientos biológicos convencionales como procesos de lodo activado, zanjas de oxidación, fosas sépticas, estanques y lagunas, filtros de goteo, varios tipos de filtración, digestión anaeróbica, digestión aeróbica, sistemas de desechos de tanque

séptico o aeróbicos, algunos tipos de aireación, sistemas de aireación por difusión; también causan impacto negativo sobre los ecosistemas receptores, es por ello que es muy conveniente medir y controlar las concentraciones de estas sustancias como se indica en la Tabla 1.

Tabla 1. *Límites de concentración*

Sustancia	Concentración de inhibición (mg/L)
Cadmio ( $\text{Cd}^{2+}$ )	2-5
Bicromato ( $\text{CrO}_4^{2-}$ )	3-10
Cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ )	1-5
Níquel ( $\text{Ni}^{2+}$ )	2-10
Zinc ( $\text{Zn}^{2+}$ )	5-20

Fuente: (Ambiente, 2015).

**2.1.4 Evaluación de la calidad de agua en el humedal Jaboque.** Dentro de la red de humedales de la sabana de la ciudad de Bogotá D.C., se encuentra el humedal Jaboque, es un ecosistema de gran valor ambiental que ha venido presentando problemas ambientales causados por el hombre por su potencial acuífero y ubicación. En un trabajo realizado por Castro, Cruz y Moreno en el 2005, se ubicaron puntos de muestreo en el humedal y se analizaron muestras *in situ* y a nivel de laboratorio para determinar parámetros tanto físicos como químicos, con estos datos se planteó el índice de calidad de agua y se desarrolló una metodología cuantitativa-descriptiva que permite emitir juicios positivos o negativos.

Para conocer el estado en que se encontraban las aguas se tomaron algunas muestras que reflejaran la calidad del agua, con el fin de garantizar la homogeneidad y continuidad en los análisis, se dividió el humedal en cinco zonas y se ubicaron 22 puntos de muestreo, se analizaron

parámetros como: In situ – temperatura, humedad relativa, PH, turbidez (cualitativo), color (cualitativo), olor (cualitativo); y en el laboratorio - conductividad, acidez, alcalinidad, DBO5, DQO, OD (oxígeno disuelto), dureza, nitratos, hierro, fosfatos, cloruros y nitritos, se utilizaron muestras puntuales e integradas dependiendo del flujo de agua en cada zona. (Castro et al., 2005)

A nivel del Canal Los Ángeles, que es una de las principales fuentes de ingreso de agua al humedal, el punto de muestreo fue tomado cerca de un vertimiento de agua de alcantarillado público, donde se encontraron residuos domésticos, sedimentos, residuos sólidos y ausencia de vegetación, los resultados muestran que los sólidos en suspensión, cloruros y nitritos son altos, el pH demostró una acidez débil, la dureza muestra que las aguas de este canal son duras, la DBO (cantidad de oxígeno necesario para que la materia orgánica se descomponga) es alta, la DQO también es alta e indica la cantidad de materia orgánica no biodegradable y biodegradable.

Para facilitar y simplificar el análisis es recomendable usar otro tipo de índice, para generalizar la calidad del agua del humedal en un solo resultado; de esta forma se planteó el WQI (water quality index)

Según los resultados de los análisis, el humedal Jaboque ha sido alterado por factores como obras hidráulicas, vertimiento de aguas contaminadas, malos manejos de la ronda a causa de cultivos, pastoreo, extracción de agua por desecación, más sin embargo sigue siendo un depurador de aguas contaminadas y hábitat de gran variedad de fauna y flora, se reafirmó mediante el análisis de agua que al humedal Jaboque se arrojan los residuos sólidos de sus alrededores y se convirtió en vertedero de aguas residuales de todo tipo, se puede concluir que este ecosistema presenta aumento de contaminación en lo que se refiere al índice de contaminación por *mineralización* (contaminación por metales pesados) y al índice de contaminación por materia orgánica; el índice de contaminación *trófico* se mantiene en el mismo

nivel de calidad; finalmente el resultado de contaminación por *sólidos suspendidos* tiene una relación lógica con estudios realizados en el año 2003. (Castro et al., 2005)

**2.1.5 Afectación ambiental por vertimiento de metales pesados en el Canal Los Ángeles.** Según muestreos realizados por EAAB ( 2005), en cuanto a calidad de los vertimientos de los humedales de Bogotá, señalan que el humedal Jaboque presenta los más altos niveles de vertimientos de cadmio, aluminio total, zinc, cobre, cromo, níquel, plomo, DQO (demanda química de oxígeno), SST (sólidos suspendidos totales), SS (sólidos suspendidos), con respecto a los demás humedales de la ciudad, más sin embargo solo el cadmio, plomo, SST, SS, exceden los niveles permitidos según la Resolución 1074 de 1997 del DAMA.

Hay que tener en cuenta que de acuerdo al plan de ordenamiento territorial la matriz ambiental es de tipo residencial, comercial e industrial, especialmente se destaca la presencia de industrias que generan aguas residuales con metales pesados, destacándose la industria de pinturas y barnices, la de hierros y acero, industrias metalmecánicas que generan residuos metálicos en estado sólido como virutas. (Acherman, 2007)

De acuerdo a EAAB ( 2005) el resultado de los análisis de calidad de agua indica altos niveles de cadmio (0.176 mg/L), plomo (4.411 mg/L), cobre (0.25 mg/L), zinc (29.79 mg/L), níquel (1.358 mg/L), sólidos suspendidos totales (14344 mg/L), sólidos sedimentables (106 mg/L), coliformes fecales ( $5.1 \cdot 10^3$  NMP/100 ml) y grasas y aceites (447 mg/L) entre otros parámetros, según la resolución 1074 del DAMA.

Los humedales de la ciudad de Bogotá muestran diferentes tipos de vertimientos de metales pesados, de allí que cada uno refleja su grado de contaminación, esta información es de suma importancia a la hora de dar el manejo adecuado a cada humedal de la ciudad, estos agentes contaminantes pueden magnificarse ya que aumentan su concentración a medida que son

ingeridos en la cadena trófica o transformarse ya que se forman otras sustancias al reaccionar con componentes del medio donde se encuentran, estas sustancias producen muerte para la biota y de paso un riesgo para la salud humana.

En los humedales naturales los contaminantes de tipo mineral se pueden acumular en semillas e insectos en cantidades tóxicas, resultando de esta forma la muerte de aves, de acuerdo a EAAB (2005) el humedal Jaboque es el más contaminado de los humedales de Bogotá probablemente por la abundancia de industrias en su zona aferente. (Acherman, 2007)

Los metales pesados no se degradan, por el contrario se acumulan en los sedimentos, se fijan en las plantas y animales, por lo tanto se puede hablar de una bioacumulación (acumulación en los tejidos orgánicos) en la biota y sedimentos, a su vez puede ocurrir que algunos organismos hayan reducido su diversidad genética por exposición a estos contaminantes, es posible que se haya presentado reducción de fecundidad, aumento de mortalidad en algunas poblaciones de ciertas especies. La Figura 3 registra vertimientos industriales en el humedal.



Figura 3. Vertimientos industriales - humedal Jaboque

Fuente: Daniel Bernal 2016

**2.1.5.1 Afectación ambiental de la contaminación por cobre.** El cobre es un nutriente esencial, sin embargo se vuelve tóxico cuando está en exceso, la contaminación con cobre de

suelos y ríos ha aumentado, las bacterias, algas y hongos están siendo utilizados para detoxificar medios acuáticos con altas concentraciones de cobre, las actividades industriales cotidianas originan desechos con abundancia de metales pesados, estos elementos no son química ni biológicamente degradables, como sí lo son los compuestos orgánicos. (Lorenzetti et al., 2012)

La acumulación de metales pesados como el cobre, generan dispersión en el aire, aguas superficiales y suelos, de forma que se filtran hacia los acuíferos que son la reserva de agua potable del planeta, esta problemática es preocupante ya que compromete el uso de agua de consumo, debido a que los tratamientos de potabilización no remueven dichos metales pesados, de esta forma se pone en riesgo la salud de la población, en algunas partes existe zonas no cultivables debido a la contaminación de los suelos. Los tratamientos biológicos se han estudiado con el propósito de identificar biosorbentes metálicos eficientes y menos costosos para la captación de los mismos. (Lorenzetti et al., 2012)

El cobre se purifica mediante procesos de refinado electrolíticos, se presenta en la naturaleza como metal nativo y también en forma de minerales sulfurados como calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ), calcosita ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ), y óxido cuproso ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ). Aunque el cobre es un elemento esencial, a niveles altos resulta tóxico, los niveles de cobre y su disponibilidad biológica en el ecosistema son importantes, la forma que toma (iónica, compuesta o precipitada) y su disponibilidad dependen de factores como el pH, el potencial redox, el suelo y tipo de sedimento, la dureza del agua y el contenido orgánico, estos factores varían de acuerdo al ecosistema. Las actividades antrópicas que generan la emisión del cobre en el suelo incluyen fundición, minería, actividades industriales, residuos domésticos, la aplicación de fertilizantes, alguicidas y fungicidas, el cobre es tóxico en concentraciones altas para los organismos. (Achal, Pan, & Zhang, 2011)



Figura 4. Contaminación por sulfato de cobre - Río Sonora México Foto/Cuartoscuro 2015

Según (Achal et al., 2011) el efecto de concentraciones altas de cobre es fuerte en plantas y peces, a nivel de las plantas produce problemas en las raíces, inhibe el crecimiento radicular y se forma raicillas secundarias cortas y de color pardo, también produce clorosis, en algas y hongos previene la germinación de esporas, en los peces los iones de cobre afecta la regulación del sodio, importante en procesos de transporte a nivel celular y en los mamíferos puede producir daño en el hígado. La Figura 4 registra la contaminación típica por sulfato de cobre.

**2.1.5.2 Biosorción de metales pesados en aguas residuales.** La biosorción es un proceso que permite la captación de iones metálicos, puede ser pasiva o activa y se lleva a cabo mediante biomazas vivas o muertas que tienen la propiedad de enlazar y acumular este tipo de contaminantes. Según (Tejada-Tovar, Villabona-Ortiz, & Garcés-Jaraba, 2015), Los materiales de bajo costo a partir de diferentes biomazas provenientes de la flora microbiana, algas y residuos agroindustriales se han investigado para cambiar los métodos convencionales de remoción de contaminantes como metales pesados. El cromo, níquel, cadmio, plomo y mercurio son algunos de los metales que producen mayor impacto negativo al ambiente por su alta toxicidad, factores como el pH de la solución, tamaño de partícula, temperatura y la

concentración del metal influyen en el proceso, la biosorción aparece como una alternativa interesante para remover iones de metales pesados en los efluentes industriales, es una tecnología que permite no solo removerlos, si no también darle uso a los desechos agrícolas que antes no tenían ninguna utilidad, los materiales biosorbentes son de bajo costo y fácil adquisición.

Entre las ventajas del método de biosorción se tiene que es de bajo costo, alta eficiencia, mínima producción de lodos biológicos, mínimo uso de productos químicos, no se requiere nutrientes adicionales, posibilidad de recuperación de metales, regeneración de los biosorbentes.

A pesar de ser una buena alternativa de descontaminación de aguas por metales pesados, en la actualidad no ha sido utilizado a nivel industrial ya que todavía se encuentra en etapa de investigación y no se le ha transferido conocimiento tecnológico. (Tejada-Tovar et al., 2015)

La corteza del árbol del pirul, la cáscara de tamarindo, cáscara de plátano, cáscara de limón, cáscara de naranja, hoja de maíz, cáscara maní, quitosano, desechos de tallo de uva, entre otros, revelan la capacidad de adsorción de iones de metales pesados en aguas residuales según investigaciones realizadas a nivel mundial. Otro tipo de biosorbentes muy usados actualmente son microorganismos como las algas, hongos, bacterias y levaduras. (Tejada-Tovar et al., 2015)

El proceso de biosorción tiene una fase sólida (biomasa) y una fase líquida (agua) que contiene disuelta la sustancia de interés que será adsorbida (iones de metales pesados), debe existir una gran afinidad entre la biomasa y el contaminante, ya que debe ser atraído hacia el sólido y enlazado por diferentes mecanismos, en general la captación de metales pesados mediante biomasa se atribuye a sus proteínas, carbohidratos y componentes fenólicos que contienen grupos carboxilo, hidroxilo, sulfatos, fosfatos y amino, los cuales presentan bastante afinidad por los iones metálicos, facilitando su captación (Tejada-Tovar et al., 2015)

La biosorción es un proceso que se empezó a utilizar a principios de los años 90 con el fin de remover sustancias contaminantes de las aguas residuales del sector industrial, desde entonces las investigaciones se han centrado en el uso de biomasa viva o muerta, sin embargo, los resultados arrojados muestran como mejor alternativa la biomasa muerta ya que evita el suplemento de nutrientes y elimina el problema de toxicidad, el proceso de adsorción no se ve interrumpido por la muerte de la biomasa por altas concentraciones de los contaminantes al interior de las mismas. (Tejada-Tovar et al., 2015)

La Tabla 2 muestra los materiales usados en diferentes investigaciones para la adsorción de metales pesados en medios acuosos. A pesar de que se han hecho un sin número de investigaciones donde materiales orgánicos e inorgánicos han sido estudiados para evaluar su potencial de adsorción de metales pesados en efluentes industriales, las biomasas microbianas como hongos, bacterias y algas y los residuos agroindustriales como cáscaras de coco, de naranja, de limón, de yuca, de manzana, de tamarindo entre otras, constituyen el conjunto más estudiado hasta el momento, estos materiales presentan características en su estructura (rigidez, porosidad, festividad) y composición química (grupos funcionales o sitios activos para la unión con los iones metálicos) que permiten fuertes enlaces con los iones metálicos. (Tejada-Tovar et al., 2015)

Tabla 2. *Materiales biosorbentes*

<b>Tipo de adsorbente</b>	<b>Biosorbente</b>
Organismos vivos	Penicillium Aspergillus Rizopus Paecilomyces
Biomasas	Cáscara de tamarindo Cáscara de naranja Cáscara y semilla de manzana Cebada (Hordecum vulgare)
Biopolímeros	Bentonita - Quitosano Quitosano Epiclorhidrinatrifosfato
Carbones activados	Carbón activado a partir de Escherichia coli y

	carbón activado a partir de <i>Arthrobacter viscous</i> Carbón activado a partir de cáscara de naranja Carbón activado a partir de cáscara de coco
Modificación químicas	Biomasa reticulada con glutaraldehído Biomasa reticulada con cloruro de calcio Biomasa modificada con ácido cítrico
Otros materiales	Arena Zeolita Cenizas volantes

Fuente: (Tejada-Tovar et al., 2015)

**2.1.5.3 Biosorción de cobre mediante adsorbentes bacterianos.** Se estudió la biosorción de cobre utilizando bacterias aisladas del río San Pedro, Sonora México, se aislaron 123 cepas en tres muestreos realizados en diferentes épocas del año y se seleccionaron *Escherichia coli* y *Burkholderia cepacia* para realizar pruebas de biosorción en lote, se presentó un 73% de biosorción del cobre en 75 minutos, mientras que utilizando zeolita sin activar como soporte de la bacteria, se obtuvo un 75% de biosorción en el mismo tiempo. (Monge-Amaya, Valenzuela-García, Acedo-Félix, Certucha-Barragán, & Almendáriz-Tapia, 2008)

La contaminación del agua, aire y suelo por metales pesados es uno de los problemas ambientales más severos y difícil de resolver, el cobre es un micronutriente esencial para el metabolismo celular pero en concentraciones elevadas es tóxico para la fauna y flora, los tratamientos convencionales para remover el cobre de medios acuosos son considerados ineficientes tanto a nivel técnico como económico, la biosorción es una técnica de descontaminación de iones metálicos derivada de la utilización de materiales biológicos. El proceso de biosorción involucra una fase sólida (biosorbente) y una fase líquida (solvente) que contiene los iones metálicos, el proceso de biosorción se lleva a cabo mediante diversos mecanismos (enlace covalente, fuerzas de van der Waals, atracción electrostática, intercambio iónico) en la pared celular gracias a la alta afinidad entre el sorbente y los iones metálicos, la

biosorción es considerada como un mecanismo no sólo para remover sino también para recuperar los metales pesados. (Hansda, A. Kumar, V y Anshumali)

La industria minera es una de las actividades económicas de mayor tradición en México y se dedica principalmente a la producción de Cu, Zn, Ag y Pb, esta actividad afecta el subsuelo, la atmósfera, suelos y cuerpos de agua. El estado de Sonora enfoca su explotación minera en la Ag y el Cu, los distritos mineros más explotados se ubican en el municipio de Cananea, donde se han hecho estudios de calidad de agua superficial del río San Pedro en los años 1997 y 1999, recientemente se han realizado estudios sobre metales pesados (Cd, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn) en los sedimentos del río San Pedro.

La cuenca del río San Pedro está ubicada al norte del estado de Sonora, las corrientes del río han recibido desechos ácidos con elevados niveles de metales pesados, para el tratamiento de efluentes líquidos que contienen metales pesados existen diferentes métodos fisicoquímicos pero presentan altos costos y consumo de productos químicos, el cobre se presenta principalmente en forma de sulfatos, carbonatos, sulfuros, calcopirita, bornita, cuprita, malaquita y azurita. (Monge-Amaya et al., 2008)

La biosorción es una alternativa que utiliza microorganismos y sirve para la recuperación de metales de soluciones industriales y se refiere a las interacciones fisicoquímicas entre la biomasa microbiana y el metal pesado, varios estudios han demostrado que la biomasa de diferentes especies de bacterias, hongos y algas es capaz de atraer hacia su estructura iones metálicos en ambientes acuáticos, bacterias del género *Pseudomonas* presentan resistencia a metales pesados como Cd, Cu y Pb, para la remoción de cromo, plomo y cobre de aguas residuales se ha utilizado *Staphylococcus saprophyticus*. *Pseudomonas cepacia* es una de las

cepas que tiene buena capacidad de biosorción de cobre y plomo en efluentes industriales y aguas residuales (Monge-Amaya et al., 2008)

Para llevar a cabo el análisis microbiológico y de aislamiento de las cepas se recolectaron muestras de agua en recipientes estériles de 500 ml, se les realizaron lecturas de pH y temperatura *in situ*, fueron almacenadas en hielo para llevar a laboratorio de biorremediación de la Universidad de Sonora-Hermosillo, luego se realizaron las pruebas de biosorción de cobre en sistemas por lotes. Esta investigación demostró que la biomasa activa utilizada es capaz de biosorber cobre, que resistió una concentración de 50 mg Cu (II)/L y pH ácido, condiciones semejantes a las reportadas en las aguas del río San Pedro. (Monge-Amaya et al., 2008)

## **2.2 Marco Normativo**

La legislación ambiental consiste en una serie de normas jurídicas que regulan la relación del hombre con su medio ambiente, se hacen con el fin de proteger y preservar los recursos naturales, para librarlos de la contaminación o en determinado caso para mejorar su estado en caso de que ya haya afectación de tipo ambiental.

A continuación se muestra las principales normas vigentes según el *Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de la República de Colombia* relacionados con la gestión integral del *recurso hídrico* y que son importantes para su uso, protección, conservación y manejo. (Ambiente, 2015)

**2.2.1 Normativa del recurso hídrico.** Estas son algunas de las normas de la legislación colombiana en cuanto a la gestión del *recurso hídrico* se refiere, presentadas en algunos Decretos, Leyes y Resoluciones:

**Decreto No. 1076 de 2015.** Por medio del cual se expide el decreto único reglamentario del sector Ambiente y Desarrollo Sostenible.

**Decreto No. 0303 de 2012.** Por el cual se reglamenta parcialmente el artículo 64 del decreto – ley 2811 de 1974 en relación con el Registro de Usuarios del Recurso Hídrico y se dictan otras disposiciones.

**Decreto No. 2667 de 2012.** Por el cual se reglamenta la tasa retributiva por la utilización directa e indirecta del agua como receptor de los vertimientos puntuales y se toman otras disposiciones.

**Decreto No. 1640 de 2012.** Por medio del cual se reglamentan los instrumentos para la planificación, ordenación y manejo de las cuencas hidrográficas y acuíferos y se dictan otras disposiciones.

**Decreto No. 2372 de 2010.** Por el cual se reglamenta el decreto ley 2811 de 1974, la ley 99 de 1993, la ley 165 de 1994 y el decreto ley 216 de 2003, en relación con el Sistema Nacional de Áreas Protegidas, las categorías de manejo que lo conforman y se dictan otras disposiciones.

**Decreto No. 3930 de 2010.** Por el cual se reglamenta parcialmente el Título I de la ley 9 de 1979, así como el Capítulo II del Título VI –Parte III – Libro II del decreto – ley 2811 de 1974 en cuanto a usos del agua y residuos líquidos y se dictan otras disposiciones.

**Decreto No. 4728 de 2010.** Por el cual se modifica parcialmente el decreto 3930 de 2010

**Decreto No. 1875 de 1979.** Por el cual se dictan normas sobre la prevención de la contaminación del medio marino y otras disposiciones.

**Decreto No. 1541 de 1978.** Por el cual se reglamenta la Parte III del libro II del decreto – ley 2811 de 1974, de las aguas no marítimas y parcialmente la ley 23 de 1973.

**Decreto No. 2811 de 1974.** Por el cual se dicta el Código Nacional de Recursos Naturales Renovables y de Protección al Medio Ambiente.

**Ley No. 1625 de 2013.** Por el cual se deroga la ley orgánica 128 de 1994 y se expide el régimen para las áreas metropolitanas.

**Ley No. 373 de 1997.** Por la cual se establece el programa para el uso eficiente y ahorro del agua.

**Ley No. 161 de 1994.** Por la cual se organiza la Corporación Autónoma Regional del Río Grande de la Magdalena, se determinan sus fuentes de financiación y se dictan otras disposiciones.

**Ley No. 99 de 1993.** Por la cual se crea el Ministerio del Medio Ambiente, se reordena el sector público encargado de la gestión y conservación del medio ambiente y los recursos naturales renovables, se organiza el Sistema Nacional Ambiental, SINA y se dictan otras disposiciones.

**Ley No. 10 de 1978.** Por medio de la cual se dictan normas sobre mar territorial, zona económica exclusiva, plataforma continental y se dictan otras disposiciones.

**Ley No. 23 de 1973.** Por medio de la cual se conceden facultades extraordinarias al Presidente de la Republica para expedir el Código de Recursos Naturales y de Protección al Medio Ambiente y se dictan otras disposiciones.

**Resolución No. 0631 de 2015.** Por el cual se establecen los parámetros y los valores máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público y se dictan otras disposiciones.

**Resolución No. 1207 de 2014.** Por la cual se adoptan disposiciones relacionadas con el uso de aguas residuales tratadas.

**Resolución No. 1907 de 2013.** Por la cual se expide la Guía Técnica para la formulación de los planes de ordenación y manejo de cuencas hidrográficas.

**Resolución No. 1514 de 2012.** Por la cual adoptan los términos de referencia para la elaboración del plan de gestión del riesgo para el manejo de vertimientos.

**Resolución No. 0075 de 2011.** Por la cual se adopta el formato de reporte sobre el estado de cumplimiento de la norma de vertimiento puntual al alcantarillado público.

**Resolución No. 4716 de 2010.** Por medio de la cual se reglamenta el parágrafo del artículo 15 del decreto 1575 de 2007.

**Resolución No. 104 de 2003.** Por la cual se establecen los criterios y parámetros para la clasificación y priorización de cuencas hidrográficas.

**Resolución No. 0081 de 2001.** Por la cual se adopta un formulario de información relacionada con el cobro de la tasa retributiva y el estado de los recursos y se adoptan otras determinaciones.

**Resolución No. 372 de 1998.** Por la cual se actualizan las tarifas mínimas de las tasas retributivas por vertimientos líquidos y se dictan otras disposiciones.

### 3. Metodología

#### 3.1 Ubicación

El canal Los Ángeles es el mayor afluente que tiene el humedal Jaboque, está ubicado en la zona nor-occidental de la ciudad de Bogotá D.C. en la localidad décima de Engativá y sus aguas atraviesa barrios de la ciudad como: El Refugio, Floridablanca, Maratu, Porral de Álamos, Álamos, El Muelle y Los Ángeles, su trayecto está comprendido entre la avenida ciudad de Cali (carrera 86) con calle 66 a - hasta la carrera 105 f con calle 68 c. Figura 5.

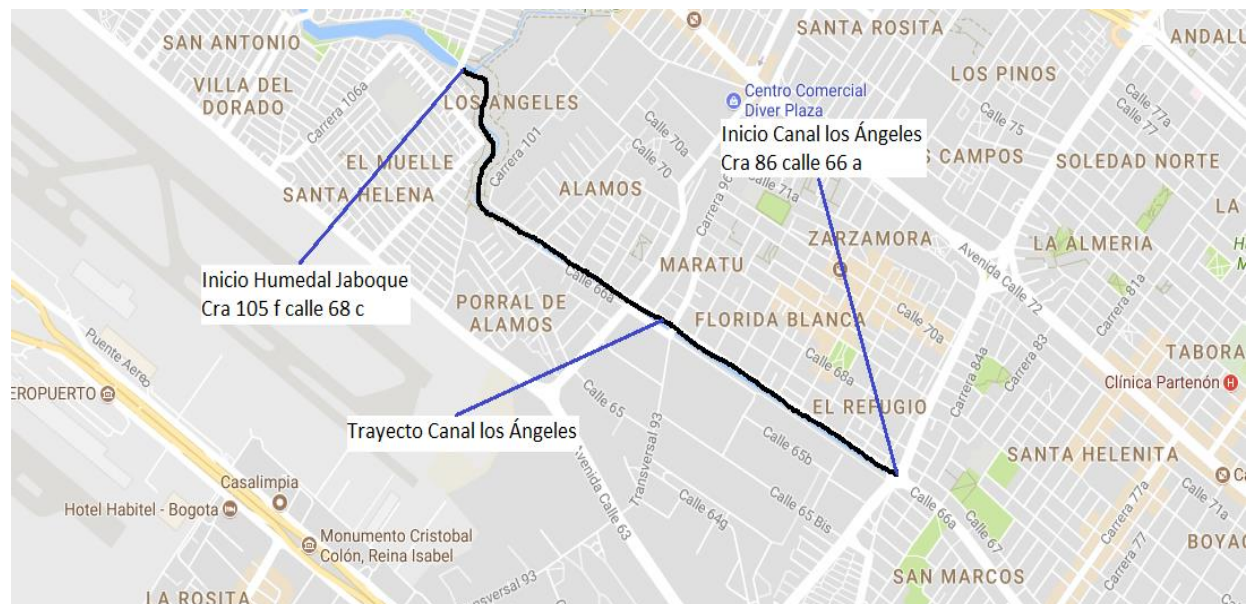


Figura 5. Trayecto Canal los Ángeles

Fuente: Google Maps

La Figura 5 muestra en línea negra el trayecto total del Canal Los Ángeles, comprende una distancia de 2,17 km aproximadamente, se describe el punto de inicio y punto final del canal.

#### 3.2 Diseño de la Investigación

Etapas 1: Identificar los puntos críticos a lo largo del Canal Los Ángeles donde pueda haber presencia de cobre (Cu).

Etapa 2: Utilizar las tiras reactivas factor simple *In Situ*, en los distintos puntos críticos para evaluar el nivel de concentración de cobre, de una vez tomar muestras de agua residual en estos puntos para llevar y analizar en laboratorio analítico.

Etapa 3: En laboratorio mediante el uso de la técnica del colorímetro medir la concentración de cobre, tomar el pH y conductividad en las distintas muestras traídas del canal.

Etapa 4: Aislar cepas bacterianas a partir de muestras de agua residual del canal para evaluar la biosorción de cobre.

Etapa 5: Analizar los resultados obtenidos.

### **3.3 Identificación de Puntos Críticos**

Para identificar los puntos de muestreo dentro de cada tramo se caracterizó la zona de estudio de acuerdo a los puntos donde posiblemente hay presencia de cobre (Cu), para ello es importante priorizar los puntos de descarga de aguas residuales, los sitios donde hay sedimentos del curso de agua, en especial los sedimentos de limos y arcillas que son el sustrato más importante para la fijación de metales pesados, en algunas partículas del suelo, en las aguas superficiales sobre las partículas de lodos o como iones libres, asentamientos industriales.

**3.3.1 Identificación zona de estudio.** El trayecto del Canal Los Ángeles comprende una distancia aproximada de 2,17 km (2170m), la mayor parte de este trayecto es por la calle 66ª zona nor-occidental de la ciudad y está dentro de la zona industrial de álamos, para el desarrollo de la fase de observación se hizo un recorrido previo a lo largo del canal y se revisó los sitios más apropiados que cumpliera con las condiciones descritas anteriormente, para identificar los puntos de muestreo.





Figura 7. Puntos de inicio y final del Canal los Ángeles - Bogotá

Fuente: El autor

### 3.4 Medición de Concentración de cobre (Cu)

**3.4.1 Tiras reactivas factor simple.** En la actualidad existe un gran número de dispositivos y métodos para determinar los parámetros de la calidad del agua, en esta investigación se hace énfasis en la detección de cobre en el Canal Los Ángeles de la ciudad de Bogotá D.C. mediante el uso de tiras reactivas factor simple y la técnica del colorímetro en laboratorio. Según ANSAM, s.f. afirma: El procedimiento es simple, solo basta con sumergir la tira en una pequeña cantidad de muestra de agua *In Situ* y realizar una comparación de color, obteniendo resultados rápidos y precisos. La fórmula para el cobre, diseñada para desarrollar un color estable, permite comparar colores muy distintos, proporcionales a la concentración de cobre. La tira reactiva contiene pequeñas almohadillas de químicos que cambian de color cuando entran en contacto con la sustancia de interés a analizar. Las siguientes son las especificaciones: Factor: Cobre Intervalo: 0 – 3 (ppm) Escala: 0, 0.3, 0.6, 1 y 3 (ppm) (Escala de 5 valores) Código: 2991 – G Aplicación de análisis de agua: Agua potable, albercas No. de pruebas por tubo: 25

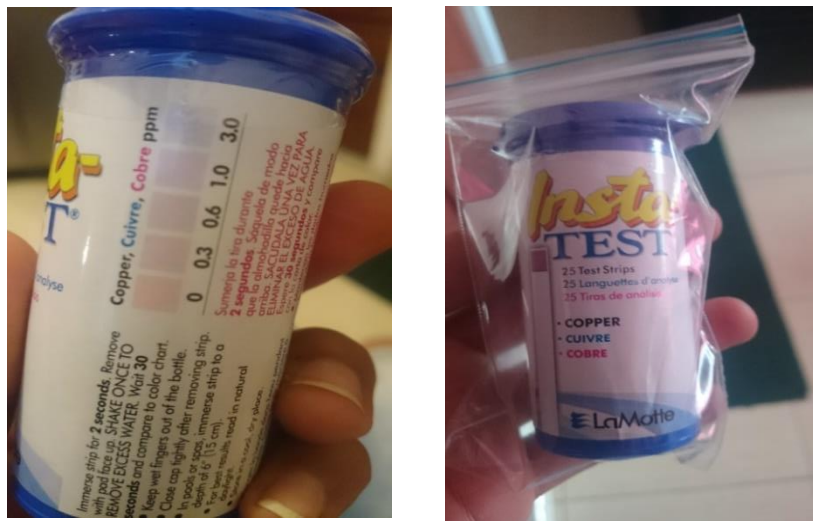


Figura 8. Tubo y escala colorimétrica Fuente: El autor

Para medir la concentración de cobre en cada punto de muestreo se utilizaron las tiras reactivas sumergiéndolas en cada punto de muestreo, luego de la respectiva reacción se hizo el respectivo contraste con la escala colorimétrica, Figura 8, la concentración del cobre está dada en partes por millón (ppm).



Figura 9. Evaluación de presencia de cobre mediante tiras reactivas Fuente: El autor

Las tiras reactivas se probaron a lo largo de todo el canal, en los diferentes tramos y en los distintos puntos de muestreo, como se indica en la Figura 9.

**3.4.2 Comprobación efectividad de las tiras en laboratorio.** Para comprobar la efectividad de las tiras reactivas factor simple se prepararon diferentes muestras en laboratorio con soluciones de agua destilada y sulfato de cobre a concentraciones predeterminadas, la Figura 10, muestra el pesaje del sulfato de cobre, preparación de la solución.

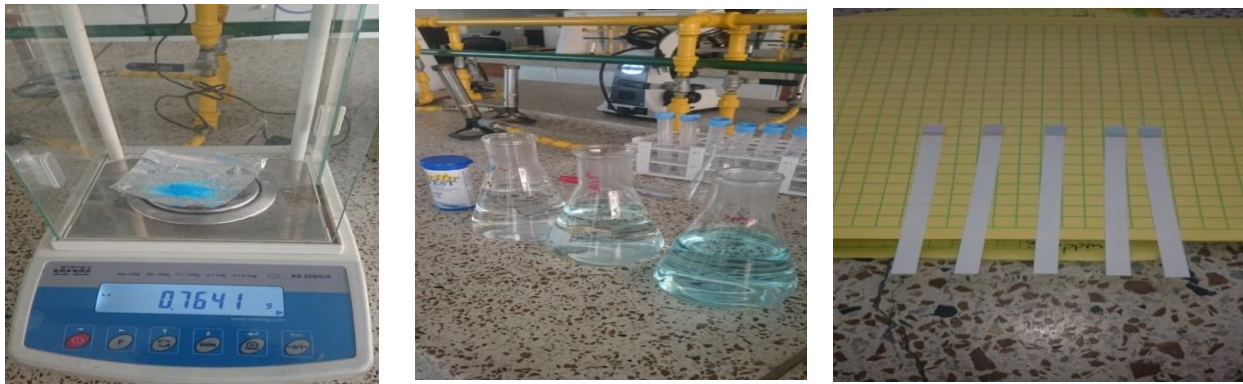


Figura 10. Prueba en laboratorio de las tiras reactivas

Fuente: El autor

**3.4.3 Toma de muestras de agua residual del canal.** A medida que se probaron las tiras reactivas *in situ* en los diferentes puntos de muestreo del canal, se fueron tomando las muestras



Figura 11. Toma de muestras de agua residual del Canal los Ángeles

Fuente: El autor

de agua residual de forma correspondiente, se llevaron las muestras para laboratorio teniendo en cuenta de seguir el protocolo de cadena de custodia, la Figura 11 muestra la toma de muestras de agua residual del canal.

**3.4.4 Medición de concentración de cobre mediante el colorímetro.** El medidor HI 93702 mide la concentración de cobre en agua y aguas residuales, en un rango de 0.00 a 5.00 mg/L (ppm), el medidor tiene un sistema de bloqueo en el sitio donde se pone la muestra para garantizar que se encuentre en el mismo sitio cada vez que se coloca en la celda de medición.

El colorímetro, es un instrumento multiparámetro el cual se debe programar para medición de concentración de cobre (P 11 o P 12) dependiendo si se considera alto rango o bajo rango respectivamente, para preparar la muestra se debe agregar a la misma el reactivo que viene pulverizado, la cantidad de reactivo se dosifica con precisión para garantizar la confiabilidad de la lectura. Figura 12.

Los códigos en pantalla ayudan en las operaciones de rutina, la reacción entre el cobre y el reactivo provoca un tinte púrpura en la muestra, el colorímetro utiliza un sensor luminoso de fotocélula de silicona, el método es bicinchominate, aprobado por la EPA (environmental protection agency), tiene una precisión de  $\pm 0.02$  mg/L  $\pm 4\%$  de lectura, la fuente luminosa tiene un diodo emisor a 555 nm. (Hanna instruments, 1998)



Figura 12. Reactivo cobre alto rango y colorímetro

Fuente: El autor

Se dispuso a tomar la concentración de cobre en las diferentes muestras de agua residual del canal mediante el uso del colorímetro y el reactivo de alto rango HI en laboratorio como lo indica la Figura 12, a las muestras también se les tomó el pH y conductividad con el uso del pH – metro y el conductímetro respectivamente, la conductividad está dada en milisiemens por centímetro, la concentración de cobre en partes por millón y el pH es la cantidad de iones de hidrógeno.



Figura 13. Puntos de muestreo (5)

Fuente: Google Maps

En la Figura 13, se identifica los cinco puntos de muestreo con su respectiva dirección a lo largo del canal, en cada uno de ellos se recogieron las muestras de agua residual para analizar en laboratorio.

### 3.5 Aislamiento de las Cepas Bacterianas

**3.5.1 Medio de cultivo sólido (LB).** La Tabla 3 describe la forma de preparación del medio de cultivo sólido Luria Bertani para 1l de solución. Para esta investigación se utilizó agua destilada como solvente para preparar el medio de cultivo. La Figuras 15 y 16 registra el medio de cultivo sólido y su correspondiente esterilización en autoclave.

Tabla 3. Medio de cultivo sólido LB (caldo de Luria Bertani)

Medio de cultivo LB	
NaCL	10 g/l
Peptona	10 g/l
YE (Extracto de levadura)	5 g/l
Agar	15 g/l

Fuente: Luria Bertani – Scribd



Figura 14. Componentes medio de cultivo sólido y pesaje

Fuente: El autor

La Figura 14 muestra los componentes de medio de cultivo sólido y su correspondiente pesaje en balanza electrónica. Luego de preparar el medio de cultivo sólido, se dispone junto con las cajas Petri para su correspondiente esterilización en la autoclave.



Figura 15. Medio de cultivo sólido y esterilización en autoclave

Fuente: El autor

**3.5.1.1 Inoculación en medio sólido.** Primero se saca de la autoclave el frasco schott que contiene el medio de cultivo sólido, también se extraen las cajas Petri las cuales indican que se encuentran esterilizadas mediante la reacción que aparece en la cinta indicadora, el medio de cultivo sólido se funde mediante la placa de calentamiento para luego verterlo en las cajas Petri.



Figura 16. Fusión medio de cultivo sólido y cajas Petri esterilizadas

Fuente: El autor

Una vez enriquecido el inóculo en medio líquido, se procede a la correspondiente inoculación en medio sólido utilizando el asa bacteriológica. , teniendo especial cuidado de trabajar dentro de la zona de asepsia, propiciada por la llama del mechero. Figura 17.

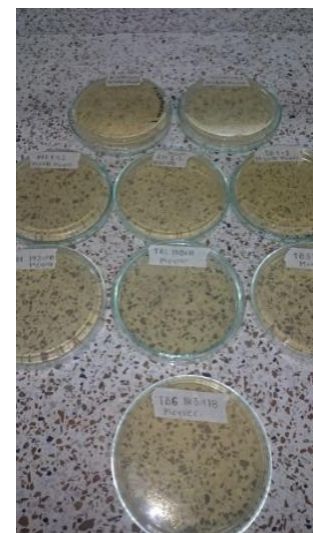
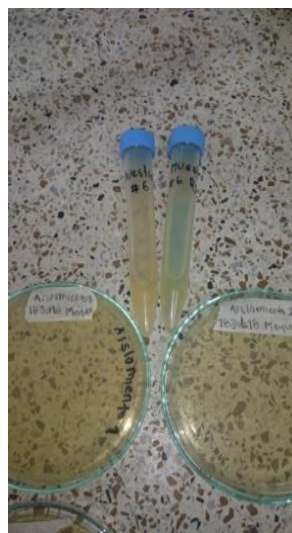


Figura 17. Inoculación en medio sólido

Fuente: El autor

La inoculación en medio sólido se hace a partir de cepas bacterianas aisladas provenientes de muestras del Canal Los Ángeles.

**3.5.2 Medio de cultivo líquido (LB).** A diferencia del medio de cultivo sólido, el medio de cultivo líquido no contiene agar (solidificante), el medio de cultivo líquido está constituido por NaCl + Peptona + Extracto de levadura + Agua destilada.

**3.5.2.1 Inoculación en medio líquido.** Se toma con la pipeta la alícuota de muestra de agua residual del canal y se inocula en medio líquido, posteriormente se incubaron los tubos a 37 °C durante 24 horas como se indica en la Figura 18.

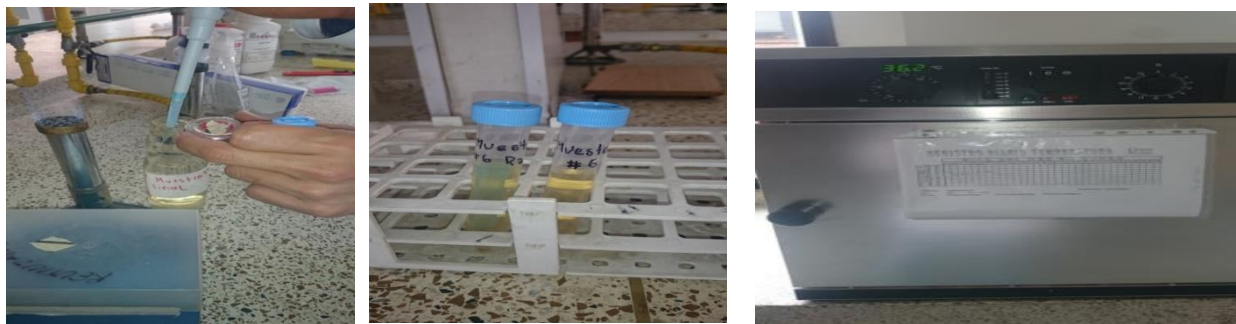


Figura 18. Inoculación en medio líquido, incubación a 37°C por 24 horas Fuente: El autor

### 3.6 Tinción Gram

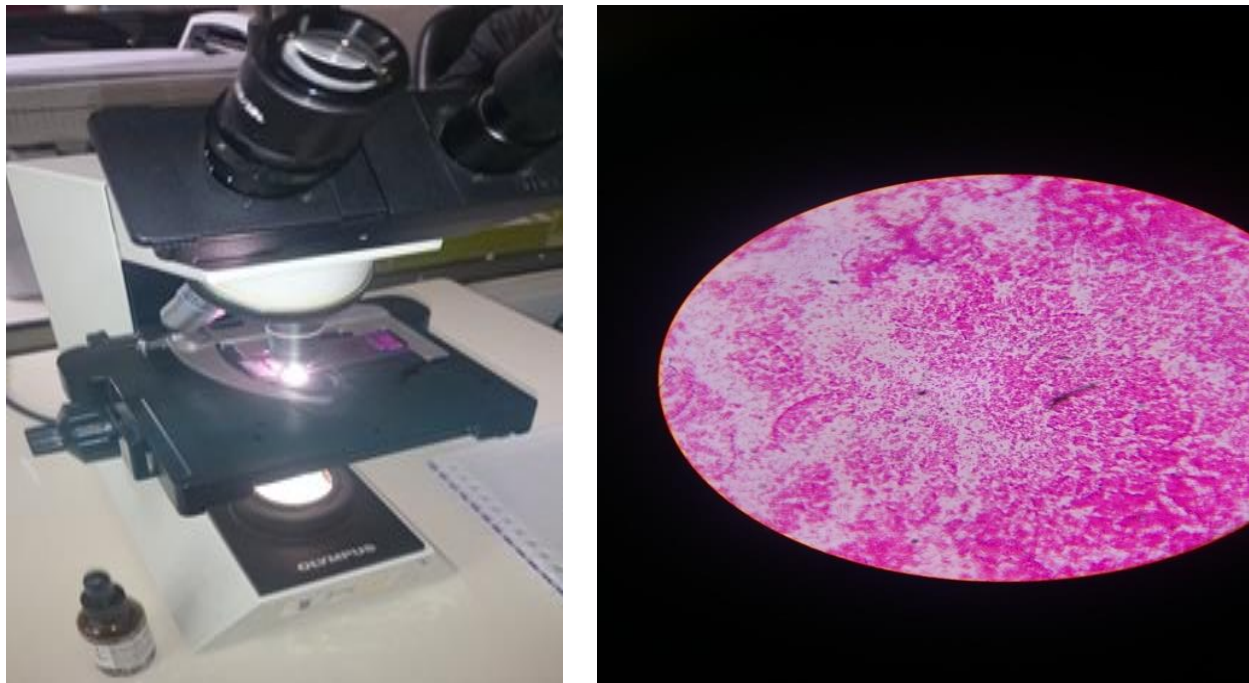
Para hacer la identificación de los distintos tipos de bacterias se llevó a cabo la coloración de Gram, primero se puso las respectivas muestras de las cepas bacterianas en los portaobjetos utilizando el asa bacteriológica, el mechero, trabajando en la zona de asepsia, cada portaobjeto se marcó debidamente y se dispuso hacer la coloración Gram.



Figura 19. Protocolo para la coloración de Gram

Fuente: El autor

La Figura 19 muestra los portaobjetos y reactivos para hacer la coloración Gram, primero se utiliza el cristal violeta se deja un minuto y se enjuaga con agua destilada, luego se aplica lugol de Gram por un minuto y se enjuaga, luego se aplica alcohol acetona por 10 segundos, por último la fucsina un minuto y se enjuaga, se deja secar para posteriormente llevar al microscopio.



*Figura 20.* Vista de bacterias al microscopio - objetivo de 100x

Fuente: El autor

La Figura 20 registra el detalle de una de las cepas bacterianas al observarse al microscopio con el objetivo de 100x y aceite de inmersión, en este caso la gran mayoría de cepas, por no decir todas resultaron Gram negativas puesto que tiñeron de color rosado-rojizo.

Las cepas fueron nombradas de la siguiente forma: CH1, CH2, M1, M2, M3, M4 y M5, las cepas CH1 y CH2 pertenecen a las reservas del cepario del semillero de investigación Metamorfo de la UNAD y son provenientes de manantiales de aguas termales del departamento de Cundinamarca, las otras cinco cepas bacterianas son provenientes de las aguas residuales del Canal Los Ángeles de la ciudad de Bogotá D.C.

### 3.7 Prueba de Resistencia de las Cepas Bacterianas

Para probar la resistencia de las cepas bacterianas a la presencia de cobre y así escoger las más resistentes para la prueba de biosorción, las cepas aisladas se, se inocularon en medio de cultivo líquido en los tubos de ensayo adicionando la respectiva alícuota de la solución madre sulfato de cobre para obtener concentraciones de 100, 250 y 400 ppm. Cada una de estas condiciones fue evaluada por triplicado para cada cepa obtenida del proceso de aislamiento.



Figura 21. Preparación y esterilización medio de cultivo líquido

Fuente: El autor

La Figura 21 evidencia la preparación y esterilización del medio de cultivo líquido para su posterior inoculación e incubación a 37°C durante 24 horas, luego se preparó una solución de 50 ml de agua des ionizada y 0,5 g de sulfato de cobre pentahidratado  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  para obtener una concentración de 10000 ppm como se muestra en la Figura 22.



Figura 22. Preparación muestras prueba de resistencia

Fuente: El autor

La Figura 23 registra las muestras sobre el agitador orbital para favorecer la reacción.



Figura 23. Agitador orbital Fuente: El autor

**3.7.1 Medición de absorbancia.** El parámetro para medir el efecto de la concentración de cobre sobre el crecimiento bacteriano es la turbidez del medio, cuantificado a través de la absorbancia, teniendo en cuenta que hay una relación directamente proporcional de la turbidez con la concentración celular presente en el medio de cultivo.

la absorbancia se mide a determinada longitud de onda  $\lambda$ , se midió en este caso el grado de absorbancia de las diferentes muestras mediante el UV-VIS Espectrofotómetro, calibrado a 600 nm de longitud de onda, Figura 24.



Figura 24. Medición absorbancia mediante espectrofotómetro

Fuente: El autor

Se llenó primero una celda con medio de cultivo líquido sin inocular y se procedió a hacer la medición con el espectrofotómetro como muestra de control para la determinación de la

línea base, luego una a una se fue ubicando las distintas muestras que contenían el medio líquido con la cepa bacteriana y la alícuota de  $\text{CuSO}_4$  en el espectrofotómetro para medir su absorbancia, por cada muestra se tomaron dos réplicas, manejando concentraciones de cobre de 100, 250 y 400 ppm respectivamente, para determinar cuál de las cepas aisladas tenía mayor resistencia a la presencia del metal, en el caso de las muestras M1 y CH2 se tuvo que diluir a la mitad su concentración porque presentaba datos por encima de uno (1), la cual las hace interesantes por su alto grado de absorbancia, aunque se debe tener en cuenta que los valores de absorbancia aceptables oscilan entre 0 - 1, valores altos y bajos de absorbancia son poco confiables porque se producen errores sistemáticos ya que la concentración de solutos disueltos pueden alterar el valor leído por el espectrofotómetro, la absorbancia de la muestra es directamente proporcional a la concentración de la misma (ley de Beer – Lambert). La absorbancia mide la cantidad de luz absorbida por la solución, la absorbancia es la cuantificación de la cantidad de energía radiante absorbida por las moléculas de una muestra en función de las longitudes de onda.

Luego de este resultado se hizo el análisis de adsorción del ión  $\text{Cu}^{*2}$ , se escogieron cuatro (4) cepas bacterianas (CH1, CH2, M1 y M3) que se inocularon por triplicado y que son las más resistentes a la concentración de sulfato de cobre ya que de acuerdo a la prueba fueron las cepas que presentaron mayor grado de absorbancia, nuevamente se preparó 200 ml de medio de cultivo sólido LB y 800 ml de medio de cultivo líquido LB, se dispuso el medio líquido en los tubos de ensayo plástico, frascos y erlenmeyers de a 25 ml de forma correspondiente cada uno, el medio sólido en un frasco schott, junto a ellos las cajas Petri y se procedió a esterilizar en la autoclave a  $120^\circ\text{C}$  por 15 minutos.

Se procedió a inocular por triplicado en medio líquido las cepas bacterianas escogidas como se evidencia en la Figura 25, se dispuso posteriormente a ubicarlas en el agitador orbital

durante 12 horas para luego realizar el correspondiente ensayo de biosorción de cobre.

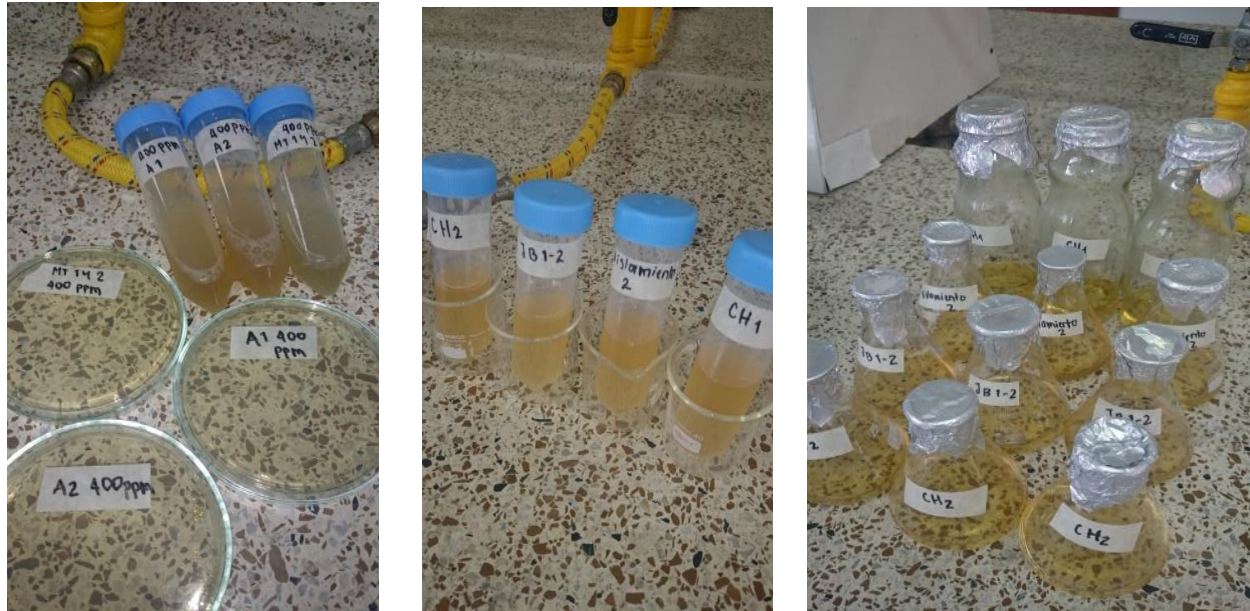


Figura 25. Inoculación en medio líquido por triplicado

Fuente: El autor

### 3.8 Prueba de Biosorción de Cobre Mediante las Cepas Bacterianas

**3.8.1 Con biomasa viva.** A cada una de las muestras de 25 ml inoculadas con las 4 cepas bacterianas por triplicado en medio líquido, se les adicionó una alícuota de la solución de sulfato de cobre de 10000 ppm de concentración preparada anteriormente, para obtener una concentración de 100 ppm, utilizando la fórmula para calcular la dilución,  $V_1 = (25 \text{ ml} \times 100 \text{ ppm}) / 10000 \text{ ppm} = 0,25 \text{ ml} = 250 \text{ } \mu\text{l}$ , posteriormente se pasaron las muestras al agitador durante doce horas para acelerar la biosorción bacteriana, luego con el colorímetro y siguiendo el protocolo de medición de cobre alto rango (HI), se tomaron las concentraciones de cobre respectivamente.

**3.8.2 Con biomasa muerta.** Para esta parte se inocularon tubos de ensayo que contenían 25 ml de medio líquido, se adicionó 1 ml de inóculo de cada una de las muestras con cepas bacterianas de la siguiente forma: M3, M1, CH1, CH2, todas por triplicado. Luego estas muestras se ubicaron en la incubadora a 37°C durante 12 horas para favorecer su crecimiento,

posteriormente se pasaron a cajas Petri y luego al horno MEMMERT a una temperatura de 100 °C durante 48 horas para desecar la biomasa, a esta temperatura las bacterias no sobreviven y por eso se habla de biosorción con biomasa muerta, como lo registra la Figura 27.



Figura 26. Dsecación muestras en horno MEMMERT

Fuente: El autor

Posteriormente esta biomasa muerta se retiró de las cajas Petri y se alistó de forma parecida a la harina como lo indica la Figura 26, se hizo un pesaje de 0,40 gr de biomasa muerta por cada cepa bacteriana en la balanza digital, se adicionó de forma independiente cada una de ellas a tubos de ensayo de 25 ml de agua destilada más 125 µl de la solución que se tenía de 10000 ppm de  $\text{CuSO}_4$  para obtener una solución de 50 ppm de acuerdo a la fórmula de dilución, estas muestras se ubicaron luego en el agitador vibrador para acelerar el proceso de biosorción, aparte de las 10 muestras, se alistaron 3 muestras de control con agua destilada y  $\text{CuSO}_4$  únicamente, se hizo medición de la concentración de cobre con el uso del colorímetro durante la primera, segunda y cuarta hora posteriores, se tuvo en cuenta que las muestras tenían un pH de 4 (ligeramente ácido) y se trabajó a una temperatura ambiente de 20°C factores que favorecen el proceso de biosorción de cobre.

### 3.9 Flujograma Metodológico del Proyecto

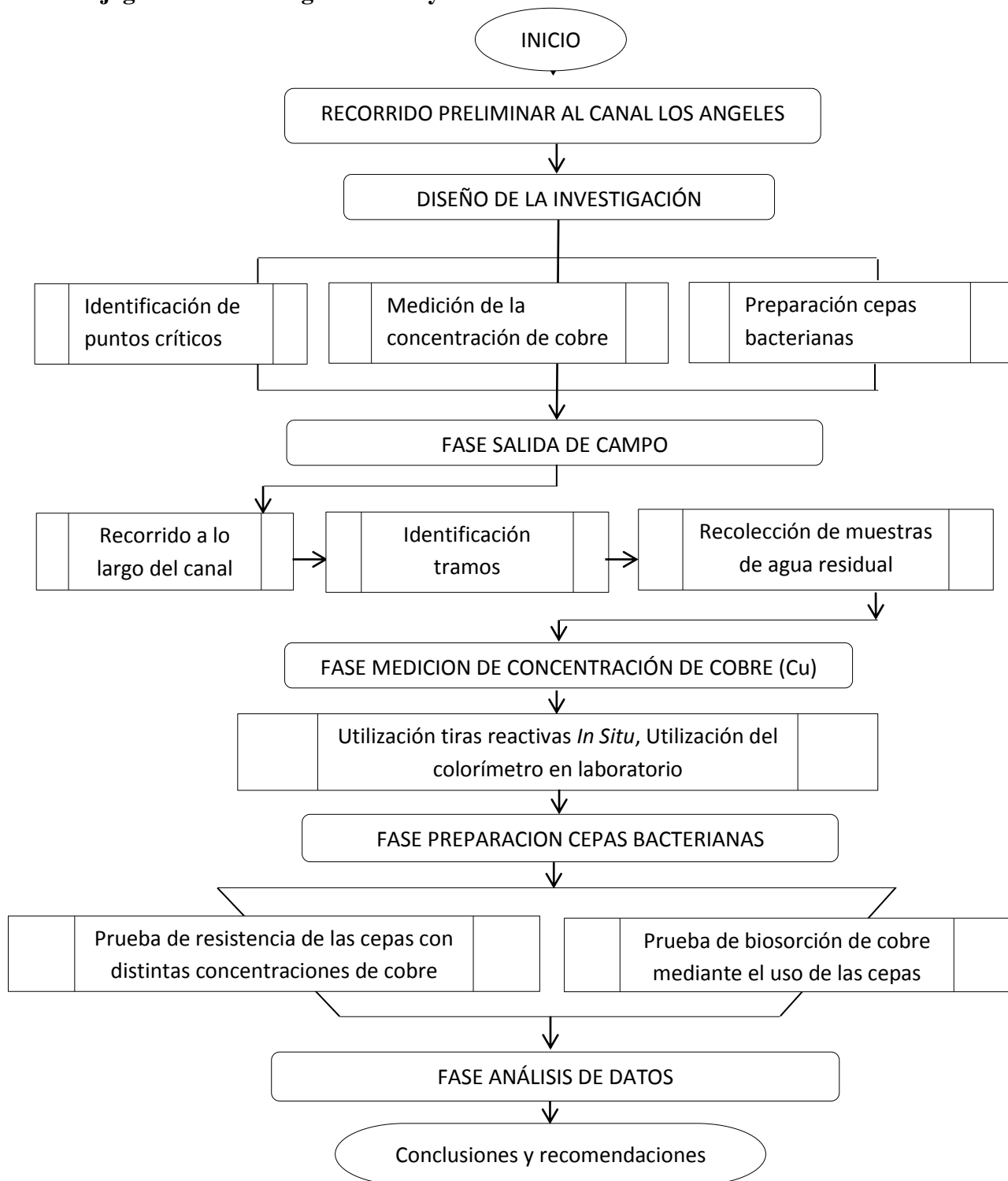


Figura 27. Diagrama de flujo del proyecto

Fuente: El autor

#### 4. Análisis de Resultados Obtenidos

##### 4.1 Resultado Concentración de Cobre, pH y Conductividad

Resultados arrojados por las muestras de agua residual tomadas a lo largo del Canal Los Ángeles de la ciudad de Bogotá, estos resultados fueron obtenidos en laboratorio.

Tabla 4. Resultados pH, conductividad y concentración de cobre

Muestra	PH	Conductividad [ms / cm]	Concentración de cobre (Cu) [ppm]		
1-(Av Cali – calle 66 <sup>a</sup> )	6.99	3.65	R1=0.41	R2=0.42	R3=0.23
2-(Cra 90 <sup>a</sup> -calle 66 a)	7.0	1.84	R1=0.18	R2=0.24	R3=0.07
3-(Cra 95-calle 66 a)	6.83	1.73	R1=0.41	R2=0.48	R3=0.5
4-(Cra 101-calle 66 a)	6.85	1.53	R1=0.5	R2=0.43	R3=0.38
5-(Cra 105f-calle 68c)	6.75	1.58	R1=0.38	R2=0.20	R3=0.14

Fuente: El autor

La Tabla 4 registra los resultados arrojados de pH, conductividad y concentración de cobre (Cu), en las cinco (5) muestras de agua residual tomadas a lo largo del Canal, la medición se hizo en laboratorio usando el pHmetro, conductímetro y colorímetro respectivamente.

**4.1.1 Resultado tiras reactivas factor simple.** Las ventajas del uso de tiras reactivas es que se pueden usar *In situ*, sin necesidad de una rigurosa toma de muestra, transporte, conservación y ejecución del análisis en el laboratorio por parte de personal especializado, permite hacer los análisis de forma rápida, simple, económica. Según las tiras reactivas no hay presencia de cobre en ninguna parte del canal, debido a que los niveles de concentración son a nivel traza de acuerdo a la medición realizada en laboratorio mediante el colorímetro, lo cual demostró que la técnica mediante las tiras no es recomendable para este tipo de proyectos, a

nivel de laboratorio las tiras arrojaron resultados positivos debido a que se probaron con soluciones de concentración de cobre más altas.

## 4.2 Tinción Gram

Luego de observar las distintas cepas bacterianas al microscopio se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 5. *Resultado* en microscopio de los tipos de bacterias

<b>Cepa bacteriana</b>	<b>Tipo de bacteria</b>
M1	Bacilos Gram negativos
M5	Bacilos Gram negativos
M2	Bacilos Gram negativos
CH2	Bacilos Gram positivos
CH1	Bacilos Gram positivos
M4	Bacilos Gram negativos
M3	Bacilos Gram negativos

Fuente: El autor

La Tabla 5 registra el tipo de cepas bacterianas aisladas provenientes de muestras de agua residual del Canal los Ángeles luego de observarlas al microscopio, la mayoría son de tipo Gram negativas ya que su pared celular se tiñó de color rosado, las cepas CH1 y CH2 son Gram positivas ya que tiñeron de azul oscuro.

## 4.3 Absorbancia

Con respecto a la prueba de resistencia de las cepas bacterianas se obtuvo el siguiente resultado de absorbancia mediante el uso del espectrofotómetro a 600 nm de longitud de onda. La Tabla 6, registra los datos de absorbancia obtenidos en las diferentes muestras analizadas. De acuerdo a este resultado se seleccionaron cuatro cepas bacterianas por ser la más resistentes ya que su grado de absorbancia es mayor, las cuales fueron: CH1, CH2, M1 y M3.

Tabla 6. Absorbancia de las muestras a distintas concentraciones

Muestra	100 ppm concentración	250 ppm concentración	400 ppm concentración
M5	R1 = 0.5832 R2 = 0.5709	R1 = 0.5325 R2 = 0.5363	R1 = 0.4913 R2 = 0.4929
M2	R1 = 0.2576 R2 = 0.2566	R1 = 0.2042 R2 = 0.2013	R1 = 0.1489 R2 = 0.1522
M3	R1 = 0.8564 R2 = 0.8613	R1 = 0.8335 R2 = 0.8350	R1 = 0.8766 R2 = 0.8832
M1	R1 = 0.7643 (x2) R2 = 0.8004 (x2)	R1 = 0.8596 (x2) R2 = 0.8512 (x2)	R1 = 0.7808 (x2) R2 = 0.7354 (x2)
M4	R1 = 0.8876 R2 = 0.8773	R1 = 0.8748 R2 = 0.8759	R1 = 0.8279 R2 = 0.8440
CH1	R1 = 0.8620 R2 = 0.8790	R1 = 0.8487 R2 = 0.8636	R1 = 0.8432 R2 = 0.8301
CH2	R1 = 0.9483 (x2) R2 = 0.9582 (x2)	R1 = 0.7919 (x2) R2 = 0.7502 (x2)	R1 = 0.8216 (x2) R2 = 0.8577 (x2)

Fuente: El autor

A continuación, se muestra la gráfica de los datos de absorbancia arrojados por las muestras a una concentración de 400 ppm de cobre, al cabo de 24 horas.

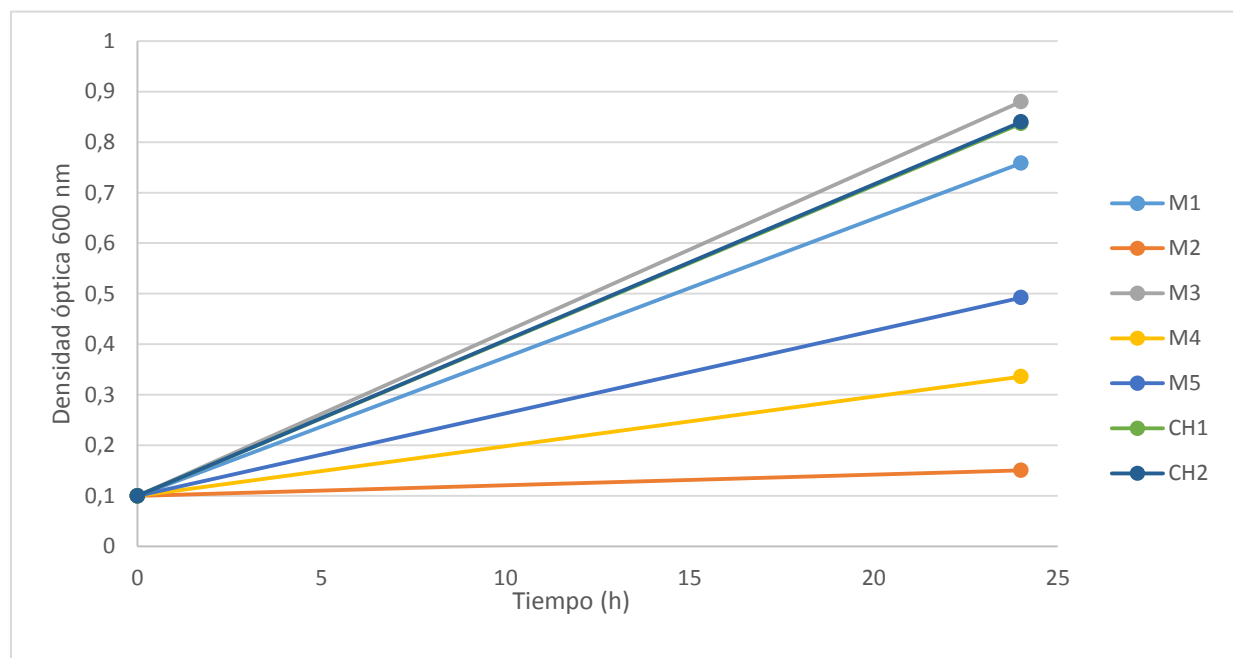


Figura 28. Absorbancia de las muestras a 400 ppm

Fuente: El autor

Como se registra en la Figura 28, las cepas con mayor densidad óptica, que evidenciaron mayor resistencia a la presencia de cobre son: CH1, CH2, M1 y M3. CH1 y CH2 provienen de muestras de aguas termales del municipio de Choachí Cundinamarca, M1 y M3 provienen de muestras de agua residual del canal, luego estas cuatro (4) cepas bacterianas fueron las escogidas para el posterior ensayo de biosorción de cobre, debido a que presentaron menor inhibición por parte del cobre, por ende su desarrollo bacteriano fue mayor.

#### 4.4 Prueba de Biosorción de Cobre con Biomasa Viva

Se obtuvieron los siguientes resultados luego de tomar la concentración de cobre alto rango HI mediante el uso del colorímetro.

Tabla 7. *Medición de concentración de cobre de las cepas bacterianas más resistentes*

MUESTRA	0h	12h
Control R1	27,8	27,8
Control R2	21,8	21,8
Control R3	23,4	23,4
M3 R1	27,8	15,4
M3 R2	21,8	20
M3 R3	23,4	18,4
CH2 R1	27,8	18,8
CH2 R2	21,8	13
CH2 R3	23,4	12,6
M1 R1	27,8	17,6
M1 R2	21,8	15,8
M1 R3	23,4	13,2
CH1 R1	27,8	29,4
CH1 R2	21,8	21,8
CH1 R3	23,4	16,6

Fuente: El autor

La Tabla 7, registra las mediciones de concentración de cobre en las muestras que contienen las cepas bacterianas más resistentes luego de realizar la prueba de biosorción de Cu

con biomasa viva, se inició con una concentración inicial a las 0 horas y luego se registraron los datos a las 12 horas.

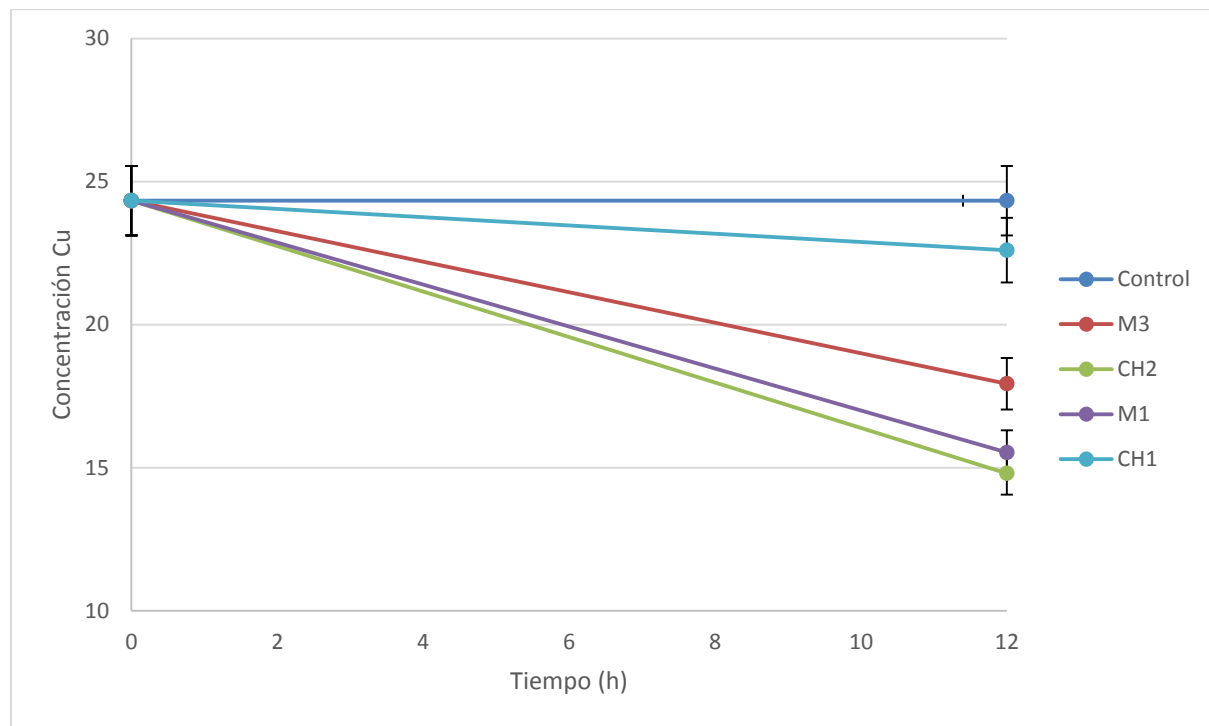


Figura 29. Prueba de biosorción de cobre con biomasa viva

Fuente: El autor

En la Figura 29, se observa que al cabo de las 12 horas la concentración de cobre en las distintas muestras disminuyó, debido a la acción biosorbente de las distintas cepas bacterianas, como se observa la cepa bacteriana denominada CH2 fue la que presentó mayor reducción de la concentración de  $\text{Cu}^{2+}$ .

En los ensayos de biosorción usando biomasa activa, la concentración experimental cuantificada mediante el método colorimétrico fue de  $24,3 \pm 0,2$  ppm de  $\text{Cu}^{+2}$ . Esta es una concentración cercana a la concentración teórica calculada. Ya en los ensayos de biosorción usando biomasa seca, la concentración inicial experimental fue muy diferente a la teórica, siendo de  $16,26 \pm 0,6$ , esto pudo haberse debido a que la solución madre llevaba algunos días

almacenada mientras se desarrollaban los ensayos, , probablemente también a un error de operación en el uso de la pipeta.

#### 4.5 Prueba de Biosorción con Biomasa Muerta

Luego de desecar las muestras y realizar la prueba de biosorción de cobre con la biomasa muerta se obtuvo los siguientes resultados:

Tabla 8. *Resultado prueba biosorción de cobre con biomasa muerta*

MUESTRA	0h	1h	2h	4h
Control R1	15,6	15,2	15,2	15,4
Control R2	16,4	15,8	13,8	11
Control R3	16,8	14,4	13,2	12,4
M1 R1	15,6	22,4	19,8	11,4
M1 R2	16,4	13,8	16,2	13,2
M1 R3	16,8	14,8	22,4	9
CH2 R1	15,6	12,6	16,6	14
CH2 R2	16,4	13,8	12	4,8
CH2 R3	16,8	16,6	15,6	6,6
M3 R1	15,6	14,2	21,2	11,8
M3 R2	16,4	13,2	11,8	8,6
CH1 R1	15,6	13,6	17,4	11
CH1 R2	16,4	13,2	13,2	9,8

Fuente: El autor

La tabla 8, registra los resultados de medición de concentración de cobre al cabo de una hora, a las dos horas y a las cuatro horas respectivamente, partiendo de una concentración inicial a las 0 horas, luego de realizar la prueba de biosorción de cobre con biomasa muerta proveniente de las cepas más resistentes (CH1, CH2, M1 y M3), a continuación la gráfica correspondiente.

El ensayo de biosorción con biomasa muerta, se implementó basándose en la metodología aplicada por (Tunali, Çabuk, & Akar, 2006), trabajo en el cual, para determinar si la disminución de la concentración de cobre en una solución acuosa se debía a una adsorción ajena a procesos

metabólicos, se aplicó la biomasa de las cepas aisladas a soluciones acuosas en presencia de cobre a diferentes concentraciones, en este trabajo, también se desecó al horno una alícuota del mismo volumen de cada una de las cepas.

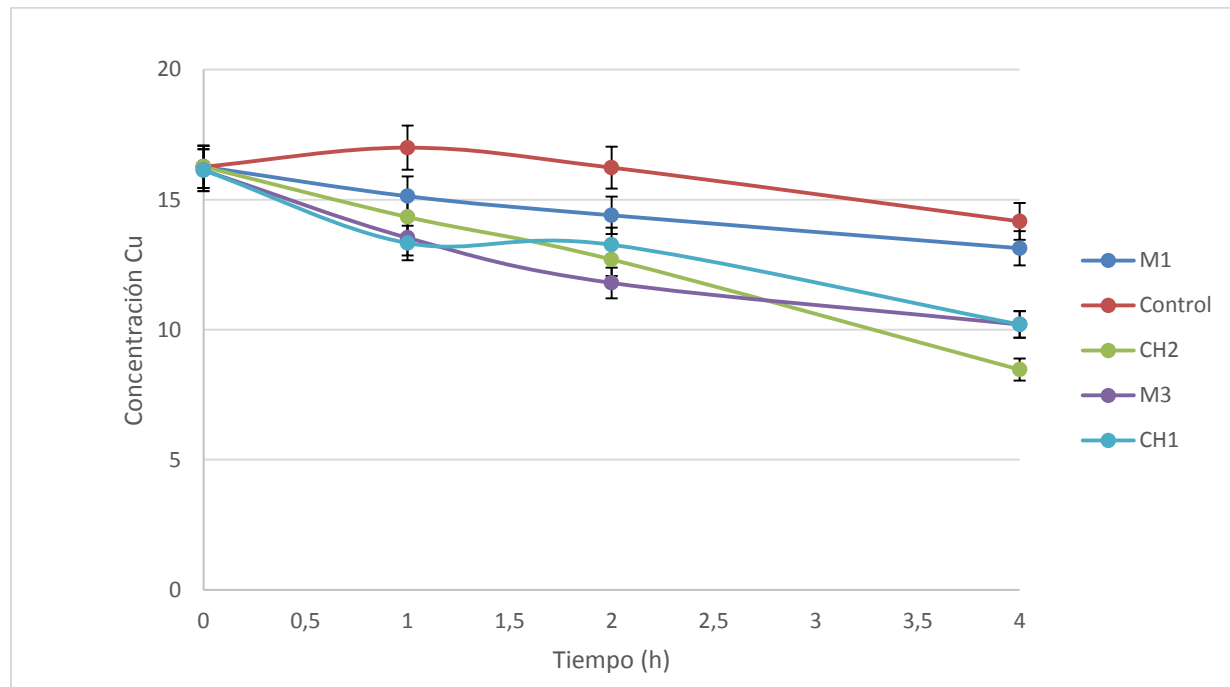


Figura 30. Prueba de biosorción de cobre con biomasa muerta

Fuente: El autor

La biomasa pulverizada se añadió a un Erlenmeyer de 125 ml, la concentración que se calculó a partir de la solución madre fue de 100 ppm, sin embargo, esta concentración corresponde a toda la molécula de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . La técnica usada en la determinación del cobre, tiene sensibilidad únicamente por el ion  $\text{Cu}^{+2}$ , teniendo en cuenta este hecho, la concentración teórica en la cual se desarrollaron los experimentos de biosorción fue de 26 ppm del ion  $\text{Cu}^{+2}$ , teniendo en cuenta que este elemento solo está presente en la molécula en una proporción del 26 % del total de la misma.

Como se observa en la Figura 30, las cepas codificadas como CH2, CH1 y M3 resultaron tratamientos que disminuyeron la concentración inicial de  $\text{Cu}^{+2}$  en la solución acuosa. Para

determinar si existían diferencias significativas con los tratamientos y el control, se realizó el cálculo del área bajo la curva de la concentración de cobre para cada una de las cepas, así como también en el control. Así, fue implementado un análisis de varianza ANOVA, de un solo factor, usando un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$  correspondiente a un intervalo de confianza del 95%. La Tabla 9 indica el respectivo análisis de varianza.

Tabla 9. *Análisis de varianza*

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
<b>Tratamiento</b>	4	439,3	109,81	7,26	0,005
<b>Error</b>	10	151,3	15,13		
<b>Total</b>	14	590,5			

Fuente: El autor

En este tipo de análisis se tiene como hipótesis nula que todas las medias son iguales y la hipótesis alterna es que no todas las medias son iguales. Si el valor de p es  $\leq \alpha$  (nivel de significancia de 0,05) se puede rechazar la hipótesis nula y concluir que no todas las medias son iguales. En el ensayo con biomasa seca el valor de p fue de 0,005 lo que indica que existe evidencia estadística para afirmar que no todas las medias de las áreas bajo la curva de adsorción de cobre (ABCAC) de los tratamientos son iguales. Los análisis estadísticos fueron realizados con el software minitab18 (funciones estadísticas básicas y avanzadas).

También se aplicó una prueba de medias de Tukey para evidenciar las diferencias significativas de los tratamientos con el control y entre los tratamientos, como se evidencia en la Figura 31, se pudo observar que las cepas codificadas como CH1, CH2 y M3 son las que presentan un resultado significativo en el proceso de biosorción, ya que estos intervalos no contienen cero. La Figura 32 muestra las agrupaciones de las medias de las áreas bajo la curva de

adsorción de  $\text{Cu}^{+2}$ . Los grupos que comparten letras, son tratamientos que no tienen diferencias significativas como resultado de la prueba de medias aplicada, como se indica en la Figura 32.

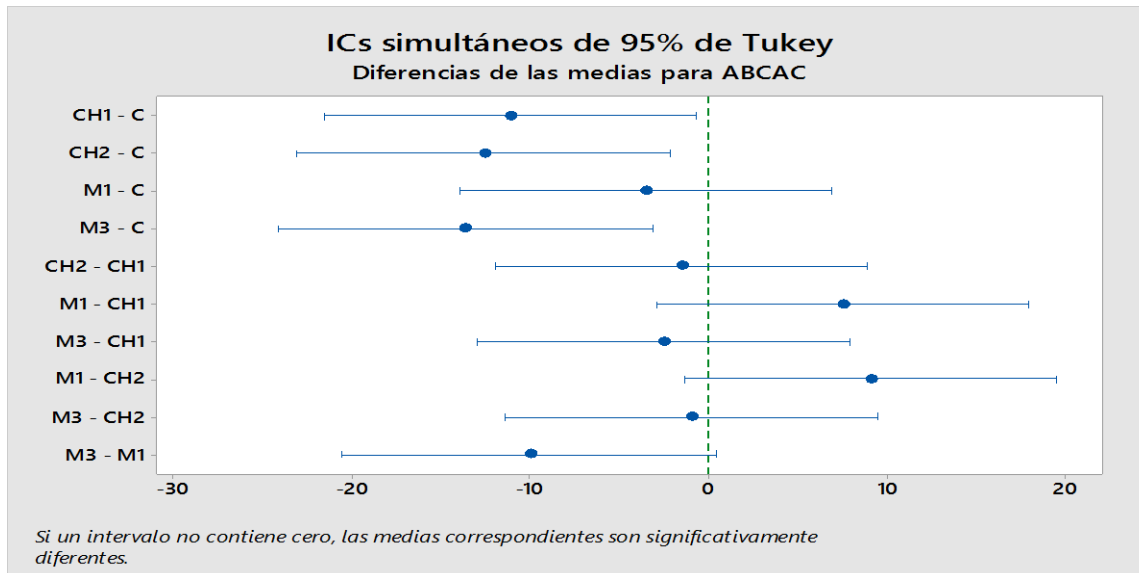


Figura 31. Diferencia de las medias para ABCAC

Fuente: El autor

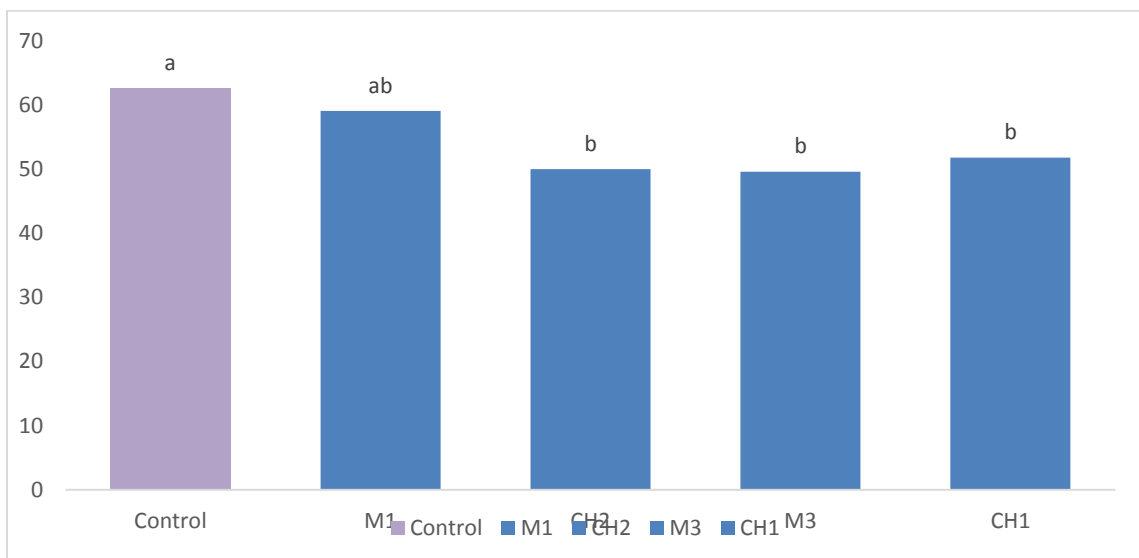


Figura 32. Agrupaciones de las medias de las áreas bajo la curva de adsorción de  $\text{Cu}^{+2}$

Las medias del ABCAC de los tratamientos CH1, CH2 y M3, presentan diferencias significativas al compararlas con el control. Con lo cual podemos concluir que la aplicación de dichos tratamientos si implica un efecto significativo sobre la variable concentración de cobre.

## 5. Conclusiones

-Gracias a que se hizo un sondeo en el área de los vertimientos puntuales de agua residual al canal, fue posible identificar los puntos, a lo largo del canal, que tenían mayor probabilidad de presencia de cobre.

-La concentración de cobre tomada en laboratorio mediante el colorímetro a las muestras de agua residual provenientes del canal no superaron los 0.5 mg/l, lo cual están dentro del valor máximo permisible de acuerdo a la norma.

-Se comprobó el potencial biosorbente de dos de las cepas aisladas de las muestras de agua residual proveniente del canal (M1 y M3), en donde la aplicación de la cepa denominada como M3, presento un efecto significativo en la disminución de la presencia de cobre en la solución acuosa evaluada. Igualmente las cepas CH1 y CH2, provenientes de manantiales termales del municipio de Choachi Cundinamarca, presentaron una disminución significativa de la concentración de cobre.

-Si se llevó a cabo un proceso de adsorción debido a que el cobre no se degrada ni química ni biológicamente, lo que lleva a inferir que no tuvo lugar un proceso metabólico intracelular sino que se debió a un proceso de atracción a nivel de la superficie de la pared celular.

-Se debe destacar que el proceso de biosorción del ión metálico, depende de condiciones como el pH inicial, concentración inicial del ión metálico y tiempo de contacto con la biomasa adsorbente.

### **Recomendaciones**

-Las tiras reactivas factor simple no indicaron nivel alguno de concentración de cobre al momento de ensayarlas *In Situ* en los puntos críticos de las aguas del canal, debido a que las concentraciones de cobre estaban por debajo del nivel de detección de la técnica y por lo tanto no se recomienda el uso de la misma para este tipo de proyectos.

### Referencias Bibliográficas

- Achal, V., Pan, X., & Zhang, D. (2011). Remediation of copper-contaminated soil by *Kocuria flava* CR1, based on microbially induced calcite precipitation. *Ecological Engineering*, 37(10), 1601–1605. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2011.06.008>
- Acherman, J. (2007). *Análisis del estado de alteración y contaminación del humedal Jaboque* (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.
- ANSAM. *Análisis y soluciones ambientales*, S.A. de C.V. Ciudad de México. Tiras reactivas. Recuperado de: <https://ansam.mx/tiras-reativas/>
- Ardila, A. y Arévalo, M. (2014). *Problemática humedal Jaboque*. Recuperado de <https://humedal-jaboque7.webnode.com.co/products/humedal-jaboque/>
- Castro, F. Moreno, L y Cruz, I. (2005). Evaluación de la calidad del agua y diagnóstico ambiental del humedal Jaboque. *Tecnogestión – una mirada al ambiente*. Volumen (2) Recuperado <https://revistas.udistrital.edu.co/ojs/index.php/tecges/article/view/4330/6336>
- Centro de Escritura Javeriano. (2018). *Normas APA Sexta Edición*. Recuperado de: [http://centrodeescritura.javerianacali.edu.co/index.php?option=com\\_content&view=article&id=138:normas-apa&catid=45:referencias-bibliograficas&Itemid](http://centrodeescritura.javerianacali.edu.co/index.php?option=com_content&view=article&id=138:normas-apa&catid=45:referencias-bibliograficas&Itemid)
- Fernando Londoño-Franco, L., Londoño-Muñoz, P. T., & Muñoz-García, G. (n.d.). LOS RIESGOS DE LOS METALES PESADOS EN LA SALUD HUMANA Y ANIMAL RISK OF HEAVY METALS IN HUMAN AND ANIMAL HEALTH RISCO DE METAIS PESADOS NA SAÚDE HUMANA E ANIMAL. *Bioteología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2). [https://doi.org/10.18684/BSAA\(14\)145-153](https://doi.org/10.18684/BSAA(14)145-153)
- Fundación Humedales de Bogotá. (2016). *Debido a #SOSjaboque, El TIEMPO se volverá parcerero del humedal?* Recuperado de: <http://humedalesbogota.com/2016/04/03/jaboque-pintado-azul-culpable-printer-colombiana-s-cuyo-dueno-la-casa-editorial-tiempo-s/>
- Hanna instruments (1998), *HI 93702 Copper High Range ISM*, . Recuperado de <http://www.hannacan.com/PDF/manHI93702.pdf>
- Hansda, A. Kumar, V. & Anshumali. (2015). Biosorption of copper by Bacterial Adsorbents: A Review. *Research Journal of Enviromental Toxicology*. Volumen (9). Pp 45-58. Recuperado de <https://scialert.net/fulltext/?doi=rjet.2015.45.58>
- Lorenzetti, Y., Grillo-Puertas, M., Scaravaglio, O., Cerioni, L., Volentini, S., & Rodríguez, L. (2012). Biorremediación de suelos y aguas conaminadas con cobre. Cepas mutantes de *Escherichia coli* presentan diferente capacidad depuradora del metal. *VII Congreso de Medio Ambiente /AUGM*, 30. Retrieved from <http://www.congresos.unlp.edu.ar/index.php/CCMA/7CCMA/paper/view/1088>

- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2015). *Decreto 1076 del 26 de mayo de 2015 por el cual se expide el Decreto Único Reglamentario del sector Ambiente y Desarrollo Sostenible*. Bogotá D.C. Congreso de la República de Colombia.
- Monge-Amaya, O., Valenzuela-García, J. L., Acedo-Félix, E., Certucha-Barragán, M. T., & Almendáriz-Tapia, F. J. (2008). Biosorción de cobre en sistema por lote y continuo con bacterias aerobias inmovilizadas en zeolita natural (Clinoptilolita). *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 24(3), 107–115.
- Noticias CARACOL. (2016). *Alerta ambiental por vertimiento de tinta en humedal Jaboque en Bogotá*. Recuperado de: <https://noticias.caracoltv.com/colombia/alerta-ambiental-por-vertimiento-de-tinta-en-humedal-jaboque-en-bogota>
- Redacción Bogotá. (26 de agosto de 2009). Acueducto evaluará daños causados por contratista en humedal Jaboque. *El ESPECTADOR*. Recuperado de <https://www.elespectador.com/noticias/bogota/articulo158020-acueducto-evaluara-danos-causados-contratista-humedal-jaboque>
- Tajudin, S. A. A., Azmi, M. A. M., & Nabila, A. T. A. (2016). Stabilization/Solidification Remediation Method for Contaminated Soil: A Review. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 136(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/136/1/012043>
- Tejada-Tovar, C., Villabona-Ortiz, Á., & Garcés-Jaraba, L. (2015). Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico. *Tecno Lógicas*, 18(34), 109–123. <https://doi.org/ISSN:0123-7799>
- Tunali, S., Çabuk, A., & Akar, T. (2006). Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil. *Chemical Engineering Journal*, 115(3), 203–211. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2005.09.023>

Anexos

Anexo A I. Especificaciones técnicas tiras reactivas ANSAM



TIRAS REACTIVAS




Ofrecemos una manera económica y rápida para el monitoreo sencillo de la calidad de agua de algunos factores como son:

Factor de prueba	Código	Rango (ppm)	Escala (ppm)	No. de pruebas
Alcalinidad	2997	0-180	0, 40, 80, 120, 180	50
Borato	3017-G	0-80	0, 15, 30, 50, 80	25
Cloro	4250-BJ	10-200	10, 50, 100, 200	200
Dióxido de Cloro Rango Bajo	2999LR	0-10	0, 0.25, 0.5, 1, 3, 10	50
Dióxido de Cloro Rango Alto	3002	0-500	0, 10, 25, 50, 100, 250, 500	50
Cloro Libre Rango Bajo	2964-G	0-10	0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 3, 10	25
Cloro Total Rango Bajo	2963LR-G	0-10	0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 3, 10	25
Cloro Libre Rango Alto	3031	0-800	0, 50, 100, 250, 500, 800	50
Cloro Total	2979	0-5	0, 0.5, 1, 3, 5	50
Cloruro de Sodio	2993	1000-4000	1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 4000	10
Cloruro de Sodio	2998	1500-5000	1500, 2000, 2500, 3000, 4000	5/10/50
Cobre	2991-G	0-3	0, 0.3, 0.6, 1, 3	25
Dureza Rango Bajo	2981	0-180	0, 30, 60, 120, 180	50
Fosfato Rango Bajo	3021	0-2500	0, 100, 200, 300, 500, 1000, 2500	25/50
Yodo	2948-BJ	12-100	12, 25, 50, 100	200
Molibdeno	3025	0-5	0, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0	50
pH Rango Amplio	2974	4-10 (pH)	4, 5, 6, 7, 8, 9, 10	50
Ácido Peracético Rango Bajo	3000LR	0-50	0, 5, 10, 20, 40, 50	50
Ácido Peracético Rango Alto	3000	0-160	0, 10, 20, 40, 60, 85, 160	50
Ácido Peracético Rango Alto	3000HR	0-1,000	0, 50, 100, 250, 500, 1000	50
QAC	2951	50-400	50-400	100
QAC Rango Alto	2951HR	200-1500	200, 400, 600, 1000, 1500	50
Peróxido de Hidrógeno	2984LR	0-50	0, 1, 3, 10, 30, 50	25
Peróxido de Hidrógeno Rango Alto	2984	0-90	0, 15, 30, 50, 90	25

**Tiras Reactivas Multi Parámetros**

Factor de Prueba	Código	Rango (ppm)	Escala (ppm)	No. de Pruebas
Cobre y Hierro	2994	0-5 (Hierro)	0, 0.3, 0.5, 1, 3, 5	25
		0-3 (Cobre)	0, 0.3, 0.6, 1, 3	
pH y Cloro Total Rango Amplio	2987	4-10 (pH)	4, 5, 6, 7, 8, 9, 10	25, 50
Nitratos y Nitritos	2996	0-50 (Cloro Total)	0, 1, 5, 10, 20, 50	50
		0-50 (Nitratos)	0, 5, 10, 25, 50 (NO3-N)	
Hierro, pH, Dureza	2980	0-10 (Nitritos)	0, 0.5, 1, 5, 10 (NO2-N)	25
		0-5 (Hierro)	0, 0.3, 0.5, 1, 3, 5	
		4-10 (pH)	4, 5, 6, 7, 8, 9, 10	
		0-400 (Dureza)	0, 50, 100, 200, 400	

**Código: 6903A-M**  
**Marca: LaMotte**  
**Pais de Origen: Estados Unidos**

Versalles No. 16- 402, esquina con Atenas, Col. Juárez, Del. Cuauhtémoc, México D.F. C.P. 06600

Ciudad de México: 5574 1811  
 Interior de la República: 01800 ANSAMSA  
 (2672672)

E-mail: contacto@ansam.mx  
 Web: www.ansam.mx

Anexo A 2. Instrucciones de uso tiras reactivas factor simple parámetro cobre

**Insta-TEST**  
 25 Test Strips  
 25 Languettes d'analyse  
 25 Tiras de análisis

• COPPER  
 • CUIVRE  
 • COBRE

**LaMotte**

**Immerse strip for 2 seconds.** Remove with pad face up. **SHAKE ONCE TO REMOVE EXCESS WATER.** Wait **30 seconds** and compare to color chart.

- Keep wet fingers out of the bottle.
- Close cap tightly after removing strip.
- In pools or spas, immerse strip to a depth of 6" (15 cm).
- For best results read in natural daylight.
- Store in a cool, dry place.

**Plongez la bande dans l'eau pendant 2 secondes.** Sortez-la de manière à ce que le coussinet reste en haut. **SECOUÉZ POUR ÉLIMINER L'EXCÈS D'EAU.** Attendez **30 secondes**, et comparez avec la carte de couleurs.

- Maintenir les doigts humides hors de la bouteille.
- Bien refermer le bouchon après avoir retiré la bande réactive.
- Pour les piscines et les spas, plonger la bande à une profondeur de 15 cm (6").
- Pour un meilleur résultat, réaliser la lecture à la lumière naturelle.
- Conserver dans un endroit frais et sec.

**Copper, Cuivre, Cobre ppm**

<b>0</b>	<b>0.3</b>	<b>0.6</b>	<b>1.0</b>	<b>3.0</b>

**Sumerja la tira durante 2 segundos.** Sáquela de modo que la almohadilla quede hacia arriba. **SACUDALA UNA VEZ PARA ELIMINAR EL EXCESO DE AGUA.** Espere **30 segundos** y compare con la carta de color.

- Mantenga los dedos húmedos fuera de la botella.
- Cierre bien el tapón después de sacar la tira reactiva.
- En piscinas o spas, sumerja la tira a una profundidad de 15 cm (6").
- Para un mejor resultado, realice la lectura con luz natural.
- Conserve en un lugar fresco y seco.

Code 2991-G  
 Chestertown, MD 21620 USA  
[www.lamotte.com/insta](http://www.lamotte.com/insta)

Lot # 6047 Exp. 8/17

6 37395 45073 0

**Anexo A 3.** Cotización Soluciones Técnicas Hidráulicas Soltech Ltda**Soluciones Técnicas Hidráulicas Soltech Ltda.**

NIT: 830.116.089-5

*Válvulas de Control Automáticas - Válvulas de Control de Aire - Válvulas de Compuerta y de Fondo  
Compuertas Laterales Circulares y Rectangulares - Uniones y Accesorios para Tubería  
Micro y Macro Medidores de Agua - Dosificación Automática de Coagulantes - Instrumentación y Control*

**COTIZACIÓN**

FECHA: Abril 09 de 2018  
REFERENCIA: Test Strip

NÚMERO: CH-925

CLIENTE: ING. MEYVER QUIROGA VELASCO	TELÉFONO:
ATENCIÓN:	CELULAR:
DIRECCIÓN: <a href="mailto:meyverq@gmail.com">meyverq@gmail.com</a>	CIUDAD: BOGOTÁ

Cordial Saludo.

Agradecemos la invitación realizada para presentar la propuesta técnica y económica de "Tirillas". Marca LaMotte.

**PROPUESTA ECONÓMICA.**

ITEM	QTY	DESCRIPCIÓN	V/. UNIT.	V/. TOTAL
1	1	Cobre. 25 Pruebas. (Cod. 2991-G)	\$ 85.700	\$ 85.700
<b>SUBTOTAL</b>				<b>\$ 85.700</b>
IVA				19% \$ 16.283
<b>TOTAL</b>				<b>\$ 101.983</b>

**TÉRMINOS Y CONDICIONES COMERCIALES.**


Tiempo de Entrega : Despacho 4 a 5 semanas. Importación  
Forma de Pago : 50% Anticipo 50% Para la Entrega de Elementos  
Validez : 8 días.  
Lugar de Entrega : Bogotá

Cordialmente,

Anexo B I. Protocolo de manejo colorímetro para medición de concentración de cobre HI 93702

### Instruction Manual

## HI 93702 Copper High Range ISM



**HANNA**  
instruments

**CE**  
This instrument is in compliance with the CE Directive

### WARRANTY

HI 93702 is warranted for two years against defects in workmanship and materials when used for its intended purpose and maintained according to instructions. This warranty is limited to repair or replacement free of charge. Damages due to accidents, misuse, tampering or lack of prescribed maintenance are not covered. If service is required, contact the dealer from whom you purchased the instrument. If under warranty, repair the model number, date of purchase, serial number and the nature of the failure. If the repair is not covered by the warranty, you will be notified of the charges incurred. If the instrument is to be returned to Hanna Instruments, first obtain a Returned Goods Authorization Number from the Customer Service Department and then send it with shipment costs prepaid. When shipping any instrument, make sure it is properly packaged for complete protection. To validate your warranty, fill out and return the enclosed warranty card within 14 days from the date of purchase. All rights are reserved. Reproduction in whole or in part is prohibited without the written consent of the copyright owner, Hanna Instruments Inc.

Hanna Instruments reserves the right to modify the design, construction and appearance of its products without advance notice.

Dear Customer,  
Thank you for choosing a Hanna product. This manual will provide you with the necessary information for the correct operation of the meter. Please read it carefully before using the meter. If you need additional technical information, do not hesitate to e-mail us at [techserv@hanna.com](mailto:techserv@hanna.com). This instrument is in compliance with CE directives EN 50081-1 and EN 50082-1.

### PRELIMINARY EXAMINATION

Remove the instrument from the packing material and examine it carefully to make sure that no damage has occurred during shipment. If there is any damage, notify your Dealer.  
Each Ion Specific Meter is supplied complete with

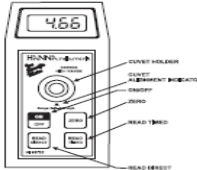
- 9V Battery
- Two Sample Covers and Caps
- One Transport Cap

**Note:** Conserve all packing material until the instrument has been obtained to function correctly. Any defective item must be returned in its original packing.

### GENERAL DESCRIPTION

The HI 93702 meter measures the copper content in water and wastewater in the 0.00 to 5.00 mg/L (ppm) range. The meter uses an exclusive positive-locking system to ensure that the cuvet is in the same place every time it is placed into the measurement cell.  
The reagents are in powder form and are supplied in packets. The amount of reagent is precisely dosed to ensure maximum reproducibility.  
Display codes aid the user in routine operations. The meters have an auto-shut off feature that will turn the instrument off after 10 minutes of non-use.

### SPECIFICATIONS



### SPECIFICATIONS

Range 0.00 to 5.00 mg/L  
Resolution 0.01 mg/L  
Accuracy  $\pm 0.02$  mg/L  $\pm 4\%$  of reading  
Typical EMC Deviation  $\pm 0.01$  mg/L

Light Source Light Emitting Diode (LED) 555 nm  
Method Adaptation of the EPA approved method. The reaction between copper and the bichrominate reagent causes a purple tint in the sample.

Light Life Life of the instrument  
Light Detector Silicon Photocell  
Environment 0 to 50°C (32 to 122°F); max 95% RH non-condensing

Battery Type/Life 1 x 9 volt/40 hours  
Auto-Shut off After 10' of non-use  
Dimensions 180 x 89 x 44 mm (7.1 x 3.3 x 1.8")  
Weight 290 g (10 oz.)

### REQUIRED REAGENTS

Code	Description	Quantity
HI 93702-0	Bichrominate	1 packet

### REAGENT SETS

HI 93702-01 Reagents for 100 tests  
HI 93702-03 Reagents for 300 tests

### DISPLAY CODE GUIDE

--- This indicates that the meter is in a ready state and zeroing can be performed.

**SIP** Sampling in Progress. This prompt appears each time the meter is performing a measurement.

-00- This indicates that the meter is in a zeroed state and measurement can be performed.

**READ** A zero reading was not taken. Insert a sample before adding reagent and press ZERO.

**0.00** Under range. A blinking "0.00" indicates that the sample absorbs less light than the zero reference. Check the procedure and make sure you use the same cuvet for reference (zero) and measurement.

**3.30** Over range. A flashing value higher than the maximum concentration readable (see specifications) indicates that the sample absorbs too much light, meaning that the concentration is too high. Dilute the sample.










**CRP** Light over range. The cuvet is not inserted correctly and an excess ambient light is reaching the detector. If the cuvet is properly installed, then contact your dealer or the nearest Hanna Customer Service Center.



**LO** Light under range. The zero sample is too dark for proper zeroing. If this is not the case, contact your dealer or the nearest Hanna Customer Service Center.

**250** The "H" indicates that the battery voltage is getting low and the battery needs to be replaced.

**BA** This indicates that the battery is dead and must be replaced.  
**Note:** once this indication is displayed, the meter will lockup. Change the battery to restart.

### OPERATIONAL GUIDE

- Turn the meter on by pressing ON/OFF. 
- When the LCD displays "---", it is ready. 
- Fill the cuvet up to 1.5 cm (1/2") below the rim with 10 mL of un-aerated sample, and replace the cap. 
- Place the cuvet into the holder and ensure that the notch on the cap is positioned securely into the groove. 
- Press ZERO and "SIP" will appear on the display. 
- Wait for a few seconds and the display will show "-0.0-". Now the meter is zeroed and ready for measurement. 
- Remove the cuvet. 
- Add the content of one packet of HI 93702 reagent. Replace the cap and shake gently. 
- Reinsert the cuvet into the instrument. 

- Press READ TIMED and the display will show the countdown prior to the measurement, or, alternatively wait for 45 seconds and press READ DIRECT. In both cases "SIP" will appear during measurement. 
- The instrument directly displays concentration in mg/L of copper on the Liquid Crystal Display. 

### INTERFERENCES

Interference may be caused by:  
Silver  
Cyanide  
For samples overcoming buffering capacity of reagent (around pH 6.8), pH should be adjusted between 6 and 8.


### TIPS FOR AN ACCURATE MEASUREMENT

The instruction listed below should be carefully followed during testing to ensure best accuracy.

- Do not touch the cuvet walls with hands.
- In order to maintain the same conditions during the zeroing and the measuring phases, it is necessary to close the cuvet to prevent any contamination.
- Do not let the test sample stand too long after reagent is added or accuracy will be lost.
- Whenever the cuvet is placed into the measurement cell, it must be completely free of fingerprints, oil or dirt. Wipe it thoroughly with HI 731318 or a lint-free cloth prior to insertion.
- It is important that the sample does not contain any debris. This would corrupt the readings.
- It is possible to take multiple readings in a row, but it is recommended that a zero reading be taken for each sample and that the same cuvet is used for zeroing and measurement.
- It is important to discard the sample immediately after the reading is taken because the glass might become permanently stained.
- Shaking the cuvet can generate bubbles in the sample, causing higher readings. To obtain accurate measurements, remove such bubbles by swirling or by gently tapping the vial.
- All the reaction times reported in this manual are referred to 20°C (68°F). As a general rule of thumb, they should be doubled at 10°C (50°F) and halved at 30°C (86°F).

### BATTERY REPLACEMENT

Battery replacement must only take place in a non-hazardous area using a 9V alkaline battery.  
Simply slide off the battery cover on the back of the meter. Detach the battery from the terminals and attach a fresh 9V battery while paying attention to the correct polarity. Replace the battery and the cover.



### ACCESSORIES

#### REAGENT SETS

HI 93702-01 Reagents for 100 tests  
HI 93702-03 Reagents for 300 tests

#### OTHER ACCESSORIES

HI 710009 Blue rubber boot  
HI 710010 Orange rubber boot  
HI 721310 9V battery (10 pcs)  
HI 731318 Tissue for wiping cuvetts (4 pcs)  
HI 731321 Glass cuvetts (4 pcs)  
HI 731325 Caps for cuvetts (4 pcs)  
HI 93703-50 Cuvets cleaning solution (230 mL).

### CE DECLARATION OF CONFORMITY

**CE**  
DECLARATION OF CONFORMITY

We, **HANNA INSTRUMENTS**  
Rua da Indústria 17  
2015-116 Vila Verde de Raia (Distrito de Vila Verde) Portugal

solely certify that the instruments:  
HI 93702-01 HI 93702-03 HI 93702-04 HI 93702-05 HI 93702-06  
HI 93702-07 HI 93702-08 HI 93702-09 HI 93702-10 HI 93702-11  
HI 93702-12 HI 93702-13 HI 93702-14 HI 93702-15 HI 93702-16  
HI 93702-17 HI 93702-18 HI 93702-19 HI 93702-20 HI 93702-21  
HI 93702-22 HI 93702-23 HI 93702-24 HI 93702-25 HI 93702-26  
HI 93702-27 HI 93702-28 HI 93702-29 HI 93702-30 HI 93702-31  
HI 93702-32 HI 93702-33 HI 93702-34 HI 93702-35 HI 93702-36  
HI 93702-37 HI 93702-38 HI 93702-39 HI 93702-40 HI 93702-41  
HI 93702-42 HI 93702-43 HI 93702-44 HI 93702-45 HI 93702-46  
HI 93702-47 HI 93702-48 HI 93702-49 HI 93702-50 HI 93702-51  
HI 93702-52 HI 93702-53 HI 93702-54 HI 93702-55 HI 93702-56  
HI 93702-57 HI 93702-58 HI 93702-59 HI 93702-60 HI 93702-61  
HI 93702-62 HI 93702-63 HI 93702-64 HI 93702-65 HI 93702-66  
HI 93702-67 HI 93702-68 HI 93702-69 HI 93702-70 HI 93702-71  
HI 93702-72 HI 93702-73 HI 93702-74 HI 93702-75 HI 93702-76  
HI 93702-77 HI 93702-78 HI 93702-79 HI 93702-80 HI 93702-81  
HI 93702-82 HI 93702-83 HI 93702-84 HI 93702-85 HI 93702-86  
HI 93702-87 HI 93702-88 HI 93702-89 HI 93702-90 HI 93702-91  
HI 93702-92 HI 93702-93 HI 93702-94 HI 93702-95 HI 93702-96  
HI 93702-97 HI 93702-98 HI 93702-99 HI 93702-100

have been tested and found to be in compliance with the following regulations:  
2002/95/EC (RoHS)  
2006/66/EC (WEEE)  
2004/108/EC (EMC)  
2006/95/EC (LVD)  
2006/42/EC (Machinery)  
2006/92/EC (Low Voltage Directive)  
2006/42/EC (Machinery)

Date of Issue: 20/06/2011  
By:   
Hanna Instruments S.A. S. Paulo, Portugal

**Recommendations for Users**  
Before using these products, make sure that they are entirely suitable for the environment in which they are used.  
Operation of these instruments in residential areas could cause unacceptable interference to radio and TV equipment, requiring the operator to take all necessary steps to correct interference.  
Any variation introduced by the user to the supplied equipment may degrade the instrument's EMC performance.  
To avoid damage or burns, do not perform any measurement in microwave areas.

PRINTED IN PORTUGAL 1272/1081 06/05

**Anexo C I.** Cálculos para preparar 300 ml solución medio de cultivo sólido LB

Para preparar 300 ml de solución en medio de cultivo sólido LB se utilizó: NaCl, Peptona, Extracto de levadura, Agar (solidificante) y 300 ml de agua destilada. Para 1L: 10g NaCl + 10 g Peptona + 5g Extracto de levadura + 15g Agar.

Para 300 ml de solución con agua destilada:

$$\frac{10\text{g NaCl}}{1000\text{ml}} \times 300\text{ml} = 3\text{g} + \frac{10\text{g Peptona}}{1000\text{ml}} \times 300\text{ml} = 3\text{g}$$

$$+ \frac{5\text{g de E levadura}}{1000 \text{ ml}} \times 300\text{ml} = 1.5\text{g} + \frac{15\text{g Agar}}{1000 \text{ ml}} \times 300\text{ml} = 4.5\text{g}$$

Entonces para preparar 300 ml de solución con agua destilada se debe adicionar, 3g de NaCl, 3g de Peptona, 1.5g de Extracto de Levadura y 4.5g de Agar.

**Anexo D I.** Análisis estadístico de la varianza ANOVA

## ANOVA de un solo factor: ABCAC vs. Tratamiento

### Método

Hipótesis nula            Todas las medias son iguales

Hipótesis alterna        No todas las medias son iguales

Nivel de significancia     $\alpha = 0,05$

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

### Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Tratamiento	5	C; CH1; CH2; M1; M3

## Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	4	439,3	109,81	7,26	0,005
Error	10	151,3	15,13		
Total	14	590,5			

## Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
3,88930	74,38%	64,14%	42,36%

## Medias

Tratamiento	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
C	3	62,62	5,10	(57,61; 67,62)
CH1	3	51,500	0,866	(46,497; 56,503)
CH2	3	49,98	6,06	(44,98; 54,99)
M1	3	59,03	2,71	(54,03; 64,04)
M3	3	48,97	2,19	(43,96; 53,97)

*Desv.Est. agrupada = 3,88930*

## Comparaciones en parejas de Tukey

**Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%**

Tratamiento	N	Media	Agrupación
C	3	62,62	A
M1	3	59,03	A B
CH1	3	51,500	B
CH2	3	49,98	B
M3	3	48,97	B

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

## Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias

Diferencia de niveles	Diferencia de las medias	EE de diferencia	IC de 95%	Valor T	Valor p ajustado
-----------------------	--------------------------	------------------	-----------	---------	------------------

CH1 - C	-11,12	3,18	(-21,56; -0,68)	-3,50	0,036
CH2 - C	-12,63	3,18	(-23,07; -2,19)	-3,98	0,017
M1 - C	-3,58	3,18	(-14,02; 6,86)	-1,13	0,789
M3 - C	-13,65	3,18	(-24,09; -3,21)	-4,30	0,011
CH2 - CH1	-1,52	3,18	(-11,96; 8,92)	-0,48	0,988
M1 - CH1	7,53	3,18	(-2,91; 17,97)	2,37	0,200
M3 - CH1	-2,53	3,18	(-12,97; 7,91)	-0,80	0,925
M1 - CH2	9,05	3,18	(-1,39; 19,49)	2,85	0,099
M3 - CH2	-1,02	3,18	(-11,46; 9,42)	-0,32	0,997
M3 - M1	-10,07	3,18	(-20,51; 0,37)	-3,17	0,060

*Nivel de confianza individual = 99,18%*

### ICs simultáneos de 95% de Tukey

### Comparaciones en parejas de Fisher

### Agrupar información utilizando el método LSD de Fisher y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
C	3	62,62	A
M1	3	59,03	A
CH1	3	51,500	B
CH2	3	49,98	B
M3	3	48,97	B

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

### Pruebas individuales de Fisher para diferencias de las medias

Diferencia de niveles	Diferencia de las medias	EE de diferencia	IC de 95%	Valor T	Valor p ajustado
CH1 - C	-11,12	3,18	(-18,19; -4,04)	-3,50	0,006
CH2 - C	-12,63	3,18	(-19,71; -5,56)	-3,98	0,003
M1 - C	-3,58	3,18	(-10,66; 3,49)	-1,13	0,285
M3 - C	-13,65	3,18	(-20,73; -6,57)	-4,30	0,002
CH2 - CH1	-1,52	3,18	(-8,59; 5,56)	-0,48	0,643
M1 - CH1	7,53	3,18	(0,46; 14,61)	2,37	0,039

M3 - CH1	-2,53	3,18	(-9,61; 4,54)	-0,80	0,444
M1 - CH2	9,05	3,18	(1,97; 16,13)	2,85	0,017
M3 - CH2	-1,02	3,18	(-8,09; 6,06)	-0,32	0,755
M3 - M1	-10,07	3,18	(-17,14; -2,99)	-3,17	0,010

*Nivel de confianza simultánea = 75,51%*

***FIN***