

**EXPLORACIÓN DE UN MÉTODO PARA LA INACTIVACION DE FORMALDEHIDO EN
EL ANFITEATRO DE LA FACULTAD DE SALUD DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE**

JUAN FERNANDO SÁNCHEZ SÁNCHEZ



**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
PROGRAMA ACADÉMICO DE QUÍMICA
SANTIAGO DE CALI
2011**

**EXPLORACIÓN DE UN MÉTODO PARA LA INACTIVACION DE FORMALDEHIDO EN
EL ANFITEATRO DE LA FACULTAD DE SALUD DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE**

JUAN FERNANDO SÁNCHEZ SÁNCHEZ

**Trabajo de Grado presentado para optar al título de
Químico**

**Asesor
WALTER TORRES HERNÁNDEZ
Químico, Ph.D.**

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
PROGRAMA ACADÉMICO DE QUÍMICA
SANTIAGO DE CALI
2011**

UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
PROGRAMA ACADÉMICO DE QUÍMICA

JUAN FERNANDO SÁNCHEZ SÁNCHEZ, 1969

**EXPLORACIÓN DE UN MÉTODO PARA LA INACTIVACION DE FORMALDEHIDO EN
EL ANFITEATRO DE LA FACULTAD DE SALUD DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE**

PALABRAS CLAVES

Formaldehido

Acido Cromotrópico

Bisulfito de Sodio

Santiago de Cali

2011

NOTA DE ACEPTACIÓN:

El trabajo titulado: “Exploración de un Método para la Inactivación de Formaldehído en el Anfiteatro de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle”, fue revisado y aprobado por:

DIRECTOR
WALTER TORRES HERNÁNDEZ
Ph.D.

JURADO
MARTHA ISABEL PAEZ

Santiago de Cali, 2011.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
1. INTRODUCCIÓN	14
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo General	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3. ANTECEDENTES	16
3.1 ANTECEDENTES DEL PROBLEMA	16
3.2 CONCEPTOS BÁSICOS	19
3.2.1 Características Generales	19
3.2.2 Síntesis	19
3.2.3 Usos	19
3.2.4 Toxicología	20
3.2.5 Reacciones	22
3.3 TÉCNICA DE ÁCIDO CROMOTRÓPICO	26
3.4 ESTANDARIZACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE FORMALINA	28
3.5 INACTIVACIÓN DE FORMALDEHIDO	30
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
5. JUSTIFICACIÓN	32
6. SECCIÓN EXPERIMENTAL	34
6.1 EQUIPOS Y REACTIVOS	34
6.2 TÉCNICA DE ÁCIDO CROMOTRÓPICO – PROCEDIMIENTO	35
6.3 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO PARA OBTENER LA CURVA DE CALIBRACIÓN.	35
6.4 ESTANDARIZACIÓN DE FORMALINA POR EL MÉTODO COVENIN NORMA VENEZOLANA 946	36

6.5	PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRAS	37
6.6	PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FORMALDEHIDO	39
6.7	PROCEDIMIENTO PARA LA INACTIVACIÓN DE FORMALDEHIDO EN LAS MUESTRAS	41
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
7.1	DATOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN	42
7.2	COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA DE CA CON H_3PO_4 Y CON HCl EN LUGAR DE ÁCIDO SULFÚRICO	43
7.3	CARACTERIZACIÓN DE LA PISCINA, CONCENTRACIONES DE LA SOLUCIÓN DE FORMALDEHIDO.	44
7.4	PROCESAMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE METANOL EN MUESTRAS OXIDADAS	47
7.5	RESULTADOS DE LA INACTIVACIÓN	49
8.	CONCLUSIONES	51
9.	RECOMENDACIONES	52
10.	REFERENCIAS	53
11.	ANEXOS	57

LISTA DE ACRÓNIMOS

CA	Ácido Cromotrópico
IR	Infrarrojo
UV	Ultravioleta
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
PPM	Partes por millón
nm	Nanómetros
ASTM	American Society for Testing Materials
TLV	Treshold Limit Value
DBO	Demanda Bioquímica de Oxígeno
DQO	Demanda Química de Oxígeno

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1.	Datos para la curva de calibración formalina	42
Tabla 2.	Tabla de frecuencias de la concentración de Formaldehído en la piscina del Anfiteatro de la Facultad de Salud (n = 28)	44
Tabla 3.	Frecuencias de la concentración de metanol en la piscina	48
Tabla 4.	Resultados de la inactivación de muestras	49
Tabla 5.	Características de las variables del problema	55
Tabla 6.	Observaciones y valores residuales	58
Tabla 7.	Registro de temperatura en la distribución de la toma de muestras en la piscina.	62

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Página
Gráfica 1. Gráfica de normalidad Q-Q	58
Gráfica 2. Modelo correctamente especificado	59
Gráfica 3. Homogeneidad de la Varianza	60
Gráfica 4. Correlación entre los residuales y las observaciones	61

ÍNDICE DE REACCIONES

	Página
Reacción 1. Producto de la polimerización de Formaldehído a temperatura ambiente	22
Reacción 2. Producto de la unión de Formaldehído y una molécula de agua: Un diol	22
Reacción 3. Producto de la unión de dos moléculas de diol y liberación de una molécula de agua	23
Reacción 4. Formación del trímero de Formaldehído y una molécula de agua	23
Reacción 5. Polímero lineal de Formaldehído (para formaldehído)	23
Reacción 6. Producto de la unión de una molécula de alcohol metílico y una de Formaldehído (Hemiacetal)	23
Reacción 7. Producto de la unión de hemiacetal con una molécula de Formaldehído (acetal)	23
Reacción 8. Producto de la unión de dos moléculas de acetal, éter y una molécula de agua	24
Reacción 9. Unión de una molécula de proteína y una molécula de Formaldehído	24
Reacción 10. Enlace metileno entre dos proteínas	24
Reacción 11. Unión de Formaldehído con la lisina	25
Reacción 12. Producto de la reacción de Formaldehído con amoníaco	25
Reacción 13. Estructura de la hexametilentetramina	26
Reacción 14. Producto de la reacción de dos moléculas de Formaldehído y dos de metilamina	26

Reacción 15. Una estructura propuesta del cromógeno CA y Formaldehido (Divenzo Santilli monocatiónico)	27
Reacción 16. Estructura propuesta de la unión de CA y Formaldehido que involucra dos pasos	28
Reacción 17. Reacción de Formaldehido con sulfito de sodio	29
Reacción 18. Reacción de Formaldehido con bisulfito de sodio	30

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Datos Estadísticos: Formulación del Problema	55
Anexo 2. Datos Estadísticos: Validación de los Supuestos	56
Anexo 3. Espectro del Complejo Formaldehído CA	63
Anexo 4. Espectro infrarrojo de CA	64
Anexo 5. Espectro Infrarrojo de CA bibliográfico	64
Anexo 6. Distribución de la Toma de Muestras en la Piscina	65

RESUMEN

La sede de San Fernando de la Universidad del Valle en Cali posee un anfiteatro en el cual se preservan piezas anatomopatológicas y cadáveres para su posterior uso en estudios académicos. La preservación se hace con una solución (comercialmente conocida como formalina) preparada con Formaldehído y metanol, los cuales son compuestos tóxicos que requieren una manipulación cuidadosa para disminuir el riesgo químico para la salud de las personas que lo manejan, al igual que minimizar la carga contaminante de los vertimientos. Por lo anterior, se requiere un conocimiento de la concentración de estas sustancias. En la actualidad, a pesar de las exigencias de la Secretaría Departamental de Salud, la Universidad del Valle no posee un protocolo que contemple el manejo ambiental de esta mezcla.

Este proyecto propone, un método que permite neutralizar o inactivar la formalina, para que pueda ser vertido sin riesgo para la salud de las personas y el ambiente. Las pruebas se realizaron en muestras de la piscina del anfiteatro de la Facultad de Salud. Se comprobó que la aplicación de bisulfito de sodio inactiva Formaldehído, por ejemplo para neutralizar una muestra que contenía una concentración de Formaldehído de 20,0 ppm, se usó una solución de igual concentración de Bisulfito de sodio, los resultados se verificaron al comparar las concentraciones de Formaldehído de las muestras de la piscina antes y después del tratamiento de inactivación.

1. INTRODUCCIÓN

La presente investigación aplicada propone y prueba un método químico para la inactivación de Formaldehído de la piscina del anfiteatro de la Facultad de Salud en la Universidad del Valle.

Se determinaron las concentraciones de Formaldehído en muestras obtenidas de la piscina, usando el espectro electrónico del producto de la reacción entre el ácido cromotrópico (CA, acomplexante) y Formaldehído, se elaboró un cuadro de la distribución de las concentraciones de la piscina para conocer su variación. Se aplicó bisulfito de sodio de calidad comercial a muestras de la piscina que contenían Formaldehído, posteriormente se midió con ayuda de la técnica del ácido cromotrópico la concentración de Formaldehído, los resultados fueron la disminución significativa de la concentración de éste aldehído.

La importancia de esta investigación está en la aplicación de la Química al manejo ambiental responsable de una sustancia que es nociva para la salud y el ambiente, la posibilidad de desarrollar un método simple de inactivación que sea manejado por los encargados del anfiteatro.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

1. Aplicar un método químico para la inactivación de Formaldehído de la piscina del Anfiteatro de la Facultad de Salud para minimizar su impacto en las aguas de vertimiento.

2.2 Objetivos Específicos

1. Evaluar las concentraciones de Formaldehído y metanol presente en las soluciones usadas en el anfiteatro de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle.
2. Cuantificar las concentraciones de Formaldehído, una vez probado el método de inactivación, en las soluciones tratadas.
3. Comparar la concentración de Formaldehído tratado e inactivado con las concentraciones de las soluciones sin tratamiento, para verificar la eficiencia del tratamiento químico.

3. ANTECEDENTES

3.1 Antecedentes del Problema

En la ciudad de Cali, varias universidades (Universidad Libre, San Martín, Santiago de Cali y la Universidad del Valle) poseen anfiteatros y como preservante de los cadáveres Formaldehído.

En el anfiteatro y la sala de preparación de cadáveres de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle, ubicados en primer piso y sótano del edificio 116 de la Sede de San Fernando, la solución de Formaldehído, es usada para preservar cadáveres y piezas anatomopatológicas. La solución comercial de Formaldehído que la universidad adquiere (solución de Formaldehído 37-11) contiene 37% de Formaldehído y 11% de metanol, conocida comercialmente como Formalina.

Los cadáveres permanecen temporalmente en el anfiteatro (sobre mesas de disección) o sumergidos en la piscina del sótano. La piscina (dimensiones: 2mx6mx1m) está construida en ladrillo y recubierta, por dentro, con una capa de cemento impermeable y, por fuera, con baldosas; permanece cerrada con siete tapas de acero inoxidable (foto 1).



Foto 1. Piscina

En la búsqueda de información de estudios o propuestas de tratamiento para inactivación de aguas vertidas que contengan Formaldehído en la ciudad de Cali, no se encontró información relacionada con el tema, en Colombia la información corresponde a una Tesis “Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de Formaldehído capaz de Disminuir el crecimiento Bacteriano de Cepas Obtenidas en Piscinas de Conservación Cadavérica”¹, los objetivos de dicha tesis apuntan a temas que no coinciden con la presente investigación.

A nivel internacional la información es amplia, Sharma y Kolah en 1994², propusieron la eliminación de Formaldehído a partir de soluciones acuosas de 2-butino-1,4-diol (BD) y bisulfito de sodio, el producto resultante se retiró de las aguas con ayuda de un sistema de lecho fijo con una resina de intercambio iónico, la concentración de formaldehído lograda hasta 20 ppm.

Loftya y Rashedb (2001)³ de la Universidad de Mansoura en Egipto propone que las aguas vertidas con Formaldehído puede ser inactivada con ayuda de bisulfito de sodio, las pruebas que realizaron fueron contundentes respecto a la inactivación, y aclaran que cuando las aguas vertidas contienen fenol y Formaldehído, el tratamiento con microorganismos especializados para inactivar fenol es alterado negativamente por el aldehído, al aplicar bisulfito de sodio a las aguas con Formaldehído se produce un compuesto de adición entre Formaldehído y bisulfito de sodio biodegradable.

Entre los variados usos de Formaldehído, se encuentra el mantenimiento de piscinas o lagos que contienen peces (Truchas y Salmón), su uso es principalmente para evitar la proliferación de hongos en los peces, una vez terminada la producción de peces, las aguas con Formaldehído son vertidas sin tratamiento, se probaron diferentes métodos para la inactivación de Formaldehído⁴, entre los métodos probados se encuentra el uso de bisulfito de sodio, iones de hierro y peróxido de hidrógeno, se compararon los métodos y por ejemplo al usar peróxido de hidrógeno se requiere un exceso de peróxido y una temperatura de 25°C, característica que es factible aplicarla en la piscina de la Facultad de Salud, hay otro proceso que utiliza peróxido de hidrógeno e hidróxido de sodio, sin embargo requiere una temperatura mínima de 50°C, elevar la temperatura de la piscina hasta los 50°C no es posible; el uso de sulfito de sodio en aguas residuales con Formaldehído, mostró un rápido aumento de la actividad biológica, la Demanda Bioquímica de Oxígeno aumentó de 70 mg/L a 800 mg/L, estos valores indican claramente la conversión de Formaldehído en un compuesto que se biodegrada más fácilmente, la proporción de adición de bisulfito y Formaldehído en la reacción debe ser de 1:1.

3.2 CONCEPTOS BÁSICOS

3.2.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

Formaldehído, el aldehído más simple (HCHO , número de CAS: 50-00-0) es producido en todo el mundo, en gran escala. Es también conocido como formol, metilaldehído, óxido de metileno y metanal, siendo este último el nombre de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada.

A temperaturas y presión ordinaria es un gas incoloro, de olor picante e irritante a concentraciones superiores a 1 ppm. Es muy soluble en el agua y muchos disolventes orgánicos.

3.2.2 SÍNTESIS

Existen varios métodos que permiten obtener Formaldehído, la diferencia radica en el catalizador usado, un método antiguo consiste en tener una mezcla rica en metanol y aire que se hace pasar sobre un catalizador de plata a 635°C , este proceso es una oxidación y deshidrogenación combinadas. Otro método usa una mezcla pobre en aire y con alrededor de 5 a 10 por ciento de metanol por volumen, se pasa sobre un catalizador de óxidos de hierro y molibdeno.

3.2.3 USOS

Formaldehído, tiene múltiples usos en la industria química, por ejemplo, en la producción de adhesivos y plásticos y en la industria textil. Tiene también

aplicaciones como desinfectante y preservativo de tejidos y en la industria funeraria en forma de soluciones acuosas conocidas como formalina (Formaldehído, 37 % + metanol, 11 % en masa). El metanol previene la polimerización del formaldehído.

Otro uso es la fabricación de textiles libres de arrugas o desarrugados. Actualmente, si la concentración de formaldehído supera el 0,15%, éste debe ser declarado en la etiqueta con la recomendación de lavar la prenda antes de usarla, debido a su gran toxicidad al combinarse con radicales libres en el ambiente bajo C.N.P.T (condiciones normales de presión y temperatura).

Formaldehído es el conservante de cosméticos, champús, cremas para baño y otros productos de limpieza personal. También en las cremas que alisan el cabello.

En síntesis orgánica, para construir moléculas más complejas, se aplica en madera aglutinada, resinas de urea-formaldehído, colorantes, explosivos y en la fabricación de extintores de incendio, entre otros usos.

3.2.4 TOXICOLOGÍA

Es un compuesto que se encuentra en diversos lugares y puede ser inhalado o ingerido. Existen límites definidos de las concentraciones en aire que son permitidas para una exposición diaria de ocho horas, es decir en jornadas laborales completas; el Ministerio de Salud Colombiano, se acoge a lo establecido por las entidades gubernamentales norteamericanas, para esta situación se aplica el término Valor Límite Permisible que por sus siglas en inglés se conoce como TLV (Treshold Limit Value)⁵.

Algunos estudios en seres humanos expuestos a Formaldehído en el aire del trabajo encontraron más casos de cáncer de nariz y garganta que lo esperado, sin embargo otros estudios no han confirmado estos resultados.⁶

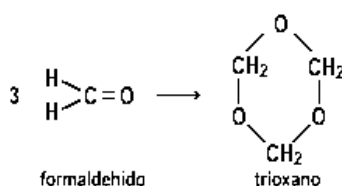
Entre los síntomas y efectos de la exposición a diferentes concentraciones de Formaldehído en el aire, se encuentran; a una concentración de 1,0 ppm olor irritante; entre 1,0 ppm y 2,0 ppm hay irritación de los ojos y la garganta; entre 5,11 ppm y 20,0 ppm produce máxima lacrimación y disnea (con tos); más de 20,0 ppm edema pulmonar y disnea.

La EPA (Environmental Protection Agency)⁵ consideró que éste aldehído es un probable cancerígeno humano (grupo B2) basada en estudios experimentales y epidemiológicos. Los estudios epidemiológicos sugirieron un aumento en la incidencia de tumores en el cerebro, leucemia y cirrosis hepática entre trabajadores. Por otro lado, los estudios de laboratorio mostraron que el Formaldehído causaba cáncer nasal en ratas, mutaciones en bacterias, levaduras y células de mamíferos y humanos.

En estudios en animales, ratas expuestas a altos niveles de Formaldehído en el aire contrajeron cáncer de la nariz. El Departamento de Salud y Servicios Humanos (DHHS) ha determinado que es razonable predecir que el Formaldehído es carcinogénico.

3.2.5 REACCIONES CON FORMALDEHIDO

Formaldehido es un compuesto extremadamente reactivo, se polimeriza muy fácilmente, a temperatura ambiente, en estado gaseoso polimeriza lentamente hasta metaformaldehido (HCHO)₃ o trioxano, un sólido blanco de estructura cíclica, con punto de fusión cerca a 61°C.⁷



Reacción 1. Producto de la polimerización de Formaldehido a temperatura ambiente.

REACCIONES EN AGUA⁷

Formaldehido en estado gaseoso se disuelve fácilmente en agua, con la cual, reacciona para formar una mezcla en equilibrio, de acuerdo con las siguientes reacciones:



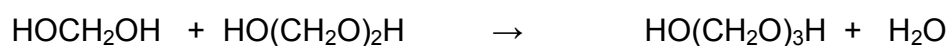
Reacción 2.

En la Reacción 2, una molécula de Formaldehido se une al agua formando un diol, lo cual es facilitado por la reactividad de los hidrógenos que posee éste aldehido. Dos moléculas del diol se unen formando un dímero y liberando agua, (Reacción 3).



Reacción 3.

La reacción puede continuar para formar un trímero (Reacción 4) y un polímero lineal, insoluble, Reacción 5, conocido como para formaldehído, en el que $n \leq 60$ y ≥ 6 .



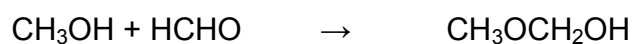
Reacción 4.



Reacción 5.

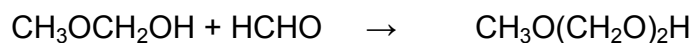
Para preservación de cuerpos o cadáveres, la formación del polímero es inconveniente y es necesario estabilizar las soluciones de Formaldehído, lo que se hace agregando alcohol metílico.

Al adicionar alcohol metílico, se forma el hemiacetal, (Reacción 6):



Reacción 6.

El hemiacetal reacciona con otra molécula de Formaldehído para producir el acetal, (Reacción 7)



Reacción 7.

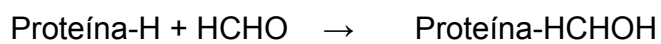
Dos moléculas de acetal se unen formando el compuesto éter de la reacción 8.



Reacción 8.

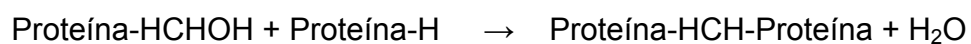
Otro grupo de reacciones se establece entre Formaldehído y las proteínas.

Las reacciones de Formaldehído con proteínas se pueden apreciar en el siguiente esquema: Adición de una molécula de Formaldehído a una de proteína (Reacción 9).



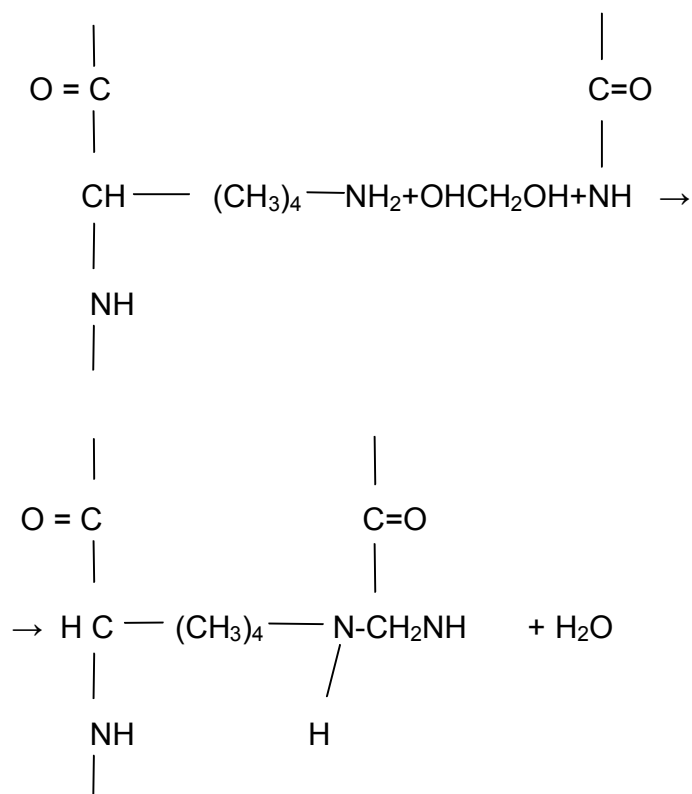
Reacción 9.

Formación del enlace de metileno entre dos proteínas (Reacción 10)⁸.



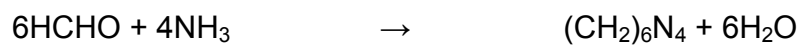
Reacción 10.

(Reacción 11), un ejemplo de la unión de Formaldehído con la lisina.



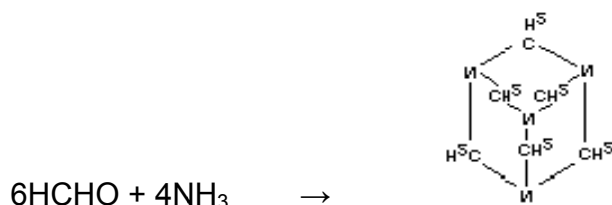
Reacción 11.

La reacción 12 entre Formaldehído y amoníaco,



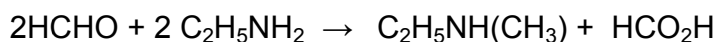
Reacción 12.

Estructura de la hexametilen tetraamina



Reacción 13.

De igual forma, puede metilar aminas primarias y secundarias, por ejemplo, la reacción con etilamina produce metilamina y ácido fórmico, (Reacción 14).



Reacción 14.

3.3 TECNICA DE ACIDO CROMOTROPICO

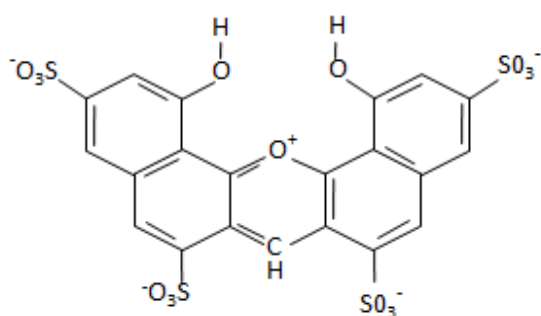
Para la cuantificación de la cantidad de Formaldehído presente en las muestras se utiliza la técnica del ácido cromotrópico (Norma ASTM D2380.31674-1)⁹, en esta, la reacción del ácido cromotrópico con Formaldehído en presencia de ácido sulfúrico forma un complejo coloreado que absorbe en la región del visible alrededor de 580nm.

La técnica se basa en la formación de un complejo coloreado entre el Formaldehído y el CA, ésta se puede desarrollar desde Metanol calidad HPLC oxidándolo con una solución de KMnO_4 y posteriormente retirando el exceso de

color con una solución de tiosulfato de sodio y la posterior adición de ácido sulfúrico concentrado dentro de un baño de hielo con revelación de color violeta, se forma un complejo coloreado que absorbe, en la región del visible, entre 570 y 580 nm. La presencia de esta coloración es señal inequívoca de la existencia de Formaldehído en la solución. La técnica permite, igualmente, determinar la concentración de metanol en concentraciones del orden de ppm.

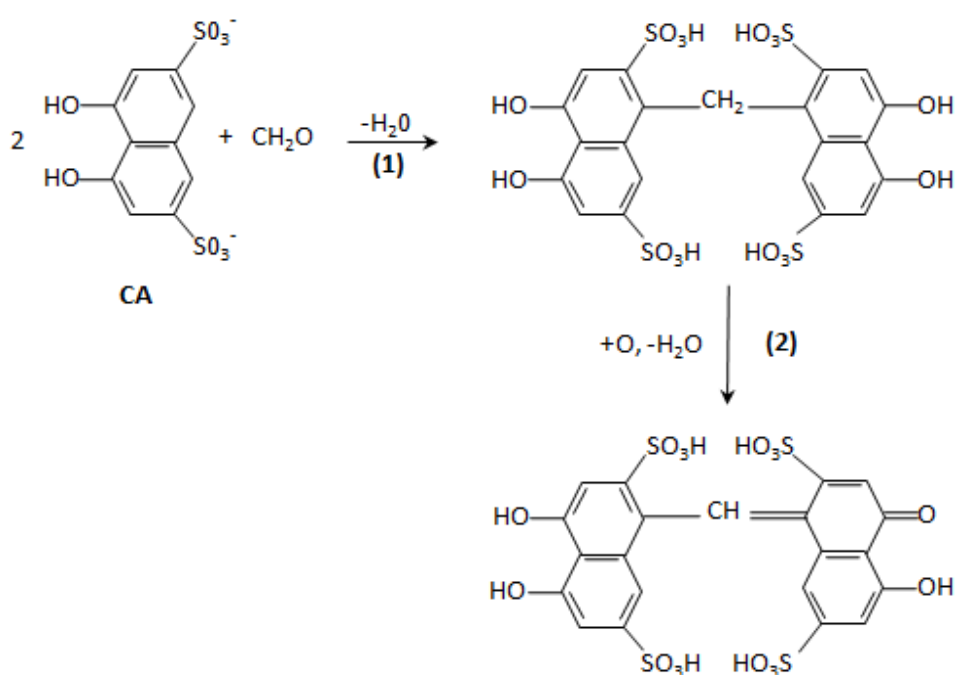
La reacción entre Formaldehído y el CA tiene dos estructuras propuestas que se pueden observar a continuación.

La estructura de la Reacción 15 muestra la unión de dos moléculas de CA con una molécula de Formaldehído. Estructura propuesta para el dibenzoxanthylum monocatiónico¹⁰.



Reacción 15.

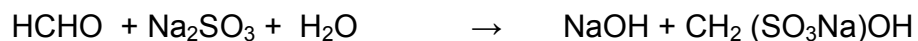
La reacción 16, presenta una propuesta de estructura de CA y Formaldehído que involucra dos pasos, y en la que el agente oxidante es ácido sulfúrico. Aquí se unen dos moléculas de la sal sódica del Ácido 4,5 – dihidroxinaftaleno- 2,7-disulfónico con una molécula de Formaldehído, formando el complejo¹¹



3.4 ESTANDARIZACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE FORMALINA.

NORMA VENEZOLANA COVENIN 946¹²

El ensayo se basa en la titulación del hidróxido de sodio, que se libera cuantitativamente cuando Formaldehído reacciona con sulfito de sodio para formar el compuesto de adición correspondiente. (Reacción 17), según la reacción:



Reacción 17.

Solución de sulfito de sodio (Na_2SO_3). Esta solución se prepara disolviendo sulfito de sodio anhidro (126,0 g) o sulfito de sodio hepta hidratado (252,0 g) en agua destilada y diluyendo a 1,0 L.

Solución de Acido Sulfúrico 0,50 N o solución de Acido Clorhídrico (HCl) 1N
Indicador de Timolftaleína. Se disuelve Timolftaleína (25,0 mg) en Alcohol Etílico (25,0 mL) y se lleva a un matraz aforado de 250,0 mL.

PROCEDIMIENTO

Se vierte solución de sulfito de sodio (50,0 mL), en un erlenmeyer, se añade indicador, se neutraliza con solución ácida y se tapa rápidamente.

Se agrega muestra ($1,0 \text{ g} \pm 0,1 \text{ mg}$), es decir la solución de Formalina o la solución que contenga Formaldehído y que se quiere conocer su concentración. Se tapa el erlenmeyer y se agita suavemente.

Se añaden gotas de Timolftaleína a la muestra y se titula con la solución de ácido hasta alcanzar el punto final no coloreado.

Expresión de los Resultados

El porcentaje en peso de Formaldehído se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$F = \frac{V \times N \times 0,03003}{m} \times 100$$

donde:

F= Contenido de formol, en porcentaje

V= Volumen de ácido requerido para titular la muestra, en mililitros

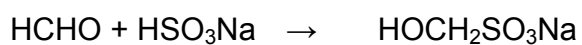
N= Normalidad del ácido

0,03003= peso miliequivalente del formol.

m= peso de la muestra, en gramos.

3.5 INACTIVACIÓN DE FORMALDEHIDO

La solución de Formaldehído se inactivó con una solución de bisulfito de sodio, siguiendo la reacción 18. El resultado es hidroximetilsulfito de sodio^{3,13}.



Reacción 18.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el anfiteatro de la Universidad del Valle, se preservan cadáveres y piezas anatomopatológicas, usados para las prácticas académicas de los estudiantes; el preservante es Formaldehído, que es un contaminante, el cuál es vertido sin tratamiento a la red de alcantarillado; siendo éste un contaminante se requiere un tratamiento que lo inactive para que no cause daño ambiental.

Las autoridades estatales encargadas de supervisar esta situación le han solicitado de manera perentoria a la Universidad del Valle dicho tratamiento, por lo cual se han efectuado diferentes actividades y obras civiles que contemplan el tratamiento y disminución de los vapores en el aire. El presente estudio contempla una propuesta para la inactivación de Formaldehído en agua.

Se plantea el siguiente interrogante, ¿Es efectivo el método químico de tratamiento con bisulfito de sodio, para inactivar Formaldehído usado en el anfiteatro de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle?

5. JUSTIFICACIÓN

La Universidad del Valle es una institución de educación superior, que brinda formación en diferentes áreas del conocimiento: La Salud, las Ingenierías, las Ciencias Puras y Exactas, las Humanidades, entre otras.

En la Facultad de Salud se desarrollan prácticas académicas con muestras anatomopatológicas y cadáveres que son preservados en una solución de Formaldehído; el uso de esta solución genera un impacto ambiental en el aire y en el agua, ya que esta sustancia es reconocida como un contaminante cuando es liberada o vertida sin tratamiento.

Al menos una vez por periodo académico, el contenido de ésta piscina es vertido, sin tratamiento previo, a la red del alcantarillado. Teniendo en cuenta que la piscina no solo contiene formalina sino también fluidos de origen biológico y tejidos, estos vertimientos representan no sólo riesgo químico sino también riesgo biológico. Hoy por hoy, hay una preocupación manifiesta de las autoridades ambientales, Ministerio de Salud, Secretaría de Salud Departamental, Departamento Administrativo de Gestión del Medio Ambiente de Santiago de Cali, DAGMA, acerca del manejo que la Universidad le da a las sustancias que utiliza en sus prácticas académicas, entre las que se cuenta el ya nombrado Formaldehído, por lo que le han solicitado a la Universidad, darle un manejo y vertimiento adecuado. Esta solicitud es considerada un requisito de la Secretaría de Salud Departamental para autorizar el manejo de cadáveres. La intervención del vertimiento pretende disminuir significativamente la contaminación por

Formaldehído presente en los residuos hasta cumplir con la normatividad de las entidades mencionadas.

Además del impacto ambiental que genera dicha sustancia, se presenta una exposición en las personas involucradas en su manipulación con efectos sobre su salud, como irritación de ojos, tracto respiratorio y carcinogenicidad.

Existen múltiples métodos para el tratamiento e inactivación de diferentes contaminantes los que pueden ser microbiológicos y químicos^{2,3,4}, de los cuales, ninguno ha sido implementado por la Universidad.

Ante esta situación, se ve la necesidad de implementar un método sencillo para el tratamiento de Formaldehído, dicho método deberá resolver al menos, el problema del vertimiento, cumplir con la solicitud de las entidades ambientales al respecto y disminuir el impacto en la salud de las personas involucradas en su manipulación.

6. SECCION EXPERIMENTAL

En el desarrollo de los experimentos, para la preparación de soluciones y el procesamiento de las muestras, fueron utilizados equipos, reactivos y material de vidrio calibrado grado A. Posteriormente aparece descrita la técnica del CA, la forma en que se construyó la curva de calibración, la estandarización de formalina, el procedimiento para la toma de muestras y el procesamiento de las muestras. Finalmente, se describe el procedimiento de inactivación de Formaldehído.

6.1 EQUIPOS Y REACTIVOS

- Espectrofotómetro UV-vis “Shimadzu” UV-1700 Pharmaspec
- Celdas de vidrio de 1 cm
- Balanza analítica Denver Instrument Company AA 160
- Centrífuga Hettich Universal 32R
- Formalina – (Mallincrodt) CAS: 50-00-0
- Acido Sulfúrico - (JT Baker) CAS: 7664-93-9
- Agua grado HPLC
- Permanganato de potasio –(Bayer) CAS:7722-64-7
- Bisulfito de sodio – (JT Baker) CAS: 7631-90-5
- Acido Cromotrópico – (Carlo Erba) CAS:5808-22-0
- Micropipetas Brand de volumen variable de 100 – 1000 µL
- Matraces aforados de 5 y 10 mL

Todas las soluciones se preparaban en el día en que se requerían y se almacenaron a temperatura ambiente, en recipientes oscuros, debidamente rotulados.

6.2 TÉCNICA DE ÁCIDO CROMOTRÓPICO – PROCEDIMIENTO

En un tubo de ensayo, se tomó solución de formalina (0,50 mL), se adicionó permanganato de potasio al 1% (una gota). Transcurridos 10 minutos, se agregó solución saturada de bisulfito de sodio (una gota) para decolorar. Luego, se añadió ácido cromotrópico al 5% (0,15 mL); el tubo de ensayo se introdujo en un baño de hielo para adicionar lentamente 1,50 mL de ácido sulfúrico concentrado. Se observó el color y el tubo se dejó en baño de agua a ebullición durante 15 minutos, se enfrió y diluyó con agua HPLC en un matraz aforado de 5,00 mL. Se leyó en el espectrofotómetro a 576,5 nm contra el blanco. Ver anexo 3.

Con el fin de verificar si el ácido cromotrópico que se estaba usando era de buena calidad, se tomó un espectro infrarrojo (en KBr) de éste. CA fue facilitado por la Facultad de Salud. El espectro es idéntico al espectro de referencia. Ver anexos 4 y 5.

6.3 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO PARA OBTENER LA CURVA DE CALIBRACIÓN

Se tomaron alícuotas de la solución de formalina (0,50 mL) en un tubo de ensayo, se agregó 1 gota de solución de KMnO_4 al 1% y se dejó transcurrir 10 minutos. Luego se adicionó una gota de bisulfito de sodio solución saturada hasta que

desapareció el color, se añadió 0,15 mL de solución de ácido cromotrópico al 5%, se introdujo el tubo de ensayo en un baño de hielo y se agregó lentamente 1,50 mL de ácido sulfúrico concentrado dejando deslizar por las paredes hasta que apareció un anillo de color violeta intenso. Después, el tubo de ensayo se dejó en un baño de agua hirviendo por 15 minutos, se enfrió, se enrasó a 5,00 mL y se tomó la cantidad necesaria para medir en el equipo de ultravioleta.

Estos pasos se repitieron con cada uno de los tubos que contenían la solución de formalina, con concentraciones de: 0,15 ; 0,38 ; 1,51 ; 2,27 ; 3,02 y 3,78 ppm. Los cálculos se hicieron inicialmente para obtener concentraciones de 0,20; 0,50; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 y 5,0 ppm. Los valores de concentración fueron rectificados usando el método de la Norma Covenin 946 y las concentraciones reales aparecen en la Tabla 1. Cada uno de estos tubos se introdujo en el equipo de ultravioleta para obtener las absorbancias correspondientes; los resultados aparecen en la Tabla 2.

6.4 ESTANDARIZACION DE FORMALINA POR EL METODO DE LA NORMA VENEZOLANA COVENIN 946

Para la preparación de los estándares se utilizó formalina, la cual fue normalizada con el método COVENIN 946 (para determinar la concentración real de Formaldehído) y se prepararon las soluciones para la creación de la curva de calibración; de estas soluciones se tomaron alícuotas de 0,50 mL y se trataron con el ácido cromotrópico siguiendo el procedimiento descrito para su lectura espectrofotométrica.

6.5 PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRAS

No se encontraron estudios preliminares de la concentración de Formaldehído en una piscina con estas características. Por esta razón, adoptamos un procedimiento preliminar en el que se tomaron 10 muestras en una prueba piloto y se procesaron.

Con base en la prueba piloto, se tomaron muestras en varios puntos de la piscina para verificar la uniformidad de la concentración de Formaldehído. Un total de 28 muestras, clasificadas como superficiales y profundas, fueron tomadas a 15,0 y 35,0 cm de profundidad, respectivamente (ver anexo 6). En todos los casos se midió la temperatura previamente (Tabla 7). Las muestras se depositaron en recipientes de vidrio de 13,0 mL con tapa plástica que sella herméticamente (foto 2).

En este estudio por ser de tipo exploratorio, se acudió al muestreo no probabilístico intencional. Las muestras fueron seleccionadas de puntos diferentes a lo largo de la piscina y a dos profundidades, se consideró que los puntos y la profundidad de donde se tomaron las muestras hacen que éstas representen en buena medida el comportamiento general de la piscina. En este tipo de estudios y de muestreo no es tan importante determinar el tamaño de muestra mediante fórmulas estadísticas, sin embargo, el número de puntos evaluados ($n=28$), se considera un buen tamaño de muestra; los resultados encontrados en esta investigación, permitirán proyectar que en un futuro estudio se pueda realizar un muestreo probabilístico que exige mayor rigurosidad estadística.

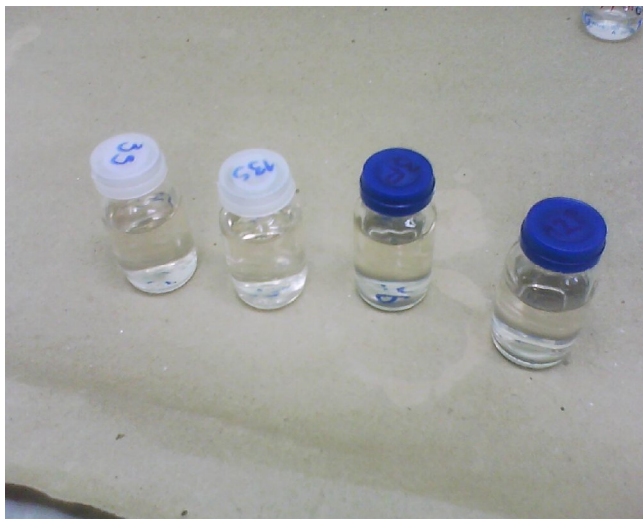


Foto 2. Recipientes de vidrio con tapa hermética.

Dichas muestras se transportaron refrigeradas al laboratorio, dentro de una nevera de poliestireno y con pilas frías para mantener la temperatura por debajo de los 15°C. de tal forma que no se perdiera formaldehído de las muestras por incremento de la temperatura.

Durante la toma de muestras se usaron los siguientes elementos de protección personal: respirador de cara completa (3M, serie 6000) con filtros para vapores de Formaldehído, guantes (calibre 35, talla 10, 14" de longitud) y bata de laboratorio manga larga.

6.6 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS PARA CUANTIFICACIÓN DE FORMALDEHIDO

Se puede cuantificar Formaldehído proveniente del metanol presente en las muestras, oxidándolo con solución de KMnO_4 y luego eliminando el color con bisulfito de sodio, para luego seguir con la adición de la solución de CA, H_2SO_4 , calor y medición en el instrumento de absorción ultravioleta.

De la misma forma se puede cuantificar Formaldehído presente en las muestras adicionando la solución de CA, H_2SO_4 , calentando y luego midiendo en el equipo de ultravioleta. Las muestras fueron tratadas aplicando la técnica de ácido cromotrópico y en éstas se puede ver un precipitado de color oscuro, por lo que se dejaron decantando de un día para otro (foto 3).

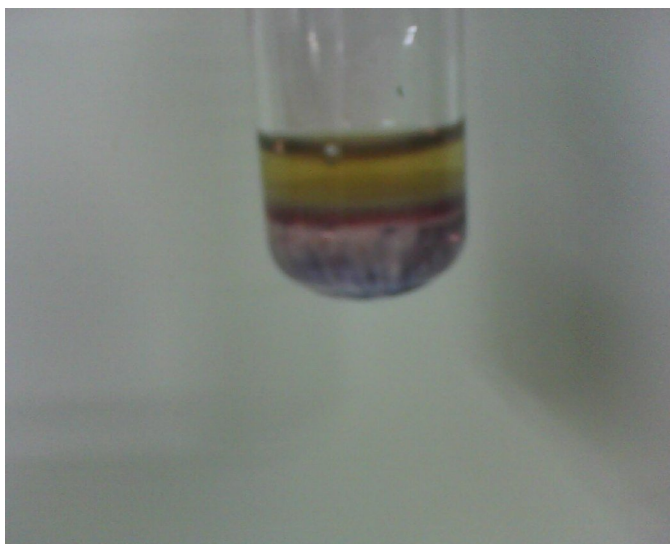


Foto 3. Muestra tratada con la técnica de ácido Cromotrópico después de agregar ácido sulfúrico

Al día siguiente, las muestras fueron centrifugadas (foto 4) a 3000 rpm, a 20,0°C por 5 min en la centrífuga Hettich Universal 32 R.

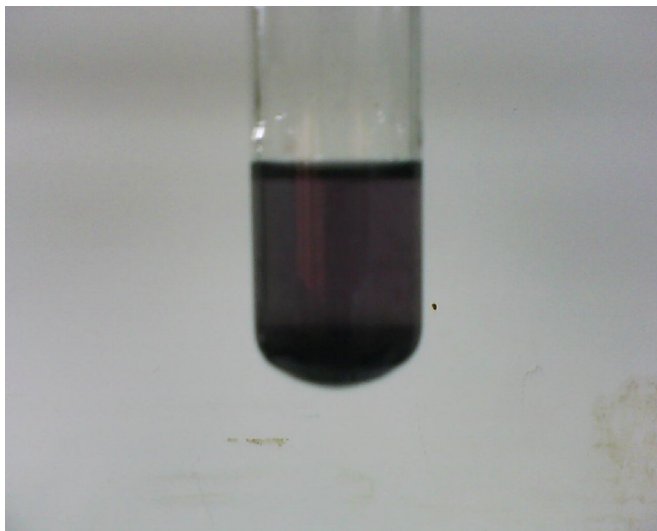


Foto 4. Muestra centrifugada com material decantado

La solución sobrenadante se transfirió con ayuda de un gotero a una jeringa de 10,0 mL, la cual estaba conectada a un trompo dentro del cual se encontraba el filtro Whatman No1. Se introdujo el émbolo en la jeringa y se presionó suavemente permitiendo que la solución pasara a través del filtro; dicha solución se recolectó en un nuevo tubo de ensayo. Esta operación se repitió pero esta vez con un filtro de nylon de 0,45 μm , procedimiento que permitió obtener una solución traslúcida para ser medida en el espectrofotómetro. La alícuota inicial de 0,50 mL se diluyó hasta 5,0 mL. De ésta solución se introducía aproximadamente 1 mL en la celda de vidrio para medir la absorbancia. En algunas ocasiones los valores que arrojaba el equipo no estaban dentro del rango correspondiente a la

zona lineal de la curva de calibración, por lo que fue necesaria otra dilución. Con las absorbancias encontradas y usando la zona lineal de la curva, se calcularon las concentraciones de Formaldehído en los diferentes lugares de la piscina (ver capítulo de resultados, Tabla 2).

6.7 PROCEDIMIENTO PARA LA INACTIVACIÓN DE FORMALDEHIDO EN LAS MUESTRAS

Se tomaron alícuotas de 1,0 mL de 4 muestras: 2 superficiales y 2 profundas en sendos tubos de ensayo, se agregó 1,0 mL de una solución de bisulfito de sodio de concentración igual a cada una de las muestras, pues ya se conocía su concentración de Formaldehído y dado que la relación estequiometríca de la reacción de inactivación entre Bisulfito de Sodio y Formaldehído es de 1:1, las concentraciones de la solución de bisulfito se prepararon con igual concentración.

7. RESULTADOS Y DISCUSION

En este capítulo se presentan los resultados y la respectiva discusión de las curvas de calibración y del efecto de modificaciones hechas en la técnica del CA. También se presenta la caracterización de la piscina con base en las concentraciones halladas; así como los resultados al oxidar las muestras con permanganato de potasio al 1% y al inactivar con bisulfito de sodio cuatro muestras de la piscina.

7.1 DATOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN

Los datos usados para la construcción de la curva de calibración aparecen en la Tabla 1. La primera columna muestra la concentración de Formaldehído (en ppm) y la correspondiente absorbancia a 576,5 nm.

TABLA 1. Datos para la curva de calibración de formalina

DATOS CURVA	
concentración (ppm)	Absorbancia
0,15	0,064
0,38	0,074
0,76	0,103
1,51	0,154
2,27	0,210
3,02	0,263
3,78	0,286

Ver anexo 1 y 2 validación de supuestos del modelo.

Se calcularon los límites de detección LD y Cuantificación LC, obteniéndose los valores de LD=0,35 ppm y LC=1,16 ppm, al igual que la sensibilidad S=0,065.

Para el propósito de la presente investigación, los valores LD y LC obtenidos permiten verificar si la inactivación de Formaldehído con Bisulfito de Sodio se efectuó o no, la pendiente obtenida que corresponde a la sensibilidad funciona mejor en los datos 3, 4 y 5, donde la linealidad es muy buena.

7.2 COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA DE CA CON H_3PO_4 Y CON HCL EN LUGAR DE ÁCIDO SULFÚRICO

La peligrosidad y los cuidados requeridos al manipular ácido sulfúrico concentrado son conocidos. Debido a esto, se realizaron dos modificaciones a la técnica del CA, reemplazando el ácido sulfúrico por ácido clorhídrico concentrado y peróxido de hidrógeno al 5% y Ácido Fosfórico, tal como sugiere la bibliografía ^{10 y 11} respectivamente. Estos dos procedimientos alternos propuestos en literatura tenían dos ventajas aparentes; la primera es que usan reactivos menos peligrosos comparativamente con el ácido sulfúrico y el tiempo usado en la revelación del color es menor; recordemos que la técnica original requiere diez minutos en un baño de agua hirviendo, mientras que la propuesta bibliográfica usa la energía de un horno microondas. El procedimiento se siguió como se describió anteriormente en 6.2, pero en lugar de ácido sulfúrico se agregó ácido clorhídrico y peróxido de hidrógeno (37% y 5%) para luego pasarlo por un horno microondas (35 s), obteniendo el color violeta. La absorbancia (a 576,5 nm) medida por esta técnica fue muy baja, cercana a 0,2. Debido al poco tiempo con que se contaba para estandarizar la técnica bajo las condiciones del laboratorio, se optó por suspender

esta prueba.

En otra modificación, el ácido sulfúrico fue reemplazado con ácido fosfórico y peróxido de hidrógeno¹¹. Los resultados fueron similares a los obtenidos con ácido clorhídrico + peróxido. Igualmente se suspendió.

7.3 CARACTERIZACIÓN DE LA PISCINA, CONCENTRACIONES DE LA SOLUCIÓN DE FORMALDEHIDO.

Tabla 2. Tabla de frecuencias de la concentración de Formaldehido en la Piscina del Anfiteatro de la Facultad de Salud (n = 28).

CONCENTRACIÓN (ppm)	NÚMERO DE MUESTRAS	PORCENTAJE
5,0 a 20,0	7	25,0
20,1 a 35,0	10	35,7
35,1 a 50,0	6	21,4
50,1 a 65,0	1	3,6
65,1 a 80,0	3	10,7
80,1 a 95,0	1	3,6
TOTAL	28	100,0

Como se puede apreciar en la Tabla 2, las concentraciones de Formaldehido varían entre 5 y 95,00 ppm. En el 82,14% de las 28 muestras obtuvimos concentraciones de Formaldehido en el rango entre 5,00 a 50,00 ppm. Es decir, la concentración de Formaldehido en la piscina no es homogénea.

Dado el tamaño de la piscina, lo reactivo y volátil del compuesto, era de esperarse una disminución de la concentración presente en la piscina al compararla con la solución original del 37% de Formaldehído, adicionalmente durante la preparación de las muestras con la técnica aplicada, en los tubos de ensayo se pudo apreciar gran cantidad de material orgánico (foto 3) proveniente de los cadáveres, en el tubo de ensayo se pueden observar al menos dos fases, en la parte superior una solución de color amarillo de aspecto graso y lechoso y en la parte inferior una fase translúcida de color violeta, que indica la presencia del complejo CA-Formaldehído, esta situación se presentó en todas las muestras procesadas, la fase superior en algunos casos era mucho mayor a la fase inferior, esto ocurría cada vez que se adicionaba Acido Sulfúrico; en las 10 muestras de la prueba piloto se presentó material orgánico (foto 4) que interfirió con la medición en el equipo de ultravioleta. Durante la toma de muestras había cuerpos en la superficie de la piscina, los cuales presentaban desprendimiento de piel y heridas, situación que explica una de las razones por la que la concentración de Formaldehído varía en la piscina.

Concentraciones en ppm de Formaldehído de los puntos muestreados en la piscina:

Esquema de una Vista lateral 1 de la piscina

13 S	11 S	9 S	7 S	5 S	3 S	1 S
[67,51]	[89,74]	[46,00]	[53,61]	[22,20]	[18,34]	[26,46]
13 P	11 P	9 P	7 P	5 P	3 P	1 P
[18,98]	[36,54]	[24,37]	[11,25]	[29,54]	[19,46]	[21,60]

Concentraciones en ppm de Formaldehído de los puntos muestreados en la piscina:

Esquema de una Vista lateral 2 de la piscina

14 S	12 S	10 S	8 S	6 S	4 S	2 S
[40,00]	[68,00]	[48,61]	[77,86]	[44,65]	[48,38]	[14,93]
14 P	12 P	10 P	8 P	6 P	4 P	2 P
[19,21]	[26,13]	[28,15]	[26,84]	[8,94]	[20,50]	[20,43]

Con base en los anteriores esquemas se puede apreciar la heterogeneidad de las concentraciones de Formaldehído, encontrándose las concentraciones más bajas en los sitios 6 y 7 profundos (8,94 y 11,25 ppm respectivamente). En general, las concentraciones en los sitios superficiales son mayores que en los sitios profundos, a excepción de los sitios 2, 3 y 5. Es posible que la distribución heterogénea de Formaldehído en sitios superficiales y profundos sea debida a la presencia de materia orgánica (piel, fluidos biológicos, desprendida de los cadáveres) que reacciona con Formaldehído, el material orgánico que se ha desprendido de los cadáveres, asciende muy lentamente desde el fondo de la piscina a la superficie, no es usual que el agua de la piscina sea agitada.

Puesto que las concentraciones en la piscina son superiores al rango de linealidad de los datos de la curva de calibración (Tabla 1), los valores de la Tabla 2 fueron calculados utilizando los factores de dilución apropiados para que la absorbancia de las muestras de la piscina estuviera en el rango lineal.

Los valores obtenidos en las muestras tomadas dan cuenta de una variabilidad en los datos, debido principalmente a la forma en que se preservan los cadáveres en la piscina. Algunos de ellos no se encontraban totalmente sumergidos, lo que facilita la descomposición de los tejidos y las reacciones que se producen con las proteínas y otros compuestos provenientes de estos tejidos que se unen fácilmente con Formaldehído disponible en la solución.

7.4 PROCESAMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE METANOL EN MUESTRAS OXIDADAS

La solución comercial de formalina adquirida por el anfiteatro es 37:11, lo cual debe corresponder a 37 % de formaldehído y 11% de metanol. A solicitud del personal del anfiteatro, evaluamos el contenido de metanol en la piscina, mediante oxidación de MeOH con permanganato de potasio al 1%. Así, el metanol presente en la muestra se oxida a Formaldehído, el cual es cuantificado mediante la técnica de ácido cromotrópico. En todas las pruebas, contrario a lo indicado en las etiquetas, encontramos que la concentración de metanol es mayor que la concentración de Formaldehído.

Tabla 3. Tabla de frecuencias de la concentración de Metanol en la piscina

Distribución Concentración de Metanol		
Concentración (ppm)	Número de Muestras	%
3,91 a 11,52	4	14,3
11,53 a 19,14	4	14,3
19,15 a 26,76	4	14,3
26,77 a 34,38	7	25,0
34,39 a 42,0	4	14,3
42,1 a 49,72	3	10,7
49,73 a 57,34	2	7,1
Total	28	100

En una serie de experimentos de control, verificamos la oxidación total del metanol con permanganato, mediante cromatografía de gases usando propanol como estándar interno. Al evaluar mediante cromatografía de gases una muestra previamente procesada con permanganato de potasio, observamos la desaparición total del pico correspondiente a metanol. Es decir, el metanol es cuantitativamente oxidado por la solución de permanganato.

7.5 RESULTADOS DE LA INACTIVACIÓN

Se realizó la adición de bisulfito de sodio en cuatro muestras. Se tomaron alícuotas de 1,0 mL de cada muestra y 1,0 mL de solución de bisulfito de sodio de igual concentración que cada muestra, el cual fue adicionado y se dejó a temperatura ambiente con una leve agitación manual durante 10 minutos, posteriormente se midió en el equipo de UV-vis. Los resultados se pueden ver en la Tabla 4.

Tabla 4. Resultados de la Inactivación de Muestras

Muestra	Calidad	
	Cruda	Tratada
	Concentración de formaldehído, ppm	
13s	67.51	N.C
3s	18.34	N.C
12p	26.13	N.C
3p	19.46	N.C

Se eligieron cuatro muestras, dos superficiales (3s y 13s) y dos profundas (3p y 12p). La concentración de formaldehído en estas muestras está en el rango de mayor frecuencia de concentración (entre 14,75 a 75,00 ppm), las muestras crudas hace referencia a las muestras obtenidas de la piscina, es decir que no han recibido tratamiento. La adición de bisulfito de sodio se realizó directamente a cada muestra.

En la Tabla 4 se muestran los resultados. La inactivación procedió como se esperaba, la absorbancia de las muestras inactivadas no permite cuantificar la

concentración de Formaldehído, dado que los valores de absorbancia obtenidos de las muestras tratadas, estuvieron por debajo del valor LC y por encima del valor LD, con base en esto podemos asegurar que, bajo las condiciones en las que se realizó la inactivación con bisulfito de sodio, el método funciona, es decir, las muestras redujeron la concentración de Formaldehído a valores menores a 1,16 ppm.

8. CONCLUSIONES.

- La técnica de análisis de Formaldehído con $\text{CA}/\text{H}_2\text{SO}_4$ es confiable y permite determinar concentraciones de formaldehído hasta de 1,16 ppm, suficiente para cuantificar Formaldehído en la piscina del anfiteatro.
- Las cantidades de Formaldehído en la piscina son menores a 10%, indicando que una gran cantidad de Formaldehído original reacciona con los compuestos presentes en la piscina y otra fracción (sin cuantificar aun) escapa al aire.
- En las piscinas existe materia orgánica (no cuantificada aun mediante pruebas de DBO y DQO). Las partículas en suspensión producidas por esta materia cuando se desarrolla la técnica de cuantificación de Formaldehído, interfieren con la medición de la absorbancia. En consecuencia, es fundamental centrifugar y filtrar las muestras para su posterior lectura en el equipo de ultravioleta.
- De los resultados obtenidos con la inactivación de las muestras elegidas de la piscina, que fueron tratadas con bisulfito de sodio, podemos asegurar que la inactivación redujo la concentración de Formaldehído, con base en los resultados, el uso de bisulfito de sodio es un método sencillo, rápido y efectivo para eliminar Formaldehído de las aguas de la piscina del anfiteatro.

9. RECOMENDACIONES

- La propuesta de inactivar Formaldehído con solución de bisulfito de sodio debe ser implementada con una instrucción y entrenamiento previo a las personas responsables de la inactivación en el anfiteatro.
- Realizar pruebas con solución de la piscina in situ, cuantificando primero la cantidad de Formaldehído presente e inactivando con una solución de bisulfito de sodio de igual concentración.
- Deberá estandarizarse mediante el método covenin 946 la cantidad de Formaldehído presente en la solución de formalina que usan en la piscina del anfiteatro, con el fin de calcular la concentración de Formaldehído que se adiciona en esta, conocer la concentración real de la solución de Formaldehído facilitará su uso e inactivación, además de verificar la calidad de la solución que le proveen a la Institución.
- Se hace imperativo que para un mejor manejo de los cadáveres de la piscina y su preservación, estos deben permanecer sumergidos en la piscina.
- Se recomienda para un futuro estudio realizar un Muestreo Aleatorio Simple de tamaño 62. Para el cálculo del tamaño de muestra se utilizó la información del promedio de la concentración y de la desviación estándar encontradas en la superficie de la piscina, por tener mayor concentración y mayor variación y un nivel de confiabilidad del 95%.
Desviación estándar estimada = $S=22.6$, Error de Muestreo = 4.76 (el 10% del promedio estimado con el actual estudio).

10. REFERENCIAS

1. Guerrero, J.A, Valderrama, J.A. 2007. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de Formaldehído capaz de Disminuir el crecimiento Bacteriano de Cepas Obtenidas en Piscinas de Conservación Cadavérica. Tesis Pregrado, Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias.
2. Kolah, A. K.; Sharma, M. M. *Separat. Techn.* 1995, 5, 13-22.
3. Hesham R. Lotfy,*,I.G. Rashedb. *Water Research* 36 (2002) 633–637.
4. Masters, A. N. *Am. J. Aquacul.* 2004, 66, 325–333.
5. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, IARC, Monografía No 88, Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxypropan-2-ol. WHO-IARC, Lyon, Francia, 2006. Disponible en <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol88/index.php> (acceso más reciente: 5 de Mayo de 2011).
6. Luoping Z, Laura E. Beane F, Jun N, Stephen S.H.,Vandenberg, JJ, Martyn T. S, and Babasaheb R. S. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 51:181-191 (2010).
7. Morrison, R. T; Boyd, R. N; *Química Orgánica*. 2a Ed. México: Addison-Wesley Iberoamericana, S.A. 1987. 734,759 pp.
8. Kiernan, J.A. Departamento de Anatomía y Biología Celular, La Universidad de Western Ontario, Londres, 5C1 Canadá N6A. 2002. Disponible en <http://publish.uwo.ca/~jkiernan/formglut.htm> (acceso más reciente: 5 de Mayo de 2011).
9. <http://www.astm.org/DATABASE.CART/HISTORICAL/E1333-96R02.htm> (acceso más reciente: 14 de Mayo de 2011).
10. Fagnani, E.; Melios, C.B.; Pezza, L.; Pezza, H.R.. *Chormotropic acid-*

formaldehyde reaction in strongly acidic media. The role of dissolved oxygen and replacement of concentrated sulphuric acid. Instituto de Química – UNESP; Araraquara, SP, Brazil; 2003.

11. Gigante, A.C.; Gotardo, M.A.; Tognolli, J.O.; Pezza, L.; Pezza, H.R.. Spectrophotometric determination of formaldehyde with chromotropic acid in phosphoric acid medium assisted by microwave oven. Instituto de Química – UNESP; Araraquara, SP, Brazil; 2003.
12. www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/946-00.pdf. (acceso más reciente: 14 de Mayo de 2011).
13. Dong, S.; Dasgupta, P. K. *Environ. Sci. Technol.* 1987, 21, 581-588.
14. Kaszycki, P.; Koloczek, H. *Biodegradation* 2002, 13, 91–99.
15. <http://www.h2o2.com/industrial/applications.aspx?pid=83&name=Industrial-Applications>. (acceso más reciente: 14 de Mayo de 2011)
16. Murphy, A. P.; Wilbur, J. B.; Price, M. K.; Moody, C. D. *Environm. Sci. Technol.* 1989, 23, 166–169.
17. Rebafka, W.; Heilen, G.; Fliege, W.. German Offen. Pat. 2,931,692; 1981 Chem. Abstr. 94, 174320.
18. Ogata, Y.; Kawasaki, A. *Bull. Chem. Soc. Japan* 1964, 37, 514-519.
19. (a) Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists; Part B, 1972, pp 332-333, 590-591. (b) Standard Methods of Chemical Analysis: Sixth Edition; United States of America, 1963, p 640.
20. (a) Nash, T. *Biochem. J.* 1953, 55, 416-421. (b) Kleeberg, U.; Klinger, W. *J. Pharmacol. Methods* 1982, 8(1), 19-31. (c) Abbasi, S.; Esfandyarpour, M. Taher, M.A.; Daneshfar, A. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2007, 67(3-4), 578-581.
21. Resolución 2400 de 1979 Del Ministerio de Trabajo y Seguridad Social, título III, capítulo VIII, establece el numeral 2.3.8. “De las concentraciones máximas permisibles.

ANEXOS

ANEXO 1. DATOS ESTADÍSTICOS: FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Tabla 5. Características de las variables del problema

VARIABLES DEL PROBLEMA			
Variable	Unidad de medición	Escala	Descripción
Y (Dependiente)	Absorbancia	Cuantitativa continua	Absorbancia
X (Independiente)	ppm. (partes por millón)	Cuantitativa continua	Concentración

A continuación se genera un Modelo de regresión lineal simple que estudia la relación lineal entre la variable respuesta (Y: Absorbancia) y la variable regresora (X: Concentración), a partir de una muestra (X_i, Y_i) , $i = 1, \dots, 7$, por lo tanto el modelo de regresión lineal simple es:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X + \varepsilon$$

$$Y = 0.05479 + 0.06491X$$

ANEXO 2. DATOS ESTADÍSTICOS: VALIDACION DE LOS SUPUESTOS

En el análisis del modelo lineal

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i, \quad i = 1, \dots, 7$$

Se han hecho algunos supuestos, generalmente con respecto al vector de errores ε :

1. El modelo propuesto está correctamente especificado, esto significa que:
 $E(\varepsilon_i) = 0, E(\varepsilon) = 0$.
2. Homogeneidad de la varianza de los errores. Es decir constante,
 $V(\varepsilon_i) = \sigma^2, V(\varepsilon) = \sigma^2$.
3. No correlación entre los errores. Es decir, $Cov(\varepsilon_i, \varepsilon_j) = 0$.
4. Distribución normal de los errores. Es decir, $\varepsilon \sim N(0, \sigma^2)$.

Es claro que si no se cumplen algunas propiedades se pierden importantes características de los estimadores; si no se cumple el supuesto 1, los estimadores pierden la propiedad de insesgamiento. De igual manera, si no se cumplen los supuestos 2 y 3, pierden la condición de optimalidad, y si no se cumple el supuesto 4 se pierde eficiencia, además de que se altera la potencia de las pruebas de hipótesis.

El término validación debe entenderse en el sentido de las pruebas de hipótesis, es decir, validar un supuesto es no encontrar suficiente evidencia para rechazarlo, estrictamente no se prueba que el supuesto se cumple.

Normalidad de los residuales

Para evaluar la normalidad pueden utilizarse también test estadísticos. Los dos más comunes son el test de Shapiro-Wilks y una modificación del test de Kolmogorov-Smirnov, cada uno calcula el nivel de significación para las diferencias respecto a una distribución normal, hay que recordar que los test son menos útiles en muestras pequeñas ($n < 30$) y muy sensibles para grandes muestras ($n > 1000$), por lo tanto se usará un método gráfico y el test de Shapiro-Wilks.

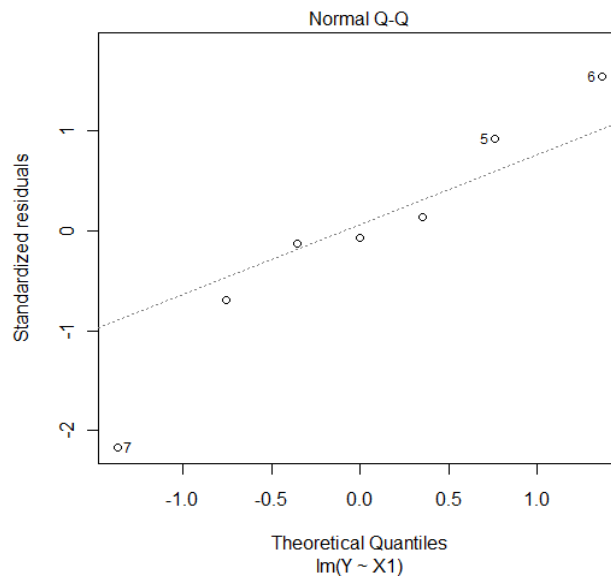
Se plantea la siguiente hipótesis:

H_0 : Hay normalidad en los residuos

H_1 : No hay normalidad en los residuos

El test de Shapiro-Wilks dió como resultado un $p\text{-value} = 0.4049$. Teniendo en cuenta el criterio de decisión, $p\text{-value} > 0.05$ no se rechaza H_0 , hay evidencia suficiente que los residuos se distribuyen normalmente.

Ahora, en la Gráfica 2 se establece como las observaciones se ajustan muy bien al modelo, por lo que gráficamente se evidencia que los residuos también se distribuyen normalmente.



Gráfica 1. de normalidad Q-Q

Modelo correctamente especificado

Para evaluar lo idóneo del modelo de regresión ajustado se deben graficar los residuales en el eje vertical en función de los valores correspondiente de la variable independiente X_i en el eje horizontal (Ver Gráfica 1).

Tabla 6. Observaciones y Valores Residuales

Observación	Residuales
1	-0.0005280922
2	-0.0054569066
2	-0.0011219043
4	0.0011971793
5	0.0078671840
6	0.0121862676
7	-0.0141437277



Gráfica 2. Modelo correctamente especificado

En la Grafica 2 se observa que los residuales fluctúan alrededor de cero lo que lleva a concluir que el modelo de la línea recta ajustada es adecuado para los datos (ver *tabla 1*).

Por otra parte al obtener la esperanza de los residuales del modelo, se obtiene que dicha esperanza es aproximadamente cero.

$$E(\varepsilon_i) = -3.096510 \times 10^{-19}$$

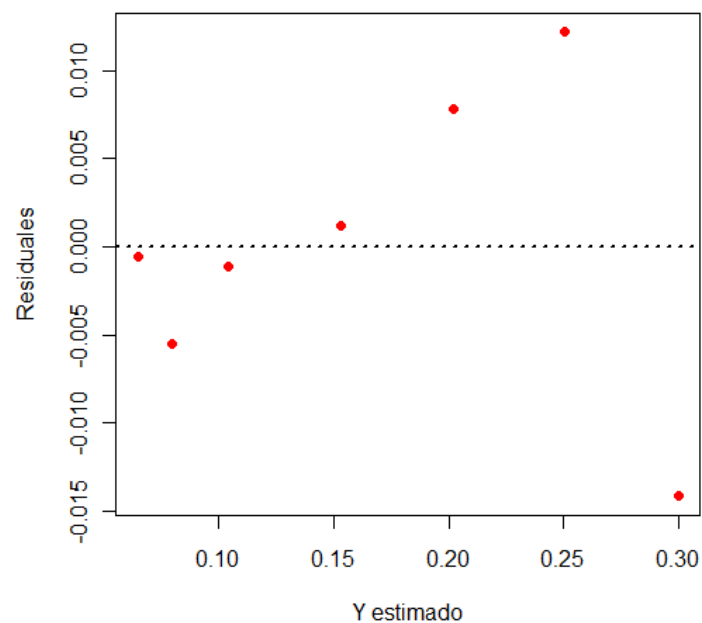
1.1. Homogeneidad de la varianza de los residuos

Se plantea la siguiente hipótesis:

H_0 : Hay homogeneidad de la varianza

H_1 : No hay homogeneidad de la varianza

Para comprobar la homogeneidad de la varianza se utilizará la prueba de Golfeld-Quandt. El test de Golfeld-Quandt arrojó como resultado un $p\text{-value}=0.215$. Teniendo en cuenta el criterio de decisión, $p\text{-value} > 0.05$ no se rechaza H_0 , hay evidencia suficiente que la varianza de los residuos es homogénea. De igual manera se puede realizar un diagrama de dispersión entre los residuales en el eje Y y las respuestas estimadas ($\hat{Y}$) en el eje X.

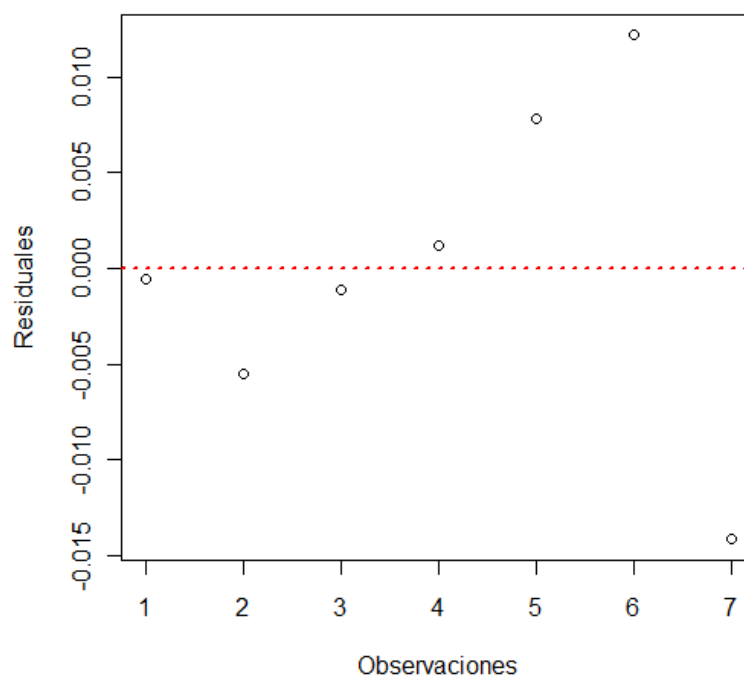


Gráfica 3. Homogeneidad de la varianza

No correlación de los residuos

Para comprobar la no correlación de los residuales $Cov(\varepsilon_i, \varepsilon_j) = 0$ se utiliza la prueba de Durbin Watson, esta prueba se condiciona según el orden de las observaciones, por lo que parte del supuesto de que las observaciones están ordenadas significativamente, como por ejemplo, un orden en el tiempo. Como no se conoce esta condición no se puede aplicar esta estadística, por lo tanto, se hace la validación graficando el residual para cada observación (Gráfica 3).

Así, en la Gráfica 4, se puede observar que no existe correlación entre los residuales, puesto que estos se comportan de manera positiva y negativa, es decir que son independientes.

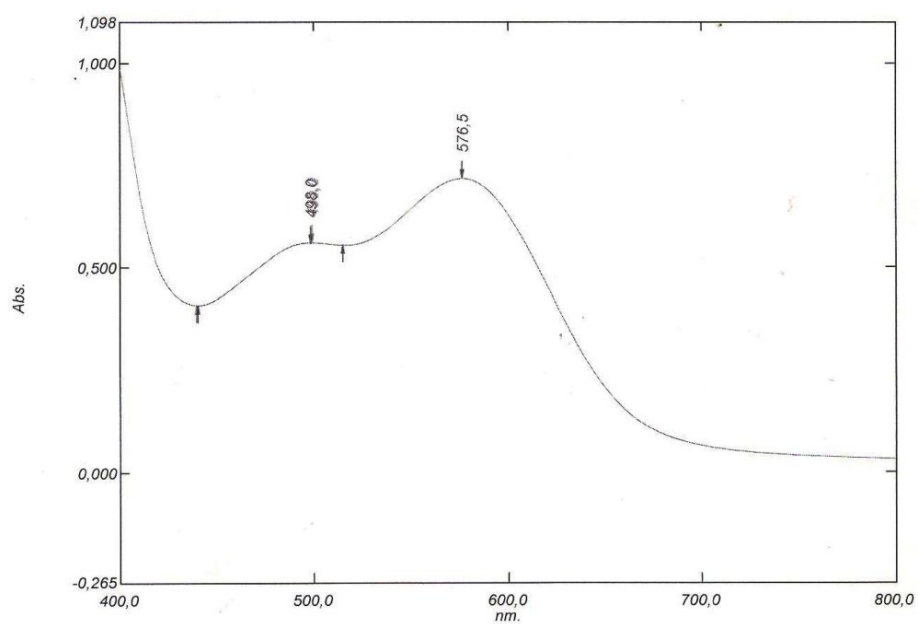


Gráfica 4. Correlación entre los Residuales y las Observaciones

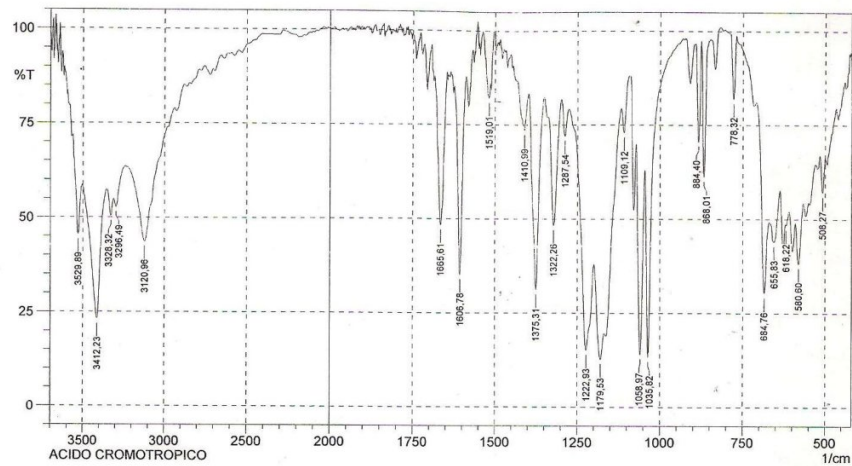
**TABLA 7.Registro de Temperatura en la Distribución de la Toma de Muestras
en la Piscina**

Distribución Toma de Muestras	Grados Centigrados
1s	25
1p	25
2s	25
2p	25
3s	25
3p	25
4s	25
4p	25
5s	25
5p	25
6s	25
6p	25
7s	26
7p	26
8s	25
8p	25
9s	25
9p	25
10s	26
10p	26
11s	25
11p	25
12s	25
12p	25
13s	25
13p	25
14s	26
14p	26

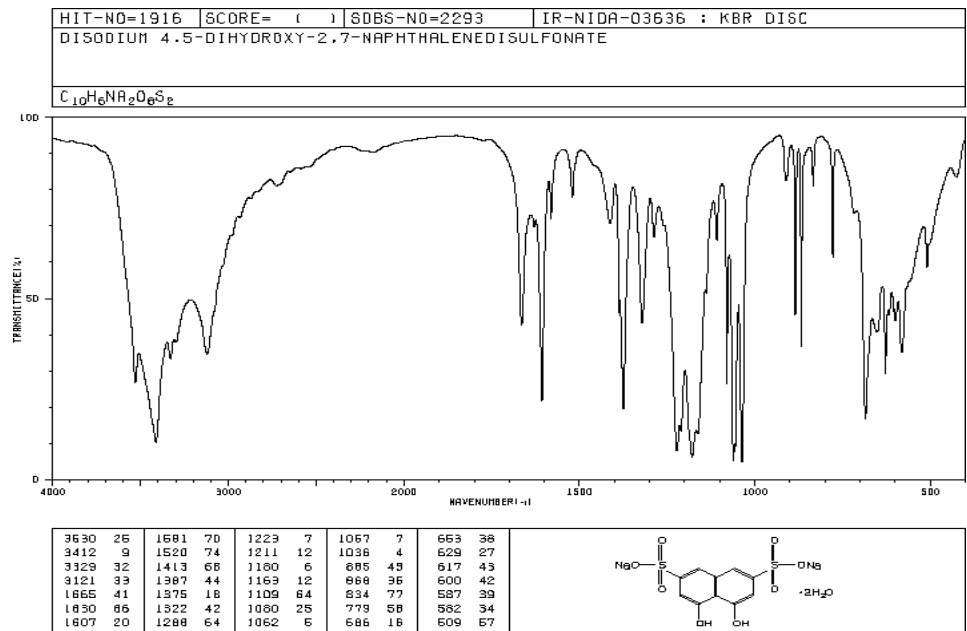
ANEXO 3. ESPECTRO DEL COMPLEJO FORMALDEHIDO CA



ANEXO 4. ESPECTRO INFRARROJO DE CA

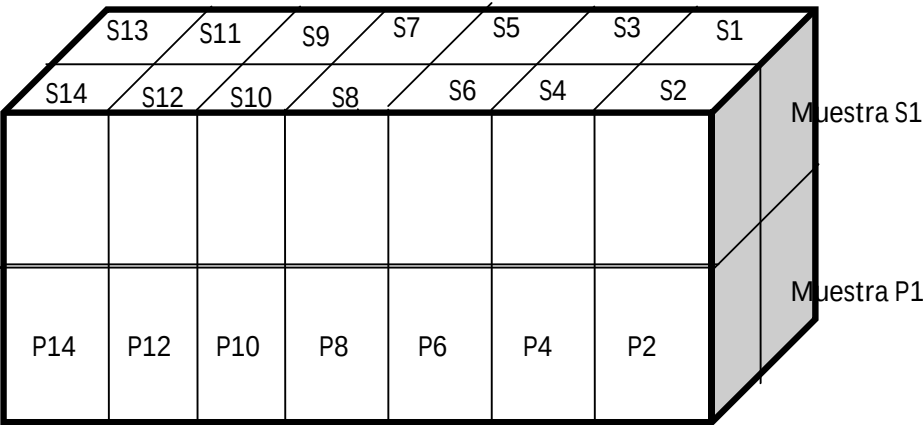


ANEXO 5. ESPECTRO INFRARROJO DE CA BIBLIOGRÁFICO



ANEXO 6. DISTRIBUCIÓN DE LA TOMA DE MUESTRAS EN LA PISCINA

Esquema Tridimensional de la piscina



En el presente esquema aparecen numeradas las Muestras Superficiales = S, que fueron tomadas a 15 centímetros de la superficie. A diferencia de las Muestras Profundas = P, que fueron tomadas a 35 centímetros de la superficie.