

INSTITUTO DE TOXICOLOGÍA DE LA DEFENSA



**PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS DE
AGUA RESIDUAL**

FECHA	REVISIÓN	APARTADO AFECTADO	MOTIVO
08/11/16	2	Todos	Corrección erratas

1. Introducción:

La recolección de las muestras depende de los procedimientos analíticos empleados y los objetivos del estudio. El objetivo del muestreo es obtener una parte representativa del material bajo estudio (agua, efluente industrial, agua residual, etc), para lo cual se analizarán las variables fisicoquímicas de interés. El volumen de material captado se transporta hasta el lugar de almacenamiento (cuarto frío, refrigerador, nevera...), para luego ser transferido al laboratorio para el respectivo análisis, momento en el cual la muestra debe conservar las características del material original. Para lograr este objetivo se requiere que la muestra conserve las concentraciones relativas de todos los componentes presentes en el material original y que no hayan ocurrido cambios significativos en su composición antes del análisis.

El objetivo del muestreo dentro del ámbito de este protocolo, es asegurar que se cumplen las condiciones y validez de las muestras hasta su entrega al laboratorio del Instituto de Toxicología de la Defensa (ITOXDEF), lo que debe ser asumido por las personas responsables del mismo. Las técnicas de recolección y preservación de las muestras tienen una gran importancia, debido a la necesidad de verificar la precisión, exactitud y representatividad de los datos que resulten de los análisis.

Para asegurar el seguimiento de todo lo indicado en el presente protocolo será imprescindible el registro documental de todas y cada una de las fases del muestreo, desde la toma de la muestra hasta su entrega en el ITOXDEF: cadena de custodia

2. Normas generales

1. Los envases para la recogida de las muestras deben estar limpios y secos. Se rotularán con tinta indeleble o etiqueta indicando: número/nombre de la muestra, fecha y hora. En caso de muestras compuestas la fecha y la hora harán referencia a la última muestra simple adicionada.
2. En general se utilizarán envases de plástico de politetrafluoretileno o polietileno. Solo para el caso del análisis de compuestos orgánico volátiles se utilizarán envases de vidrio.
3. Antes de llenar el envase con la muestra, hay que lavarlo 2 o 3 veces con el agua que se va a recoger, a menos que el envase contenga conservante o colorante.
4. Debe llenarse el envase dejando un pequeño espacio para la posible expansión térmica durante el transporte al ITOXDEF, excepto cuando se requiera la determinación de compuestos orgánicos volátiles, completando todo el volumen sin dejar cámara de aire.
5. Algunos parámetros deben determinarse "In situ", pues sus propiedades varían indefectiblemente a los pocos minutos de la toma de muestras: caudal, gases disueltos (O₂, CO₂, ...) temperatura, desinfectante (hipoclorito) y pH, aunque estos dos últimos se determinarán también en el ITOXDEF si así es requerido.
6. Se completarán todos los campos tanto del volante de petición como del documento de transporte de muestras (anexo I)
7. El envío al ITOXDEF se realizará tan pronto como sea posible, manteniendo la muestra a temperatura de refrigeración (4-8 °C) hasta ese momento. Asegurarse de que la muestra está completamente cerrada volteando la misma y observando que no existen pérdidas. Para el envío al ITOXDEF, empaquetar la muestra introduciendo un recipiente con hielo

molido o sustitutos comerciales del hielo. El ITOXDEF no admitirá muestras que sean recibidas a temperatura ambiente.

8. Es recomendable seguir las instrucciones de conservación indicadas en la tabla del anexo II

3. Tipos de muestras

a) Muestra simple.

Es aquella que es tomada en un tiempo y lugar determinado, para su análisis individual. Cuando existan varios puntos de vertido, se entenderá por muestra simple la integrada por cantidades proporcionales al caudal de cada punto.

Deberá recogerse durante la jornada de trabajo de la Unidad.

Esta muestra representa la composición del agua original para el lugar, tiempo y circunstancias particulares en las que se realizó su captación. Este tipo de muestras será el utilizado para aguas residuales cuando la autorización de vertido así lo permita o cuando se analicen aguas residuales con contaminación exclusivamente fecal.

b) Muestra compuesta

Este tipo de muestreo será el realizado para todas las muestras residuales a excepción de aquellas con contenido exclusivamente fecal o cuando la autorización de vertido así lo permita, pues la composición del agua varía significativamente a lo largo del tiempo. En la mayoría de los casos, el término “muestra compuesta” se refiere a una combinación de muestras sencillas o puntuales tomadas en el mismo sitio durante diferentes tiempos. La mayor parte de las muestras compuestas en el tiempo se emplean para observar concentraciones promedio.

Se recogerán varias muestras simples tomadas a intervalos de tiempo precisados de acuerdo con la frecuencia esperada de los cambios. Para conformarla, el volumen de cada una de las muestras simples deberá ser proporcional al caudal de la descarga en el momento de su toma, según la expresión:

$$V_i = V \times Q_i / n \times Q_p,$$

donde :

- V_i = volumen de cada alícuota o porción de muestra,
- V = volumen total a componer (pueden ser 2 L),
- Q_i = caudal instantáneo de cada muestra,
- Q_p = caudal promedio durante el muestreo
- n = número de muestras tomadas

En caso de desconocer la frecuencia de variación de los parámetros, se establece como frecuencia estándar la siguiente: Para jornadas de un solo turno, por ej de 9 a 17 horas (8 horas): recogida de muestra cada 30 minutos durante las 8 horas, con recogidas de 125 ml, hasta completar un volumen final aproximado de 2 litros.

Cuando la composición de las fuentes varíe en el espacio más que en el tiempo, se requiere tomar las muestras en los sitios apropiados.

No se deben emplear muestras compuestas para la determinación de componentes o características sujetas a cambios significativos e inevitables durante el almacenamiento (cloro

residual o pH). Es decir, las muestras compuestas en el tiempo se deben usar para determinar solamente los componentes que permanecen sin alteraciones bajo las condiciones de toma de muestra, preservación y almacenamiento indicados en este protocolo.

La toma de muestras compuestas puede realizarse de forma manual o mediante un muestreador automático.

b.1). Recogida manual:

Tomar porciones individuales del agua en estudio en botellas de boca ancha y combinarlas en una sola botella al momento de tomarlas manteniendo siempre ésta en condiciones de refrigeración a 4°C y oscuridad.

1. Se toma la muestra y se determina el tiempo en que se tomará la siguiente.



2. Se coloca la muestra en el recipiente marcado de acuerdo a los tiempos de muestreo.



3. Finalmente se obtendrá una muestra compuesta tomada en un tiempo de X horas que se mantendrá en refrigeración



4. Anotar todas las operaciones en el documento “volante de petición”

b.2). Recogida mediante muestreador automático

En el mercado existen diferentes sistemas para la recogida automática de muestras compuestas, en los que se pueden programar los intervalos de recogida de la muestra. El equipo utilizado

debe ser capaz de mantener la muestra en condiciones de refrigeración durante todo el ciclo de toma.

Es importante limpiar tales equipos y las botellas diariamente, para eliminar el crecimiento biológico y cualquier otro depósito.

4. Control y vigilancia del muestreo, preservación y transporte: Cadena de Custodia

El proceso de control y vigilancia de muestreo, es esencial para asegurar la integridad de la muestra desde su recolección hasta el informe de resultados y es fundamental para demostrar ante terceros el control y confiabilidad de la muestra.

Los siguientes procedimientos deberán llevarse a cabo como aseguramiento de la cadena de custodia:

- **Precinto.** Para evitar o detectar adulteraciones de las muestras, sellar los recipientes con precintos autoadhesivos, que deberán estar referenciados en el espacio correspondiente del documento de transporte de muestras. Se utilizarán los mismos que los usados para el precintado de muestras de orina para el control de drogas de abuso.

- **Libro de campo.** Cada Unidad deberá estar en posesión de un “Libro de campo de recogida de muestras de aguas residuales”, en el que quedará registrada toda la información relativa a observaciones de campo o del muestreo. Como mínimo deberá registrarse:

- Fecha y hora de recolección.
- Propósito del muestreo
- Localización de la estación de muestreo o del punto de muestreo
- Tipo de muestra (Simple o compuesta)
- Método de preservación si es aplicable.
- Si se trata de una muestra de aguas residuales, identificar el proceso que produce el efluente.
- Número y volumen de la muestra tomados
- Observaciones e incidencias durante la toma de manera que se pueda reconstruir el evento del muestreo.
- Responsable/s de la toma
- Firmas del personal responsable.

El libro de campo deberá custodiarse en la Unidad y podrá ser requerido por los servicios de inspección del titular del Sistema Integral de Saneamiento (Generalmente la administración municipal)

- **Volante de solicitud** de análisis de agua residual. Cada muestra debe llegar a laboratorio acompañada de una solicitud de análisis. La versión más actualizada de este documento puede descargarse de la siguiente dirección:

<http://www.defensa.gob.es/itoxdef/documentacion/volantes/>

No obstante, podrán utilizarse otros sistemas de cadena de custodia que aseguren la integridad de la muestra. En este sentido sería factible utilizar los servicios de custodia de Agentes de la Autoridad (SEPRONA, etc)

- Transporte al Instituto de Toxicología de la Defensa (ITOXDEF)

El envío al ITOXDEF debería realizarse de tal manera que la muestra fuera recibida en las condiciones requeridas según la tabla del anexo II. De forma general, se procurará que tenga su entrada de lunes a jueves en horario de mañana.

- Documento de transporte (anexo I)

ANEXO I

DOCUMENTO DE TRANSPORTE DE MUESTRAS

D/D^a.....
ha preparado el/los envase/s con el/los número/s de precinto que se relaciona/n:

IDENTIFICACIÓN

Para su transporte al ITOXDEF

..... a..... de..... de.....

Firma

Laboratorio del ITOXDEF

D/D^a.....
ha recibido el/los envase/s, a las (hora)..... del día..... con los
NÚMEROS IDENTIFICATIVOS antes relacionados y DECLARA que el estado de las
muestras (temperatura) y los PRECINTOS INDIVIDUALES de cada envase presentan
el siguiente estado:

- Correcto
- Incorrecto.(describir):.....

Firma

2 EJEMPLARES: un ejemplar para la Unidad y otro para el ITOXDEF. En caso de que el transportista no pertenezca a la Unidad se remitirá una copia del mismo a la dirección de correo electrónico (indicar):.....

ANEXO II

RECOMENDACIONES PARA EL MUESTREO Y PRESERVACIÓN DE MUESTRAS DE ACUERDO CON LOS PARÁMETROS A DETERMINAR

Determinación ¹	Recipiente ²	Volumen mínimo de muestra, (ml)	Tipo de muestra ³	Preservación ⁴	Almacenamiento máximo recomendado ⁵
Aceites y grasas	V	1000	s , c	Añadir HCL hasta pH < 2, Refrigerar	28 d
Acidez	P, V	100	s	Refrigerar	14 d
Alcalinidad	P, V	200	s	Refrigerar	14 d
Boro	P	100	s, c	No requiere	6 meses
Bromuro	P, V	100	s, c	No requiere	28 d
Carbono orgánico, total	V	100	s, c	Análisis inmediato; o refrigerar y agregar H ₃ PO ₄ o H ₂ SO ₄ hasta pH<2	28 d
Cianuro total	P, V	500	s, c	Agregar NaOH hasta pH>12, refrigerar en la oscuridad	14 d ⁶
Cloro residual	P, V	500	s	Análisis inmediato	—
Cloruro	P, V	50	s, c	No requiere	28 d
Color	P, V	500	s, c	Refrigerar	48 h
Plaguicidas	V(S), tapón de TFE	1000	s, c	Refrigerar; agregar 1000 mg ácido ascórbico/L si hay cloro residual	7 d hasta la extracción
Fenoles	P, V	500	s, c	Refrigerar; agregar H ₂ SO ₄ hasta pH<2	40 d después de extraer
COV	V, tapón de TFE	2 × 40	s	Refrigerar; agregar HCl hasta pH<2; agregar 1000 mg ácido ascórbico/L si hay cloro residual	14 d
Conductividad	P, V	500	s, c	Refrigerar	28 d
DBO	P, V	1000	s	Refrigerar	48 h
DQO	P, V	100	s, c	Analizar lo más pronto posible, o agregar H ₂ SO ₄ hasta pH<2; refrigerar	28 d
Fluoruro	P	300	s, c	No requiere	28 d

Fosfato	V(A)	100	s	Para fosfato disuelto filtrar inmediatamente; refrigerar	48 h
Metales, general	P	500	s	Filtrar ⁷ , agregar HNO ₃ hasta pH<2	6 meses
Cromo VI	P (A), V(A)	300	s	Refrigerar	24 h
Mercurio	P (A), V(A)	500	s, c	Agregar HNO ₃ hasta pH<2, 4° C, refrigerar	28 d
Amoniaco	P, V	500	s, c	Analizar lo más pronto posible, o agregar H ₂ SO ₄ hasta pH<2; refrigerar	28 d
Nitrato	P, V	100	s, c	Analizar lo más pronto posible o refrigerar	48 h (28 d para muestras cloradas)
Nitrato + nitrito	P, V	200	s, c	Agregar H ₂ SO ₄ hasta pH<2, refrigerar	28 d
Nitrito	P, V	100	s, c	Analizar lo más pronto posible o refrigerar	48 h
pH	P, V	50	s	Análisis inmediato	—
Sólidos en suspensión	P, V	200	s, c	Refrigerar	2-7 d, ver protocolo
Sulfato	P, V	100	s, c	Refrigerar	28 d
Sulfuro	P, V	100	s, c	Refrigerar; agregar 4 gotas de acetato de zinc 2N/100 mL; agregar NaOH hasta pH>9	7 d
Temperatura	P, V	—	s	Análisis inmediato	—
Turbidez	P, V	100	s, c	Analizar el mismo día; para más de 24 h guardar en oscuridad, refrigerar	48 h

NOTAS

1- Para las determinaciones no enumeradas, usar recipientes de vidrio o plástico; preferiblemente refrigerar durante el almacenamiento y analizar lo más pronto posible.

2- P = plástico, V = vidrio; V(A) o P(A) = enjuagado con HNO₃ 1+1; V(B) = vidrio, enjuagado con solventes orgánicos o secado en estufa.

3- s = simple o puntual; c = compuesta.

4- Refrigerar = almacenar a 4° C en ausencia de luz. La preservación de la muestra debe realizarse en el momento de la toma de muestra. Para muestras compuestas, cada alícuota debe preservarse en el momento de su recolección. Cuando el uso de un muestreador automático haga imposible la preservación de cada alícuota, las muestras deben mantenerse a 4° C hasta que se complete la composición.

5- Las muestras deben ser analizadas lo más pronto posible después de su recolección. Los tiempos listados son los periodos máximos que pueden transcurrir antes del análisis para considerarlo válido.. Algunas muestras pueden no ser estables por el periodo máximo dado en la tabla.

6- El máximo tiempo de almacenamiento es de 24 h si está presente el sulfuro, el cual se puede detectar mediante papel con acetato de plomo antes de ajustar el pH; si el sulfuro está presente, puede removerse por adición de nitrato de cadmio en polvo hasta que se obtenga prueba negativa; después se filtra la muestra y se adiciona NaOH hasta pH 12.

7- Para metales disueltos las muestras deben filtrarse inmediatamente en el sitio de muestreo, antes de adicionar el ácido.