GUÍA NACIONAL PARA LA RECOLECCIÓN Y PRESERVACIÓN DE MUESTRAS

AGUA, SEDIMENTO, COMUNIDADES ACUÁTICAS Y EFLUENTES LÍQUIDOS



2ª EDICIÓN

CETESB

ANA
AGENCIA NACIONAL DE AGUAS
Y SANEAMIENTO - BRASIL

GUÍA NACIONAL PARA LA RECOLECCIÓN Y PRESERVACIÓN DE MUESTRAS

AGUA, SEDIMENTO, COMUNIDADES ACUÁTICAS Y EFLUENTES LÍQUIDOS

2ª EDICIÓN

República Federativa de Brasil
Luiz Inácio Lula da Silva
Presidente

Ministerio de Integración y Desarrollo Regional
Waldez Góes
Ministro

Agencia Nacional de Aguas y Saneamiento Básico

Dirección Colegiada
Veronica Sánchez da Cruz Rios (Directora Presidente)
Maurício Abijaodi
Ana Carolina Argolo
Filipe de Mello Sampaio Cunha
Nazareno Araújo (interino)

Gobierno del Estado de São Paulo
Tarcísio de Freitas
Gobernador del Estado de São Paulo

Secretaría del Medio Ambiente, Infraestructura y Logística
Natália Resende
Secretaria

CETESB – Compañía Ambiental del Estado de São Paulo
Thomaz Miazaki de Toledo
Director Presidente

Directora de Gestión Corporativa
Liv Nakashima Costa
Directora

Director de Control y Licenciamiento Ambiental
Adriano Rafael Arrepia de Queiroz
Director

Directora de Ingeniería y Calidad Ambiental
Carolina Fiorillo Mariani
Directora

Directora de Evaluación e Impacto Ambiental
Mayla Matsuzaki Fukushima
Directora

Agencia Nacional de Agua y Saneamiento Básico
Ministerio de Integración y Desarrollo Regional
Compañía Ambiental del Estado de São Paulo

GUÍA NACIONAL PARA LA RECOLECCIÓN Y PRESERVACIÓN DE MUESTRAS

AGUA, SEDIMENTO, COMUNIDADES ACUÁTICAS Y EFLUENTES LÍQUIDOS

2ª EDICIÓN

Brasilia – DF
ANA
2023

© 2023, Agencia Nacional de Aguas y Saneamiento Básico, 2023

Sector «Policial Sul, Área 5, Quadra 3
Blocos "B", "L" , "M" e "T".
CEP: 70.610-200, Brasília – DF».
PABX: (61) 2109-5400 / (61) 2109-5252
Correo electrónico: https://www.gov.br/ana/pt-br

Comité de Editoración
Joaquim Guedes Correa Gondim Filho (Coordenador)
Humberto Cardoso Gonçalves
Luciano Meneses Cardoso da Silva
Nazareno Marques de Araújo (Secretario Ejecutivo)

Equipo editorial
Supervisión de edición:
Renan Lourenço Oliveira Silva (CETESB)
Maurrem Ramon Vieira (ANA)
Jorge Thierry Calasans (ANA)

© CETESB – Compañía Ambiental del Estado de São Paulo, 2023

Av. Professor Frederico Hermann Júnior, 345, Alto de Pinheiros
CEP: 05459-900, São Paulo – SP
Correo electrónico: www.cetesb.sp.gov.br

Elaboración de los originales:
CETESB – Compañía Ambiental del Estado de São Paulo

Revisión de los originales:
CETESB – Compañía Ambiental del Estado de São Paulo

Proyecto gráfico y de edición
Ladislau Lima

Traducción
Eduardo Lasota, Oriente-se Produções Ltda.

Fotografías: Banco de imágenes de CETESB

Todos los derechos reservados.
Se permite la reproducción de los datos y de lainformación contenidos en esta publicación, siempre y cuando se cite la fuente.

Esta publicación cuenta con la cooperación de la UNESCO en el marco del Proyecto 586RLA2001 "Cooperación Sur-Sur para el fortalecimiento de la gestión integrada y el uso sostenible de los recursos hídricos en el contexto de los países de América Latina y el Caribe y la Comunidad de Países de Lengua Portuguesa (CPLP)", cuyo objetivo es contribuir al fortalecimiento de la gestión integrada y el uso sostenible de los recursos hídricos en los países de América Latina y el Caribe y la Comunidad de Países de Lengua Portuguesa (CPLP).
Los nombres y la presentación del material a lo largo de este libro no implican la expresión de ninguna opinión por parte de la UNESCO con respecto a la condición jurídica de ningún país, territorio, ciudad, región o sus autoridades, ni la delimitación de sus fronteras o límites.
Las ideas y opiniones expresadas en esta publicación son las de los autores y no reflejan necesariamente las de la UNESCO ni comprometen a la Organización.

Catalogación en la fuente: CEDOC/BIBLIOTECA

C737g Compañía Ambiental del Estado de São Paulo (Brasil).

Guía nacional para la recolección y preservación de muestras: agua, sedimento, comunidades acuáticas y efluentes líquidos / Compañía Ambiental del Estado de São Paulo: Agencia Nacional de Aguas y Saneamiento – Brasil; Tradutor: Eduardo Ismael Lasota; Organizadores: Renan Lourenço de O. Silva ... [et al.] . – 2. ed. – São Paulo: CETESB; Brasília: ANA, 2023.
456 p. : il.

ISBN: 978-65-88101-51-3 (Digital)
ISBN: 978-65-88101-52-0 (Impreso)

1. Agua. 2. Monitoreo Ambiental. 3. Muestreo (Estadística). I. Título. II. Silva, Renan Lourenço de O. III. Botelho, Maria Janete Coelho. IV. Sato, Maria Inês Zanoli. V. Lamparelli, Marta Condé.

CDU 556.043(81)(058)

Elaborada por Fernanda Medeiros – CRB-1/1864

ORGANIZADORES, AUTORES Y COLABORADORES

CETESB – COMPAÑÍA AMBIENTAL DEL ESTADO DE SÃO PAULO

Organizadores

Renan Lourenço de O. Silva
Marcia Janete Coelho Botelho (consultora externa)
Maria Inês Zanoli Sato
Marta Condé Lamparelli

Autores

Departamento de Análisis Ambientales
Maria Inês Zanoli Sato

División de Muestreo
Carlos Jesus Brandão
Renan Lourenço de O. Silva

División de Análisis Fisicoquímicos
Maria Yumiko Tominaga

División de Análisis Hidrobiológicos
Marta Condé Lamparelli

División de Laboratorio de Taubaté
Cely Roledo

División de Microbiología y Parasitología
Mikaela Renata F. Barbosa
Solange Rodrigues Ramos

División de Toxicología Humana y Salud Ambiental
Deborah Arnsdorff Roubicek

Sector de Aguas Interiores
Beatriz Durazzo Ruiz
Carmen Lúcia V. Midaglia

Sector de Aguas Costeras
Aparecida Antônia C. Camolez
Cláudia Condé Lamparelli
Felipe Bazzo Tomé
Karla Cristiane Pinto

Sector de Análisis Toxicológicos
Daniela Dayrell França
Gilson Alves Quináglia
Walace Anderson A. Soares

Sector de Atención a Emergencias
Alexandre Ferrante
Carlos Ferreira Lopes
Sérgio Greif

Sector de Comunidades Acuáticas
Adriana Castilho R. de Deus
Ana Maria Brockelmann
Denise Amazonas Pires
Guiomar Johnscher Fornasaro
Helena Mitiko Watanabe
Helio Rubens Victorino Imbimbo
Luciana Haipek Mosolino Lerche
Maria do Carmo Carvalho
Mônica Luisa Kuhlmann

Sector de Ecotoxicología Acuática
William Viveiros

Sector de Hidrología
Luis Altivo Carvalho Alvim
Vinicius Marques da Silva

Sector de Calidad de Aguas Subterráneas y del Suelo
Fabiano Fernandes Toffoli
Rosângela Pacini Modesto

Sector de Química Inorgánica
Eleine Bolstelmann

Francisco Jorge Ferreira
Gustavo Barbosa Ferreira

Sector de Química Orgánica
Camila Rodrigues da Silva

Sector de Toxicología y Genotoxicidad
Flavia Mazzini Bertoni
Simone Harue Kimura Takeda

Autora Invitada
Instituto de Investigación Ambiental
Carla Ferraguti

Colaboradores
División de Muestreo
Alex Miranda Silva
Claudio Santos Sorc
Vanderlei A. Queiroz
Venício Pedro Ribeiro

División de Laboratorio de Cubatão
Alexandre de Oliveira

Sector de Hidrología
Miguel Monteiro

ANA – AGENCIA NACIONAL DE ÁGUAS Y SANEAMIENTO BÁSICO

Organizadores
Humberto Cardoso Gonçalves
Jorge Thierry Calasans
Maurrem Ramon Vieira

Colaboración Técnica
Marcelo Jorge Medeiros
Maurrem Ramon Vieira
Wesley Gabrieli de Souza

AGRADECIMENTOS

La Agencia Nacional de Aguas y Saneamiento Básico (ANA) agradece a todos los que contribuyeron a la elaboración de este documento, sobre todo:

- a la Compañía Ambiental del Estado de São Paulo (CETESB), que con conocimiento, experiencia y dedicación elaboró, revisó y amplió este documento, y permitió que ANA lo publicara renovándolo como una obra técnica de referencia nacional en apoyo a las acciones del Programa Nacional de Evaluación de la Calidad del Agua (PNQA);
- a la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) por el apoyo brindado en la realización de la revisión, actualización y ampliación del contenido de esta Guía, a través del Proyecto de Cooperación Sur – Sur (Cooperación Sur-Sur para el fortalecimiento de la gestión integrada y de uso sostenible de los recursos hídricos en el contexto de los países de América Latina y el Caribe y de la Comunidad de los Países de Lengua Portuguesa – CPLP, Proyecto 586RLA2001).
- a los autores y colaboradores que contribuyeron a la primera revisión de la "Guía Nacional para la Recolección y Preservación de Muestras – Agua, Sedimento, Comunidades Acuáticas y Efluentes Líquidos" en 2011: Adriana de Araújo Maximiano (in memoriam), Ana Paula Montenegro Generino, Doralice Meloni Assirati, Maria Cristina de Sá Oliveira Matos Brito, Maurrem Ramon Vieira y Paulo Augusto Cunha Libânio

La Compañía Ambiental del Estado de São Paulo expresa un especial agradecimiento:

- a los autores de la publicación original de la "Guía para la Recolección y Preservación de Muestras Ambientales" editado en 1988, quienes constituyeron la piedra fundamental para construir el texto de esta Guía: Azor C. Penteado Filho, Ben Hur L. Batalha, Denise N. Pereira, Edmundo Garcia Agudo, Eduardo Bertoletti, Ernesto W. Fredricksson, Guiomar J. Fornasaro, Helcias B. de Padua, Helga B. de Souza, Ivan Ronaldo Horcel, João Ruocco Junior, José G. B. Pires, José L. dos Santos, José Luiz de Guide, Maria Helena R. Humayta, Maria Neuza Alves, Maria Therezinha Martins, Nilson Ney Scatigno, Paulo T. Hasegawa, Petra S. Sanchez, Renato Amaral, Rosa Helena de O. M. Freitas, Sebastião Gaglianone, Sergio Roberto y Vanderlei M. Prado;
- a los autores y colaboradores que contribuyeron a la primera revisión de la "Guía Nacional para la Recolección y Preservación de Muestras - Agua, Sedimento, Comunidades Acuáticas y Efluentes Líquidos" en 2011: Cacilda J. Aiba, Carlos R. Fanchini, Cesar Augusto M. Roda, Elayse M. Hachich, Fernando de Caires, Geraldo G. J. Eysink, João Carlos C. Milanelli, José Eduardo Bevilacqua, Júlio César S. Rodrigues, Mara Elisa P. Salvador, Marcelo Adriano de Oliveira, Meron P. Zajac, Nancy de C. Stoppe, Neusa A. N. Beserra, Osvaldo Atanagildo da Silva, Paulo F. Rodrigues, Paulo Sérgio G. Rocha, Regis Nieto, Renato Pizzi Rosseti, Ricardo Minçon Filho, Rita C. R. de Souza, Rogério V. de Santana, Rosalina P. de A. Araújo, Valéria Aparecida Prósperi, Venício Pedro Ribeiro y Vivian Baltazar.
- a Regina Mayumi Kikuchi por las fotos y figuras referentes a los muestreadores de Succión y a *American Fisheries Society* por la autorización de uso de las figuras.
- a la ANA que, con el apoyo de la UNESCO, hizo posible la publicación de esta Guía.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Planificación para la selección de lugares y posiciones de monitoreo 36

Figura 1.2. Etapas principales para la planificación de programas de monitoreo 37

Figura 2.1. Efecto de la variabilidad temporal en la estimación cuantitativa de la concentración de una determinada variable 44

Figura 2.2. Representación esquemática de la mezcla de un efluente con el río 48

Figura 2.3. Variación de la calidad de un cuerpo de agua considerando la distancia al punto de vertido 49

Figura 3.1. Representación de los diferentes tipos de muestreo en aguas brutas superficiales 77

Figura 3.2. Frasco de muestreo destinado a ensayos microbiológicos en agua y sedimentos/lodos 89

Figura 3.3. Dimensiones de la tela de gasa para fabricar la mecha para tomar muestras y analizar patógenos 90

Figura 3.4. Mecha utilizada en la técnica de Moore 91

Figura 3.5. Equipo de protección individual para la toma de muestras en emergencias químicas 97

Figura 4.1. Diagrama de Espina de Pescado que representa las diversas fuentes de variabilidad en el muestreo y los ensayos 103

Figura 4.2. Comparación en cascada de posibles fuentes de contaminación englobadas por diferentes tipos de blanco 111

Figura 4.3. Verificación del control de temperatura de transporte en la etapa de recepción de muestras 112

Figura 4.4. Ilustración de diferentes estrategias de muestreos duplicados de campo 114

Figura 5.1. Balde de acero inoxidable AISI 316L pulido 122

Figura 5.2. Recolector con brazo atornillable 123

Figura 5.3. Batiscafo 124

Figura 5.4. Batiscafo para la determinación de compuestos orgánicos volátiles 124

Figura 5.5. Esquema de una botella tipo Van Dorn 125

Figura 5.6. Botella tipo Niskin 126

Figura 5.7. Mensajero 127

Figura 5.8. Botella tipo Van Dorn de flujo vertical 127

Figura 5.9. Botella tipo Van Dorn de flujo horizontal 128

Figura 5.10. Trampa tipo Schindler-Patalas 129

Figura 5.11. Red de plancton 131

Figura 5.12. Vaso recolector de red de plancton 131

Figura 5.13. Caudalímetro 133

Figura 5.14. Tomamuestras tipo Ekman-Birge 135

Figura 5.15. Tomamuestras tipo Ekman-Birge, modificado por Lenz 137

Figura 5.16. Tomamuestras tipo Petersen modificado 138

Figura 5.17. Tomamuestras tipo van Veen 139

Figura 5.18. Tomamuestras tipo Ponar pequeño 140

Figura 5.19. Testigo modelo Kajak-Brinkhurst (K-B *corer*) 142

Figura 5.20. Tomamuestras manual 142

Figura 5.21. Draga rectangular 143

Figura 5.22. Delimitador tipo Surber 144

Figura 5.23. Delimitador tipo Hess-Canton 145

Figura 5.24. Detalle del delimitador para estimar el porcentaje de cobertura de comunidades en la formación rocosa de la margen 146

Figura 5.25. Dimensiones del delimitador para estimar el porcentaje de cobertura de comunidades de formación rocosa de la margen 146

Figura 5.26. Cámara fotográfica montada con lente *close-up*, soporte con delimitador de encuadre y flashes 147

Figura 5.27. Detalle del delimitador para estimar la estructura espacial de las comunidades en la formación rocosa de la margen, indicando sus respectivas dimensiones en centímetros 148

Figura 5.28. Medidor de la pendiente de playa 149

Figura 5.29. Red manual 150

Figura 5.30. Esquema del equipo para muestreo de bentos mediante muestreador de succión 151

Figura 5.31. Sustrato artificial tipo cesta llena de piedras trituradas 153

Figura 5.32. Soportes con láminas 155

Figura 5.33. Perifitómetro con Cepillo 157

Figura 5.34. Red de espera de superficie 169

Figura 5.35. Red de espera armada 170

Figura 5.36. Retirada de la red de espera 170

Figura 5.37. Red de espera anclada en el fondo 171

Figura 5.38. Ejemplos de palangres 172

Figura 5.39. Caña de pescar 173

Figura 5.40. Corral 174

Figura 5.41. Cesta o canasta 174

Figura 5.42. Cesta o canasta 175

Figura 5.43. Diferentes trampas tipo *nasa* 176

Figura 5.44. Red de arrastre manual 178

Figura 5.45. Red de arrastre por embarcación 178

Figura 5.46. Red de arrastre manual tipo bolsa 179

Figura 5.47. Atarraya 179

Figura 5.48. Salabre 180

Figura 5.49. Pesca eléctrica con equipo tipo móvil (mochila) 181

Figura 5.50. Tipo de muestreador automático utilizado en muestreos de agua y efluentes 182

Figura 6.1. Ubicación genérica de los puntos de captación de aguas superficiales en grandes cursos de agua 188

Figura 6.2. Toma de muestras de agua superficial 192

Figura 6.3. Toma de muestras de agua superficial para análisis de OD 193

Figura 6.4. Procedimiento de conservación de muestras 193

Figura 6.5. Toma de muestras a profundidad con botella Niskin de flujo vertical 194

Figura 6.6. Filtración de campo de muestra para metales disueltos 197

Figura 6.7. Toma de muestras con balde de acero inoxidable para prueba de mutagenicidad en aguas superficiales 203

Figura 6.8. Toma de muestras de aguas superficiales para análisis microbiológico 205

Figura 6.9. Acondicionamiento y transporte de muestras para análisis microbiológicos en cajas térmicas bajo refrigeración 206

Figura 6.10. Acondicionamiento de muestras (mecha) en el medio de transporte Cary y Blair 207

Figura 6.11. Toma de muestras de aguas recreativas (mar) para análisis microbiológico 210

Figura 6.12. Diseño esquemático del procedimiento de muestreo de arena de playas costeras 212

Figura 6.13. Sistema portafiltros para filtrar muestras para ensayo de Clorofila *a* y Feofitina *a* en laboratorio 219

Figura 6.14. Sistema portafiltros para filtrar muestras para ensayo de Clorofila *a* y Feofitina *a* en campo 220

Figura 6.15. Bomba de vacío manual para campo 220

Figura 6.16. Bomba de vacío eléctrica de mesón 221

Figura 6.17. Floración o *bloom* de cianobacterias en el Embalse Billings – São Paulo/SP 223

Figura 6.18. Ilustración de los tipos de muestreo de fitoplancton con red 226

Figura 6.19. Ilustración de posibles escenarios en lugares con signos de floración de cianobacterias 228

Figura 6.20. Selección de sustrato 234

Figura 6.21. Detalle de la selección de hojas y ramas 234

Figura 6.22. Cortes de las ramas y hojas seleccionadas 235

Figura 6.23. Selección de ramas y hojas 235

Figura 6.24. Raspado del sustrato natural con pincel suave 236

Figura 6.25. Dibujo manual de las hojas y ramas 236

Figura 6.26. Calibrador utilizado para medir la longitud y el diámetro de las ramas y tamaño de las hojas 237

Figura 6.27. Medición del diámetro de las ramas 237

Figura 6.28. Toma de muestras del perifiton con perifitómetro de cepillo, modificado por VIS 238

Figura 6.29. Recolección de muestras de perifiton 239

Figura 6.30. Toma de muestras de zooplancton con trampa tipo Schindler-Patalas 246

Figura 6.31. Bomba de succión para muestreo de las comunidades bentónicas 261

Figura 6.32. *Kit* para recolección de muestras en situaciones de emergencias químicas 295

Figura 7.1. Diagrama con ejemplo de sistemas de captación y distribución de agua 301

Figura 7.2. Grifos localizados en el laboratorio de una ETA para el control de las etapas del proceso de tratamiento 303

Figura 7.3. Toma de muestra en grifos, después del hidrómetro 305

Figura 7.4. Toma de muestra en el grifo del jardín, después del hidrómetro 305

Figura 7.5. Toma de muestras en embalse con balde y cuerda estériles 307

Figura 7.6. Pozo de monitoreo de agua subterránea 310

Figura 7.7. Muestreo de agua subterránea en pozo de monitoreo mediante el método de bajo caudal 312

Figura 8.1. Determinación de cloro residual 320

Figura 8.2. Verificación del sistema de medición de OD (electrodo de membrana con sistema de agitación) en agua saturada 325

Figura 8.3. Ajuste de medidor de conductividad con MRC. 329

Figura 8.4. Determinación de pH en sedimento 333

Figura 8.5. Determinación de la transparencia con el Disco de Secchi 339

Figura 8.6. Determinación de la turbidez en el agua tratada, inserción de la celda en el equipo 342

Figura 8.7. Ensayo de sólidos sedimentables en campo con el Cono Imhoff 344

Figura 8.8. Estructuras de protección para estaciones automáticas 348

Figura 8.9. Sistema de adquisición y transmisión de datos de una estación automática 349

Figura 8.10. Mantenimiento de la sonda multiparámetro: (A, B y C) limpieza y calibración de los sensores de oxígeno disuelto, pH y conductividad eléctrica 350

Figura 8.11. Soluciones para la instalación de la sonda multiparámetro en el cuerpo hídrico 352

Figura 8.12. Equipos medidores 353

Figura 9.1. Reglas limnimétricas 358

Figura 9.2. Cálculo de caudal mediante el método Área-Velocidad 361

Figura 9.3. Molinete hidrométrico y contador de rotaciones 363

Figura 9.4. Medición de caudal a vado con un medidor ultrasónico 364

Figura 9.5. Medición de caudal con perfilador de corriente acústico Doppler (ADCP) acoplado a un pequeño catamarán 365

Figura 9.6. Inyección de trazador en un curso de agua y representación de la variación de su concentración en el punto de detección 367

Figura 9.7. Canal Parshall 370

Figura 9.8. Vertedores de pared delgada 371

Figura 9.9. Vertedores de pared delgada 372

Figura 9.10. Caja de tranquilización con vertedor interno 373

Figura 9.11. Caja de tranquilización – corte longitudinal 373

Figura 9.12. Medidor Venturi 374

Figura 9.13. Bocales y orificios para medición de caudal 375

Figura 9.14. Tubo de Pitot 376

Figura 9.15. Medidor magnético 377

Figura 9.16. Rotámetro 379

Figura 9.17. Método de las Coordenadas Geométricas del Chorro 380

Figura 9.18. Aplicación del Método de las Coordenadas Geométricas del Chorro a canalizaciones inclinadas 381

Figura 9.19. Método California 382

Figura 9.20. Método California para conductos inclinados 383

Figura 9.21. Método California Modificado 383

LISTA DE TABELAS

Tabla 3.1. Comparación entre recipientes de vidrio y plástico inerte 81

Tabla 5.1. Principales características de algunos muestreadores de sedimentos, comunidades bentónicas y perifíticas 158

Tabla 6.1. Clasificación del zooplancton en función del tamaño de los organismos 241

Tabla 6.2. Recomendaciones para la selección del equipo de muestreo de zooplancton en diferentes ambientes 242

Tabla 6.3. Características principales de los estudios pasivos y activos y determinación de biomasa de macrófitos acuáticos 256

Tabla 6.4. Metodología de muestreo de pendiente y perfil de playas 272

Tabla 6.5. Valores de caudal obtenidos en campo 290

Tabla 6.6. Volúmenes de las alícuotas (V_{al}), obtenidos en campo a partir del caudal medio en 24h 290

Tabla 8.1. Valores de Potencial Estándar (mV) de los electrodos de referencia más utilizados en la determinación de potencial redox (E_H) 335

Tabla 9.1. Distancia recomendada entre verticales 360

LISTA DE APÉNDICES

Tabla A.1. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos fisicoquímicos inorgánicos - Agua y Sedimento 416

Tabla A.2. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de compuestos químicos orgánicos - Agua y Sedimento 421

Tabla A.3. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de cianobacterias y cianotoxinas 422

Tabla A.4. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos ecotoxicológicos con organismos acuáticos – Agua y Sedimento 424

Tabla A.5. Almacenamiento y conservación de muestras para pruebas de toxicidad aguda con bacterias luminiscentes *Vibrio fischeri* (Microtox®) – Agua y Sedimento 425

Tabla A.6. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de mutagenicidad (*Salmonella*/microsoma) – Agua y Sedimento 426

Tabla A.7. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos microbiológicos - Agua y Sedimento 427

Tabla A.8. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de clorofila *a* y feofitina *a* – Agua bruta 428

Tabla A.9. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de fitoplancton – Agua bruta 428

Tabla A.10. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de perifiton 429

Tabla A.11. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de zooplancton 429

Tabla A.12. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos con macrófitos 430

Tabla A.13. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos con bentos 431

Tabla A.14. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de necton (peces) 432

Tabla A.15. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos bioanalíticos – Agua 432

Tabla B.1. Ensayos realizados en cada tipo de industria. 436

ÍNDICE

PREFACIO

PRESENTACIÓN

1. INTRODUCCIÓN **35**

2. PROGRAMA Y PLANIFICACIÓN DE MUESTREO **41**

2.1 Usos del Ambiente 41

2.2 Naturaleza de la Muestra 42

2.3 Variaciones de Caracterización del Ambiente 42

2.4 Lugar y Puntos de Muestreo 45

2.4.1 Agua Bruta Superficial 47

2.4.2 Agua Subterránea 50

2.4.3 Agua Tratada 50

2.4.4 Sedimento 51

2.4.5 Efluentes Líquidos y Cuerpos de Agua Receptores 53

2.4.5.1 Efluentes Industriales 55

2.4.5.2 Efluentes Mixtos (Industriales y Domésticos) 61

2.4.5.3 Efluentes Generados en Plantas Incineradoras de Residuos Sólidos Industriales u Hospitalarios 61

2.4.5.4 Efluentes Percolados Generados en Rellenos Industriales y Sanitarios 62

2.4.5.5 Evaluación del Desempeño de STAR 62

2.4.5.6 Preparación del Proyecto STAR 63

2.4.5.7 Selección de Ensayos 64

2.4.6 Respuesta a Emergencias Químicas 65

2.5 Apoyo Operacional 68

2.6 Capacidad Analítica de Laboratorio 68

2.7 Recursos Financieros y Humanos 69

2.8 Elaboración del Plan de Muestreo 69

3. PLANIFICACIÓN Y ORGANIZACIÓN DEL TRABAJO DE CAMPO **73**

3.1 Planificación de Actividades 73

3.2 Toma y Conservación de Muestras 75

3.2.1 Tipos de Muestreo 75
3.2.2 Preservación de Muestras 78
3.2.2.1. Adición Química 78
3.2.2.2. Congelación 79
3.2.2.3. Refrigeración 79
3.3 Acondicionamiento, Transporte y Almacenamiento de Muestras 80
3.3.1 Acondicionamiento 80
3.3.1.1 Tipos de Recipientes 80
3.3.1.2 Limpieza y Preparación de Recipientes 83
3.3.2 Transporte y Almacenamiento 92
3.4 Seguridad en el Trabajo de Campo 92
3.4.1 Desplazamiento 93
3.4.2 Acceso a Puntos de Muestreo 93
3.4.3 Embarcaciones 94
3.4.4 Manipulación de Reactivos y Soluciones 95
3.4.5 Muestreo de Efluentes (Industriales, Domésticos y Mixtos) 95
3.4.6 Muestreo en Respuesta a Emergencias Químicas 96
4. CONTROL DE CALIDAD EN EL MUESTREO 103
4.1 Blancos 105
4.1.1 Blanco de Campo 106
4.1.2 Blanco de Equipos 108
4.1.3 Blanco de Viaje 109
4.1.4 Blanco de Frascos 109
4.1.5 Blanco de Jeringa y Filtro 110
4.1.6 Blanco de Agua Reactiva 111
4.2 Control de Temperatura de Transporte 112
4.3 Duplicados de Campo 113
4.4 Planificación y Evaluación de Muestras de Control de Calidad 115
4.5 Incertidumbre de la Muestra 117
5. EQUIPOS DE MUESTREO 121
5.1 Muestreadores de Superficie 121
5.1.1 Balde de Acero Inoxidable 121
5.1.2 Recolector con Brazo Retráctil o Enroscable 122
5.1.3 Batiscafo 123

5.2 Muestreadores de Profundidad (columna de agua) 125
5.2.1 Botella de Profundidad 125
5.2.2 Trampa de Tipo Schindler-Patalas 129
5.2.3 Bomba de Agua 130
5.2.4 Redes de Plancton 130
5.3 Muestreadores de Fondo 134
5.3.1 Tomamuestras de Ekman-Birge 134
5.3.2 Tomamuestras de Ekman-Birge de Petersen y van Veen 137
5.3.3 Tomamuestras Ponar 139
5.3.4 Muestreador en Tubo (*Corer* o Testigo) 140
5.3.5 Draga Rectangular 143
5.3.6 Delimitadores 143
5.3.7 Redes Manuales 149
5.3.8 Muestreador de Succión 150
5.4 Sustrato Artificial 151
5.4.1 Cesta con Piedras (Macroinvertebrados) 152
5.4.2 Soporte para Láminas (Perifiton) 154
5.5 Sustrato Natural Consolidado (Rocas) 156
5.6 Muestreadores de Necton 168
5.6.1 Equipos de Pesca Pasivos 169
5.6.1.1 Red de Espera 169
5.6.1.2 Palangre 171
5.6.1.3 Caña de pescar 172
5.6.1.4 Corral (Red de Estacas o Cerco) 173
5.6.1.5 Cesta o Canasta 174
5.6.1.6 Nasa 175
5.6.2 Equipos de Pesca Activos 177
5.6.2.1 Red de Cerco 177
5.6.2.2 Red de Arrastre 177
5.6.2.3 Red de Bolso 178
5.6.2.4 Atarraya 179
5.6.2.5 Línea de Arrastre (Trolling) 180
5.6.2.6 Salabre o Tamiz 180
5.6.2.7 Pesca Eléctrica 180

5.7 Muestreadores automáticos 181
5.8 Mantenimiento y Cuidado de los Equipos 182
6. MUESTREO DE AGUA BRUTA SUPERFICIAL, SEDIMENTOS Y EFLUENTES LÍQUIDOS 187
6.1 Muestreo y conservación de Muestras para Ensayos en Agua Bruta Superficial 190
6.1.1 Productos químicos (Excepto Metales Disueltos y Carbono Orgánico Disuelto) 192
6.1.2 Metales Disueltos y Carbono Orgánico Disuelto 195
6.1.3 Ensayos Bioanalíticos 197
6.1.4 Ecotoxicológicos 198
6.1.5 Toxicidad Aguda con Bacterias *Vibrio fischeri* (Prueba Microtox®) 199
6.1.6 Mutagenicidad con *Salmonella*/Microsoma (Prueba de Ames) 201
6.1.7 Microbiológicos 203
6.1.8 Bañabilidad de Playas 208
6.1.9 Evaluación de la Calidad Microbiológica de las Arenas de Playas 210
6.1.10 Comunidades Biológicas 212
6.1.10.1 Pigmentos Fotosintetizantes (Clorofila *a* y Feofitina *a*) 215
6.1.10.2 Comunidad Fitoplanctónica 221
6.1.10.3 Comunidad Perifítica 229
6.1.10.4 Comunidad Zooplanctónica 240
6.1.10.5 Macrófitos Acuáticos 252
6.1.10.6 Comunidad de Macroinvertebrados de Agua Dulce 256
6.1.10.7 Comunidad Bentónica Marina 264
6.1.10.8 Comunidad Nectónica 274
6.2 Muestreo y Preservación de Muestras para Ensayos de Contaminantes y Nutrientes en Sedimentos 280
6.3 Recolección y Preservación de Muestras para Ensayos en Efluentes Líquidos 286
6.4 Recolección y Preservación de Muestras en Emergencias Químicas 292
7. MUESTREO DE AGUAS PARA CONSUMO HUMANO Y AGUAS SUBTERRÁNEAS 299
7.1. Muestreo de Aguas para Consumo Humano 299

7.1.1 Muestreo en Estación de Tratamiento de Agua (ETA) 302
7.1.2 Muestreo en Sistemas de Distribución 303
7.1.3 Muestreo en Soluciones Alternativas de Suministro de Agua 307
7.2 Muestreo de Aguas Subterráneas 309
7.2.1 Pozos Freáticos y Profundos 309
7.2.2 Pozos de Monitoreo 310
8. ENSAYOS DE CAMPO 317
8.1 Cloro Residual - Método DPD 318
8.2 Oxígeno Disuelto 321
8.2.1 Oxígeno Disuelto – Métodos Electrométricos y Óptico 322
8.2.2 Oxígeno Disuelto - Método de Winkler Modificado por Azida Sódica 325
8.3 Conductividad 328
8.4 Salinidad 330
8.5 Potencial de Hidrógeno (pH) - Método Electrométrico 331
8.6 Potencial de Oxirreducción - Método Potenciométrico 333
8.7 Temperatura 336
8.8 Transparencia 338
8.9 Turbidez - Método Nefelométrico 340
8.10 Sólidos Sedimentables – Método del Cono Imhoff 343
8.11 Datos y Observaciones de Campo 345
8.12 Monitoreo Automático de la Calidad del Agua 347
8.12.1. Estructura de protección para los Equipos 347
8.12.2 Sistema de Adquisición y Transmisión de Datos 349
8.12.3. Medidor Online (Sonda Multiparámetro) 350
8.12.4. Otros Equipos Medidores 352
9. MEDICIÓN DE CAUDAL 357
9.1 Medición de Caudal en Canales Abiertos 357
9.1.1 Método Volumétrico 359
9.1.2 Medición con Flotadores 359
9.1.3 Método Área-Velocidad 360
9.1.4 Método Acústico 364
9.1.5 Medición con Trazadores 366
9.1.6 Medición con Dispositivos de Geometría Regular 369
9.2 Medición de Caudal con Dispositivos Instalados en Tubos 373

9.2.1 Medidor Venturi 374
9.2.2 Medición con Bocales y Orificios 375
9.2.3 Tubo de Pitot 376
9.2.4 Medidor Magnético 377
9.2.5 Rotámetro 379
9.3 Medición de Caudal en Tubos con Descarga Libre 380
9.3.1 Método de las Coordenadas Geométricas del Chorro 380
9.3.2 Método California 382
BIBLIOGRAFÍA 387
GLOSARIO 401
APÉNDICES 409
APÉNDICE A – PROCEDIMIENTOS DE ALMACENAMIENTO Y PRESERVACIÓN DE MUESTRAS POR ENSAYO 411
APÉNDICE B – REFERENCIA DE LOS ENSAYOS REALIZADOS CON EFLUENTES INDUSTRIALES 433
APÉNDICE C – PREPARACIÓN DE SOLUCIONES Y REACTIVOS 439
APÉNDICE D – VÌDEOS 449
APUNTES 451

PREFACIO

Entre los desafíos de la gestión de los recursos hídricos de Brasil, el conocimiento sobre la calidad del agua se encuentra entre los más relevantes y emblemáticos. Algunos aspectos como la información fragmentada o inexistente, la ausencia de redes de monitoreo adecuadas en términos de frecuencia, parámetros y representatividad en el número de puntos de muestreo dificultan hacer un diagnóstico certero de la realidad del estado de calidad de los cuerpos hídricos brasileños, y la implementación de los instrumentos de la Política Nacional de Recursos Hídricos, especialmente.

En 2008, la ANA creó el Programa Nacional de Evaluación de la Calidad del Agua (PNQA) basado en la percepción de que la gestión integrada de los recursos hídricos requiere un monitoreo sistemático tanto de la cantidad como de la calidad del agua, para contribuir a los objetivos de una economía ambientalmente sostenible y socialmente justa.

El PNQA se estructuró en cuatro componentes: a) Elaboración e Implementación de una Red Nacional de Monitoreo de la Calidad del Agua; b) Estandarización de Parámetros y Procedimientos relacionados con la captación, conservación y análisis de la calidad del agua; c) Certificación y Mejoramiento de Laboratorios y Capacitación de Profesionales involucrados en el Monitoreo de la Calidad del Agua; y d) Evaluación y Difusión de Información sobre la Calidad del Agua a nivel nacional, disponible para toda la sociedad en el portal de Internet.

En 2014, ANA estableció el Programa de Fomento a la Divulgación de Datos sobre la Calidad del Agua – Qualiágua, un programa de premiación por metas alcanzadas, con adhesión voluntaria, abierto a todas las Unidades de la Federación, que materializó los componentes del PNQA en forma de metas contractuales que

incluyen: la implementación del RNQA, la capacitación de técnicos y la estandarización de parámetros y procedimientos. Así, los Estados se han hecho cargo de las etapas necesarias para la generación y publicación para la sociedad de datos fiables sobre la calidad del agua, comparables en ámbito nacional.

Esta primera revisión de la Guía Nacional para la Recolección y Preservación de Muestras de Agua, Sedimentos, Comunidades Acuáticas y Efluentes Líquidos, cuya primera versión fue publicada en 2011, es parte del esfuerzo de estandarización, entre los diversos actores que operan en el monitoreo de la calidad de los recursos hídricos brasileños, de los procedimientos para la obtención de muestras representativas de cuerpos hídricos superficiales y subterráneos.

Esta Guía para la Recolección y Preservación de Muestras es también una importante herramienta de capacitación para cualquier profesional o estudiante, siendo un referente nacional en el tema.

Directorio Colegiado de la Agencia Nacional de Aguas y Saneamiento Básico

PRESENTACIÓN

El monitoreo y diagnóstico de la calidad ambiental, así como las operaciones de fiscalización, implican la medición de una o más variables. Los resultados se utilizan para evaluar las condiciones de un ambiente o sistema y brindar apoyo para la toma de medidas preventivas y correctivas, con base en la legislación existente. En este sentido, se deben definir cuidadosamente los objetivos del trabajo, las estrategias de muestreo y los métodos de análisis a utilizar para obtener resultados robustos.

La etapa de muestreo, especialmente la selección de los puntos, las estrategias de recolección y preservación de muestras, es tan relevante como las otras etapas del proceso analítico. Sin embargo, dado que este es el comienzo de la medición, se vuelve crucial para la confiabilidad y representatividad de los datos generados.

La CETESB siempre ha estado a la vanguardia en este tema, atenta a la importancia de los programas y procesos de muestreo dentro de sus actividades, a tal punto que en 1988 publicó la "Guía para la Recolección y Preservación de Muestras de Agua". La alianza con la Agencia Nacional de Aguas permitió ampliar su alcance y en 2011 se lanzó la primera versión de la "Guía Nacional para la Recolección de Muestras de Agua, Sedimentos, Comunidades Acuáticas y Efluentes Industriales".

La presente versión de la Guía consolida la alianza entre la ANA y la CETESB, incorpora ajustes y actualizaciones regulatorias y técnicas, con nueve capítulos que incluyen las bases para la planificación de los muestreos ambientales y los procedimientos detallados para la toma de muestras de agua, sedimentos, comunidades acuáticas y efluentes industriales, así como para los ensayos más diversos, basados en metodologías estandarizadas y referencias nacionales e

internacionales. Además, se agregó información sobre muestreos en aguas subterráneas y respuesta a emergencias químicas, muestreo de arena para evaluar la calidad de las playas, así como de muestras destinadas a ensayos bioanalíticos, lo que refleja el conocimiento del personal técnico de la CETESB, adquirido con la evolución analítica, en la práctica diaria y en el proceso de implementación y mantenimiento de un Sistema de Calidad para estas actividades.

Los primeros tres capítulos presentan los conceptos básicos necesarios para planificar un programa de muestreo, organización y seguridad en el trabajo de campo. El capítulo cuatro aborda conceptos y procedimientos para aplicar estrategias de control de calidad en la etapa de muestreo, fundamentales para garantizar la validez de los resultados obtenidos. El capítulo cinco proporciona especificaciones detalladas del equipo principal necesario para el muestreo. Los capítulos seis y siete tratan de los procedimientos para muestrear agua superficial, agua subterránea, agua tratada/agua para consumo humano, sedimentos y efluentes líquidos. El capítulo ocho destaca los procedimientos para los ensayos de campo, así como los conceptos relacionados con los programas de monitoreo automático. El capítulo nueve aborda los métodos de medición de flujo, considerando la importancia de la interpretación conjunta de los datos de cantidad (flujo) y calidad ambiental.

La Guía también presenta un glosario, con las terminologías más utilizadas en el área, así como cuatro Apéndices: el primero (Apéndice A) proporciona información sobre las botellas utilizadas en el muestreo y los procedimientos de almacenamiento y conservación de las muestras, detallados por prueba; el segundo (Apéndice B) presenta una indicación de las pruebas pertinentes a las distintas actividades industriales; el tercero (Apéndice C) presenta procedimientos para preparar soluciones y reactivos utilizados para conservar muestras y pruebas y el cuarto (Apéndice D) proporciona información sobre los videos producidos junto con la primera edición de la Guía.

La adopción de esta Guía por parte de la Agencia Nacional de Aguas y Saneamiento Básico como referencia para los procedimientos de muestreo dentro de su campo de operación demuestra la responsabilidad de la CETESB en su misión institucional de transferir tecnología ambiental, contribuyendo al desarrollo científico y tecnológico de Brasil.

Thomaz Miazaki de Toledo

Director-Presidente de la CETESB



CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

El muestreo y la conservación de muestras no son actividades sencillas para las que se requieren criterios, ya que se basan en conocimientos técnicos y científicos. Una muestra, por definición, representa el propio entorno estudiado y, por tanto, su toma requiere de recursos humanos capacitados y calificados para realizar actividades en campo.

La definición de los usos previstos del cuerpo de agua, la legislación, el conocimiento de los riesgos para la salud de la población, los daños a los ecosistemas, la toxicidad de sustancias químicas, los procesos industriales y las mediciones de caudal, reúnen una parte de la información básica requerida para que se puedan definir las técnicas y metodologías de toma de muestras, los lugares de muestreo y la selección de los ensayos que se utilizarán. Sin esto, cualquier programa para evaluar la calidad ambiental puede generar datos no representativos sobre el área de estudio.

Al elegir la ubicación adecuada para el programa de muestreo, es importante considerar que la calidad de un cuerpo de agua varía según la ubicación (espacial) y el transcurso del tiempo (temporal). Para asegurar la homogeneidad y representatividad del lugar de muestreo propuesto, las acciones a tomar deben planificarse cuidadosamente, como se detalla en la Figura 1.1.

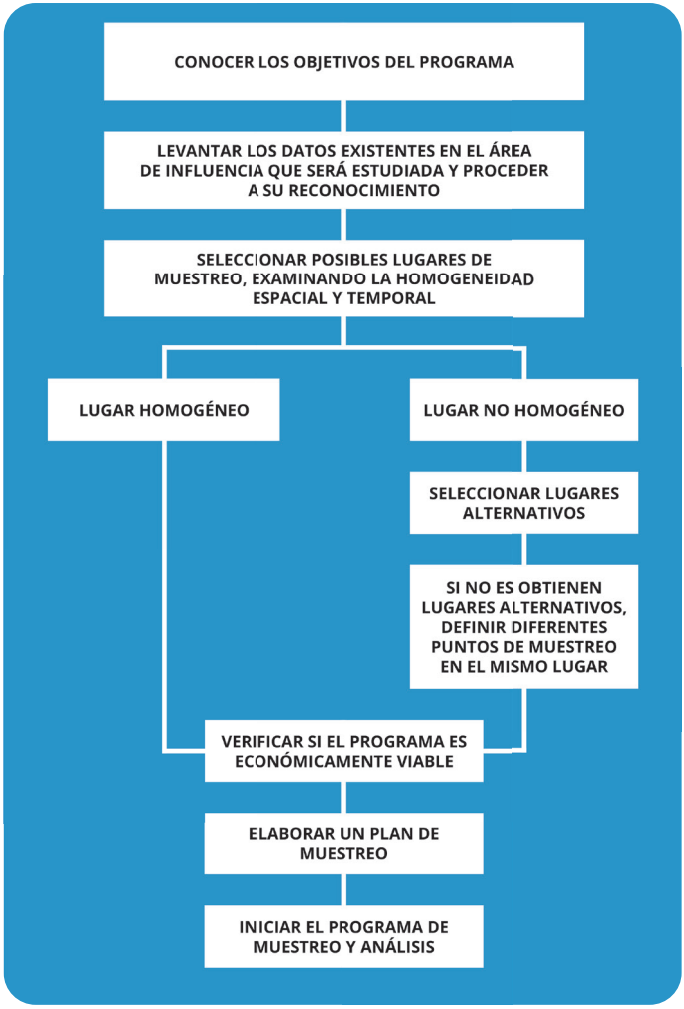


Figura 1.1. Planificación para la selección de lugares y posiciones de monitoreo.
Fuente: Banco de Imágenes de CETESB

Por lo tanto, el objetivo del muestreo y de los ensayos no es obtener información sobre las alícuotas en sí, generalmente compuestas por pequeñas fracciones, sino la caracterización espacial y temporal del entorno muestreado.

Siempre hay que tener en cuenta que el tiempo y los costos involucrados aumentan significativamente a medida que se requiere

información más detallada, lo que implica un aumento en el número de ensayos de evaluación, número de muestras, frecuencia de muestreo o uso de tecnología más avanzada.

Para evitar que los costos del estudio excedan los beneficios que surgen del mismo, todas las etapas del programa de muestreo deben planificarse cuidadosamente como se muestra en la Figura 1.2.



Figura 1.2. Etapas principales para la planificación de programas de monitoreo.
Fuente: Banco de Imágenes de CETESB

Esta guía es el reflejo de la experiencia de la CETESB en la toma y conservación de muestras de aguas brutas, tratadas, residuales, sedimentos y la biota acuática, con el objetivo de fiscalizar, controlar y caracterizar la calidad ambiental y presentar criterios y metodologías internacionalmente reconocidos para pruebas fisicoquímicas, microbiológicas, biológicas y toxicológicas. Asimismo, se incluyen algunas técnicas de hidrometría también, ya que permiten determinar las cargas contaminantes y, por tanto, representan un aporte importante en la planificación y ejecución del muestreo ambiental.



CAPÍTULO 2

PROGRAMA Y PLANIFICACIÓN DE MUESTREO

2. PROGRAMA Y PLANIFICACIÓN DE MUESTREO

La caracterización del ambiente a ser estudiado es una tarea compleja e involucra un gran número de variables y profesionales, pudiendo conducir a la elaboración de programas de muestreo con extensión y recursos sobredimensionados y una relación de costo/beneficio inadecuada.

Establecer un programa de muestreo es solo una de las etapas necesarias para el estudio de este medio, pero de él dependen de todas las etapas posteriores: ensayos de laboratorio, interpretación de datos, elaboración de informes y toma de decisiones en cuanto a la calidad de los ambientes.

La definición del programa de muestreo exige la consideración de algunas variables, dependiendo del objeto de estudio, como, por ejemplo: objetivos, usos, naturaleza, área de influencia y características del área de estudio, existencia de parámetros legislados o regulados, análisis y/o características de interés u otros requisitos legales, ya que la definición de la estrategia y metodología de muestreo, la preservación de las muestras y de los métodos analíticos dependen de estos factores.

Los responsables de la planificación y los técnicos involucrados en la ejecución de los trabajos de muestreo deben estar totalmente familiarizados con los objetivos, metodologías y limitaciones de los programas de muestreo, ya que las observaciones y datos generados en el campo, ayudan a interpretar los resultados analíticos, esclareciendo eventualmente los datos no conformes o atípicos.

2.1 Usos del Ambiente

La caracterización debe considerar las diferentes finalidades del ambiente como: (a) consumo humano, (b) preservación de la vida acuática; (c) irrigación y abrevado de animales; (d) recreación, entre otros que cumplen estándares específicos, muchas veces, establecidos en la legislación.

2.2 Naturaleza de la Muestra

Las muestras que deben tomarse pueden clasificarse según su naturaleza, por ejemplo: agua bruta, tratada o residual; superficial o subterránea; interior o costera; dulce, salobre o salina, además de material biológico, sedimentos y efluentes industriales, domésticos o mixtos (véase el Capítulo 3).

2.3 Variaciones de Caracterización del Ambiente

Actualmente disponemos de cientos de variables que pueden utilizarse para caracterizar un ambiente y que involucran parámetros físicos, químicos, microbiológicos, biológicos, toxicológicos y radiológicos. Estas variables deben ser definidas con el conocimiento adecuado de sus significados, alcance, limitaciones, confiabilidad, referencias para comparaciones y costos para su obtención.

Las combinaciones entre estas variables no permiten formular planes estándares. Cada caso debe ser estudiado individualmente, ya que los parámetros y criterios más empleados incluyen los establecidos según la legislación vigente.

La formulación de los programas requiere además definiciones relativas a los siguientes factores:

- **Variabilidad espacial:** de un modo general, los cuerpos de agua superficiales y sedimentos presentan variaciones en cuanto a las concentraciones de sus constituyentes en los diferentes puntos de una sección transversal, así como a lo largo del eje longitudinal de desplazamiento. Hay además una variación en el eje vertical, la cual es más pronunciada en cuerpos de agua más profundos y en las aguas subterráneas, que pueden presentar corrientes con direcciones diferentes dependiendo del estrato muestreado.
- **Variación temporal:** La concentración de los componentes de un cuerpo de agua y efluentes puede variar a lo largo del tiempo,

en el mismo punto, de forma aleatoria o cíclica en función de las características de las contribuciones recibidas o de las variaciones meteorológicas. En zonas de estuario, por ejemplo, la influencia de las mareas provoca, de forma cíclica, profundos cambios en las características de las aguas. En las zonas costeras, el conocimiento de la hidrodinámica de las corrientes y su estacionalidad son importantes en la definición de los puntos y la frecuencia de muestreo.

Para el establecimiento del lugar, momento y frecuencia del muestreo, se debe definir previamente si el estudio tiene como objetivo obtener una característica promedio, valores máximos o mínimos, o la caracterización instantánea de un lugar o punto.

En teoría, una mejor solución técnica sería el uso de monitores en tiempo real (analizadores automáticos y sensores remotos, por ejemplo) que registran continuamente los cambios de la calidad del ambiente (véase el Capítulo 8). En el caso de que esta metodología no pueda utilizarse debido a su elevado costo y su no aplicabilidad a todas las variables y entornos, se deberá definir la frecuencia y el momento de la toma de muestras basándose en la información y los datos obtenidos de:

- Legislación específica;
- Relevamiento de estudios ya realizados en el lugar que aporten información sobre las características del área de estudio y las principales actividades contaminantes de la cuenca que pueden influir en la calidad de las aguas (industria, agricultura, minería, zonas urbanas, etc.);
- Visita al área de estudio para georreferenciar los puntos de muestreo mediante GPS (*Global Position System*), relevamiento fotográfico de las características locales y contacto con la población local con el fin de obtener datos adicionales que confirmen o aclaren los datos preliminares recopilados (vertido de basuras,

residuos industriales o domésticos en el cuerpo de agua o en sus orillas, etc.).

Los programas de muestreo basados en consideraciones subjetivas, o simplemente en la capacidad de muestreo y análisis del laboratorio, pueden generar resultados no representativos. Para ilustrar estas consideraciones, se presentan dos gráficos hipotéticos que representan la variación temporal de la concentración de una determinada variable (Fig. 2.1). El primer gráfico (A) representa una variación aleatoria resultante, por ejemplo, de vertidos discontinuos o del efecto de lixiviación de la escorrentía superficial causada por las lluvias. El segundo gráfico (B) simula una variación cíclica resultante, por ejemplo, de descargas de aguas residuales domésticas, variaciones estacionales de temperatura o lluvias, variación diaria de insolación o temperatura, o de vertidos discontinuos, pero cíclicos.

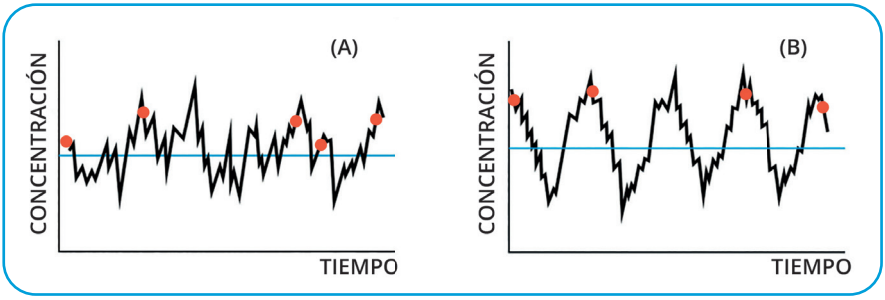


Figura 2.1. Efecto de la variabilidad temporal en la estimación cuantitativa de la concentración de una determinada variable: (A) Variaciones aleatorias; (B) Variaciones aleatorias y cíclicas.
Leyenda: (-) resultados obtenidos por monitoreo automático continuo; (-) promedio de los resultados obtenidos con el monitoreo automático; (·) concentraciones obtenidas por toma de muestras instantáneas.

Fuente: Banco de Imágenes CETES

En el caso de cuerpos hídricos, la intensidad de estas variaciones puede reducirse, por ejemplo, en la medida que el punto de muestreo se aleja del punto de vertimiento. Por lo tanto, para establecer el momento y la frecuencia de la toma de muestras, es importante conocer la variabilidad temporal de cada variable por lugar de muestreo. El perfil de esta variabilidad es una herramienta que se puede utilizar

para definir el número de muestras de un programa de muestreo determinado. Cuanto mayor sea el número de muestras, mejor será el conocimiento de la variabilidad ambiental.

El tamaño de la muestra puede determinarse con base en cálculos estadísticos, suponiendo una distribución normal de la variable de calidad y muestras aleatorias e independientes. Se pueden utilizar varios enfoques, por lo que recomendamos consultar Bicudo y Bicudo (2007) y APHA, AWWA y WEF (2023).

El número de réplicas puede definirse a partir de datos obtenidos en un muestreo previo, utilizando fórmulas que se basan en los valores de la varianza, la desviación o el error estándar. Sin embargo, el número resultante de réplicas algunas veces es inviable y se opta por un número mínimo, entre 3 y 5, considerándose la capacidad analítica del laboratorio.

Cuando el objetivo de un programa es evaluar las concentraciones medias de una variable a lo largo de un período de tiempo (normalmente 24 horas), en algunos casos puede reducirse el número de muestras necesarias para el ensayo mediante la obtención de muestras compuestas (véase el Capítulo 3).

2.4 Lugar y Puntos de Muestreo

Muchas veces los objetivos determinan los lugares y puntos de muestreo. Por ejemplo, cuando se quiere evaluar la eficiencia de una unidad de tratamiento (industrial o de alcantarillado), necesariamente es necesario muestrear el afluente o el efluente de esa estación. Sin embargo, cuando los objetivos establecidos apuntan solo a una indicación general, como el efecto de un efluente en la calidad de agua de un río o la evaluación de la calidad del agua potable distribuida a la población, es necesario seleccionar cuidadosamente los lugares de muestreo. En el caso de aguas subterráneas, es necesario evaluar la demanda de instalación de pozos de monitoreo o la utilización de pozos existentes en el lugar, cuyas características litológicas y constructivas cumplan con los objetivos del estudio.

En la definición de áreas y puntos se debe procurar abarcar la variedad de los ambientes. Además, la selección de los puntos de muestreo puede dar prioridad a los lugares con usos específicos para verificar si tienen la calidad requerida o si estos usos han provocado cambios en dichas cualidades. Entre los usos se incluyen, por ejemplo, el cultivo de organismos acuáticos y la recreación.

Las muestras obtenidas del medio acuático pueden no reflejar el nivel real de contaminación en el área de estudio, ya que los contaminantes suelen diluirse o ser desplazados por las corrientes, lo que dificulta su determinación. En este caso, el sedimento desempeña un papel más importante en el análisis de la calidad de estos ambientes porque es un compartimento más estable, que retiene parte de los posibles contaminantes, y puede proporcionar un historial de la contaminación en la región mediante el análisis de sus capas.

Algunos ejemplos de selección de puntos de muestreo:

- Evaluación de la eficiencia de una unidad de tratamiento (industrial o de alcantarillado): es necesario muestrear el afluente y el efluente de esa estación;
- Evaluación del impacto de algunos vertidos de efluentes en cuerpos de agua: es necesario tener puntos de muestreo aguas arriba y aguas debajo del vertido, prestando la debida atención para evitar la zona de mezcla de la pluma con las aguas del cuerpo de agua en el caso de ríos, y la hidrodinámica de las corrientes en el caso de embalses o vertidos en mar abierto (emisarios);
- Evaluación de áreas costeras abiertas con ausencia de fuentes puntuales de vertido: los puntos pueden considerarse réplicas y pueden estar a mayor distancia unos de otros;
- Evaluación de la calidad del agua potable distribuida: los puntos siempre deben incluir puntos de red con valores de altimetría más bajos, que son lugares donde hay una tendencia de acumulación de suciedad en la tubería.

2.4.1 Agua Bruta Superficial

Hay que tener en cuenta que todo cuerpo de agua es heterogéneo y que, sea cual sea el lugar de muestreo, este no es representativo de todo el sistema estudiado. Por este motivo, se deben seleccionar los lugares adecuados según las necesidades de información de cada programa. Entre los factores responsables de la heterogeneidad de un cuerpo de agua podemos citar:

- Estratificación térmica vertical, resultante de la variación de la temperatura a lo largo de la columna de agua y del encuentro de masas de agua;
- Zona de mezcla, formada por dos o más tipos de agua que están en el proceso de mezcla (por ejemplo, río justo aguas debajo de la descarga de un efluente o tributario) (Fig. 2.2), la toma de muestras debe realizarse después de la mezcla completa (Fig. 2.2, trecho AA);
- Distribución heterogénea de determinadas sustancias u organismos en un sistema hídrico. Esto se produce cuando los materiales no disueltos, con diferentes densidades de agua, tienden a distribuirse heterogéneamente (por ejemplo, el aceite tiende a flotar en la superficie del agua, mientras los sólidos en suspensión tienden a depositarse) o cuando se producen reacciones químicas o biológicas en la columna de agua, como el crecimiento de algas en las capas superiores en función de la penetración de luz, con los consecuentes cambios en el pH y la concentración de oxígeno disuelto.

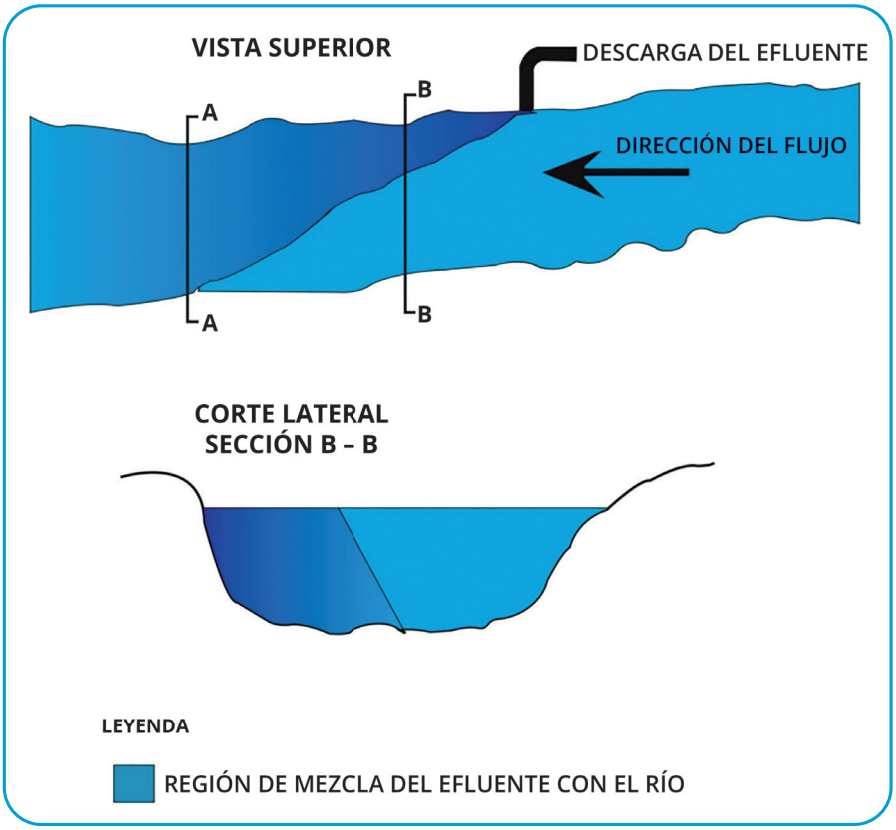


Figura 2.2. Representación esquemática de la mezcla de un efluente con el río: Vista superior – dispersión lateral del efluente; Corte lateral – dispersión vertical y lateral del efluente.

Fuente: Banco de Imágenes de CETESB

El grado de heterogeneidad deberá ser evaluado para verificar cómo las características de calidad oscilan en el espacio y el tiempo. Pueden ser útiles las pruebas rápidas de campo o uso de equipos que permiten mediciones continuas de conductividad eléctrica, temperatura y oxígeno disuelto. El uso de técnicas de trazadores, como los colorantes, ha demostrado ser útil para estudiar los procesos de mezcla en cuerpos de agua. Sin embargo, en el momento de planificar estas pruebas preliminares, es necesario recordar que el grado de heterogeneidad puede depender del tipo de ensayo del que se trate; por lo tanto, esta evaluación debe realizarse en base a más de un ensayo.

El posicionamiento del lugar de muestreo también deberá tomar en cuenta la existencia de vertidos de efluentes líquidos industriales y/o domésticos, así como la presencia de afluentes en el área de influencia del punto de muestreo. Si se presenta este tipo de situación, el lugar de monitoreo debe ubicarse después de la mezcla completa de dicho vertido, ya sea este continuo o intermitente (Fig. 2.3) y es necesario conocer los caudales del vertido y del río, así como el régimen de flujos para determinar dónde se completa la mezcla. De esta forma se obtiene una muestra de agua representativa de ese punto.

En general, no se deben tomar muestras cerca de las orillas de ríos, canales y en el punto de vertido, excepto cuando estas regiones sean de interés específico, ya que la calidad en dichos puntos generalmente no es representativa de todo el cuerpo de agua. En el caso del aporte de tributarios (afluentes), es importante monitorear la calidad de sus aguas, y cómo afecta al cuerpo principal, mediante la toma de muestras en un punto cercano a su desembocadura o según el objetivo del trabajo.

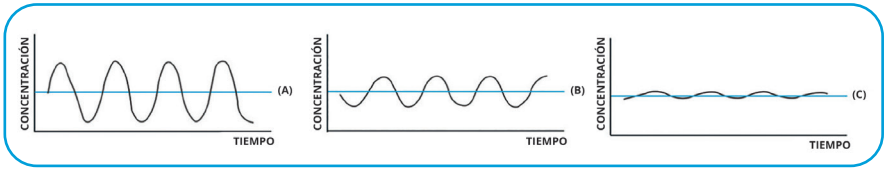


Figura 2.3. Variación de la calidad de un cuerpo de agua considerando la distancia al punto de vertido: (A) Lugar de muestreo cerca del vertido; (B) Posición intermedia del lugar de muestreo; (C) Lugar de muestreo lejos del vertido.

Fuente: Banco de Imágenes de CETESB

A veces, los lugares de muestreo pueden elegirse erróneamente, más por conveniencia que por su adaptación a un muestreo representativo. Los puentes, por ejemplo, se utilizan para el muestreo en ríos debido a su accesibilidad, pero no siempre son los lugares más adecuados, ya que su presencia puede interferir o modificar los factores básicos del cuerpo de agua. Sin embargo, esta puede ser una opción cuando un lugar de muestreo adecuado es completamente inviable.

Los detalles sobre los procedimientos de muestreo de aguas superficiales se abordan en el Capítulo 6 y en el Apéndice A.

2.4.2 Agua Subterránea

En los programas de muestreo de aguas subterráneas se deben considerar los objetivos de la investigación y el área de cobertura, por ejemplo, el conocimiento de la calidad basal del agua de un sistema acuífero o los cambios en la calidad del agua bajo la influencia de una fuente puntual o difusa de contaminación. Cualquiera que sea el objetivo prioritario, la planificación del muestreo debe considerar la variabilidad estacional de los niveles de agua, en función del régimen de precipitaciones (períodos más lluviosos y menos lluviosos), traduciéndose en una frecuencia mínima semestral. La frecuencia, el número de muestras y las variables deben establecerse según la singularidad de cada caso, especialmente en los casos de cambios de calidad o contaminación del agua de origen antropogénico, con base en el conocimiento, la literatura y los procedimientos científicos y la legislación.

La planificación del muestreo debe considerar la existencia de manantiales y los tipos de pozos (tubulares, de pozo, de monitoreo, multinivel) utilizados para la toma de muestras, así como las profundidades de interés.

En el Capítulo 7 y el Apéndice A se detallan los procedimientos para realizar el muestreo de aguas subterráneas.

2.4.3 Agua Tratada

El principio que rige el muestreo es que las características del agua se modifican durante su recorrido por los sistemas y soluciones alternativas de abastecimiento de agua. Estas variaciones necesitan ser conocidas, ya que brindan elementos importantes para apoyar la evaluación del riesgo para el consumidor y permiten corregir el problema de contaminación específico, así como los problemas operacionales que generaron la anomalía.

Para controlar la calidad del agua destinada al consumo humano, la definición de los puntos y lugares de toma de muestras debe tener en cuenta el monitoreo operacional para evaluar el rendimiento de las medidas de control en las distintas etapas del tratamiento, desde la captación en el manantial hasta el consumidor, y así como el monitoreo para garantizar que el proceso de tratamiento en su conjunto funciona de forma segura (verificación).

En el Capítulo 7 y el Apéndice A se detallan los procedimientos para planificar y realizar muestreos de aguas tratadas para el consumo humano.

2.4.4 Sedimento

La selección de los puntos de muestreo de sedimentos debe considerar, además del objetivo del estudio, los tipos de ambiente, los lugares donde se vierte la carga contaminante y los estándares de flujo, velocidad y dirección de la corriente. Muchos estudios de sedimentos aplican un enfoque que utiliza un punto o condiciones de referencia dentro de una región o cuenca hidrográfica determinada. El punto de referencia corresponde a un ambiente libre de acción humana o el menos impactado dentro del área de estudio. Es fundamental que las características físicas, geológicas e hidrológicas, entre los puntos a comparar, sean compatibles. Así, datos como la granulometría, el contenido de materia orgánica y la humedad de los sedimentos, el tipo y el grado de conservación de la cubierta vegetal de la ribera, el tipo de hábitat muestreado y el orden del río deben ser similares entre el punto de referencia y los puntos a diagnosticar. Se definen las condiciones consideradas ideales en un entorno preservado, estableciendo un valor o rango de valores para cada parámetro.

Independientemente del tipo de ambiente muestreado (ríos, lagos, embalses, estuarios y océanos), la toma de muestras para evaluar la calidad de los sedimentos (biológicos, físicos y químicos) generalmente ocurre en áreas de deposición de sedimentos finos (arcilla), ya que normalmente es en estos lugares donde se retienen los contaminantes y la comunidad

bentónica está más desarrollada. En lagos, embalses y estuarios, la acumulación de partículas finas se produce en la región más profunda; en ríos, esto sucede en las orillas de depósito y en las áreas estancadas. La orilla de deposición se encuentra en el lado opuesto al de la erosión, presentando una pendiente más suave y, frecuentemente, bancos de macrófitos enraizados. Las pozas se encuentran en tramos sinuosos y pantanosos.

En los estudios de sedimentos se consideran imprescindibles los siguientes ensayos: contenido orgánico (carbono orgánico total - COT o residuos volátiles), EH (potencial de reducción), granulometría, pH (potencial de Hidrógeno), sulfuros volatilizables ácidos (SVA), contenido de materia orgánica y humedad. Cuando se llevan a cabo estudios ecotoxicológicos y/o de comunidades bentónicas, es importante, para interpretar los resultados, que las tomas de muestras de agua del fondo se incluyan en los ensayos de nitrógeno amoniacal y oxígeno disuelto (véase el Capítulo 6).

La variabilidad de los sedimentos en un punto debe considerarse en el muestreo y surge de la heterogeneidad espacial, tanto vertical como horizontal. La heterogeneidad vertical es principalmente consecuencia de la oscilación histórica de la contaminación; la horizontal está formada por la dinámica de deposición de partículas (presentándose químicamente en mosaicos) y por la distribución agrupada de las poblaciones bentónicas. Lo ideal es ser consciente de esta variabilidad realizando réplicas.

Si el costo del proyecto y la capacidad analítica de un laboratorio no permiten la toma de muestras en réplica, se puede optar por obtener muestras compuestas, una opción más adecuada que tomar una única muestra simple por punto (véanse los Capítulos 3 y 6).

En los estudios de sedimentos también se debe considerar la variabilidad temporal, ya que las variaciones estacionales pueden influir en la disponibilidad de contaminantes. En los embalses, la dinámica de circulación/estratificación modifica la relación oxidación-reducción de las capas profundas de agua y, en períodos de sequía, la exposición del sedimento marginal. En los ríos se produce la deposición de sedi-

mentos finos en la época de sequía y lavado de este material durante las lluvias. Para estudios de caracterización y diagnóstico y programas de monitoreo de la calidad de los sedimentos, una única toma de muestras anual durante el período de sequía puede ser adecuada.

En el Capítulo 6 y en el Apéndice A se encuentran detalles sobre los procedimientos para la planificación y ejecución del muestreo de sedimentos.

2.4.5 Efluentes Líquidos y Cuerpos de Agua Receptores

Para definir los lugares de muestreo de efluentes líquidos (industriales, domésticos y mixtos) y los cuerpos de agua receptores, se deben considerar los objetivos involucrados en el muestreo.

Un programa de caracterización de efluentes líquidos tiene los siguientes objetivos principales:

- Evaluar la eficiencia y el funcionamiento de los sistemas de tratamiento de aguas residuales, ya sea en su conjunto o en unidades específicas, con vistas a optimizar su operación y rendimiento;
- Evaluar los efluentes líquidos generados por industrias, estaciones de tratamiento de aguas residuales domésticas, rellenos sanitarios e industriales y plantas incineradoras de residuos, así como los posibles cambios en la calidad del cuerpo receptor ocasionados por la descarga de estos efluentes, a fin de verificar el cumplimiento de las condiciones y estándares de calidad del cuerpo receptor y de emisión/descarga de efluentes líquidos establecidos en la legislación estatal y federal vigente;
- Obtener datos e información para contribuir a la creación de proyectos de sistemas de tratamiento de aguas residuales de emprendimientos en fase de implementación;
- Verificar la ocurrencia de pérdidas de materias primas, productos auxiliares o acabados del proceso industrial que se agregan al efluente líquido y, de esta forma, evaluar la posibilidad de

recircular o reutilizar efluentes líquidos industriales en el proceso industrial, como parte de un programa de prevención de la contaminación.

- Determinar las cargas contaminantes potenciales y/o remanentes de las empresas en programas de control de la contaminación en una región o una cuenca hidrográfica determinada;
- Determinar las concentraciones y cargas contaminantes de los efluentes líquidos de las empresas, vertidos a la red pública de alcantarillado, a efectos de efectuar cobros a la empresa gestora de las redes de alcantarillado público y minimizar los impactos sobre éstas;
- Evaluar la contaminación del suelo y aguas superficiales provocada por rellenos sanitarios e industriales y áreas contaminadas.

La confiabilidad y representatividad de cualquier programa de muestreo para la evaluación de efluentes líquidos y cuerpos de agua receptores dependen fundamentalmente de la cuidadosa selección de los ensayos a realizar, de los puntos de muestreo y del correcto uso de las técnicas de toma y conservación de muestras, ya que los efluentes líquidos varían en su composición cualitativa y cuantitativa, frecuencia y tipo de emisión, según las actividades realizadas.

Al tomar una muestra de cualquier efluente se pretende que ésta reproduzca datos de las condiciones reales de las aguas residuales generadas por el proceso, siendo lo más representativa posible. Para asegurar tales condiciones, el técnico debe conocer todos los procesos industriales y la operación de las unidades generadoras de efluentes que puedan interferir con las características de los residuos y considerar, cuando sea relevante, los siguientes aspectos al momento de elegir los lugares para tomar muestras:

- Los caudales afluente y efluente del sistema son de fundamental importancia para el cálculo de la carga contaminante y la consiguiente evaluación de la eficiencia del sistema de tratamiento, así como para la toma de muestras compuestas;

- El punto de muestreo debe ser representativo y con turbulencia, para poder obtener una buena mezcla. Se deben evitar los lugares ubicados aguas arriba de los vertedores debido a la sedimentación de sólidos;
- Las muestras deben tomarse en el centro del canal, donde la velocidad es mayor y la sedimentación de sólidos es mínima;

La importancia del análisis de los efluentes líquidos se debe a la necesidad de evaluar el posible impacto de su descarga en los cursos de agua y en la red pública de alcantarillado, lo que exige que las fuentes de contaminación recopilen y mantengan registros y controles de todas las actividades de monitoreo de forma que se puedan aplicar medidas preventivas y/o correctivas para controlar la calidad ambiental, incluyendo una serie de compuestos emergentes y/o aún no legislados.

Para un mejor conocimiento de las diferentes características de los efluentes líquidos, éstos se pueden clasificar según su origen en efluentes industriales, efluentes mixtos (industriales y domésticos), efluentes procedentes de plantas incineradoras de residuos sólidos y efluentes percolados generados en rellenos sanitarios e industriales.

2.4.5.1 Efluentes Industriales

Los efluentes líquidos de una industria, además de las aguas residuales domésticas, pueden estar compuestos por efluentes del proceso productivo, agua de refrigeración, agua de condensación, agua de lavado de equipos, efluentes de equipos de control de la contaminación del aire (depurador de gases de chimenea o de cabina de pintura) y por efluentes no puntuales, como agua de lluvia contaminada, lavado de pisos externos y derrames en áreas fuera de la zona industrial.

El tipo de industria y el conocimiento completo del proceso productivo permitirán conocer el origen de los efluentes líquidos industriales, así como los materiales contaminantes contenidas en los mismos.

En una industria, independientemente de su actividad, siempre se generan aguas residuales domésticas, que corresponden a efluentes de baños y de los comedores. Su carga orgánica media per cápita es prácticamente la misma, sea cual sea el rubro industrial; sin embargo, se verifica que su concentración varía según la hora del día, el día de la semana y las condiciones climáticas.

Otro factor que influye en las características cualitativas y cuantitativas de las aguas residuales domésticas en las industrias es la existencia, o no, de comedores y duchas para que los empleados se bañen. El pico de caudales, en esos casos, se produce a la hora de las comidas y al final de los turnos.

Una porción preponderante del agua utilizada por las industrias en sus procesos productivos, en la mayoría de los casos, es descartada en forma de efluentes líquidos que, por las sustancias que contienen, pueden causar contaminación al ser vertidos a los cuerpos de agua. Por lo tanto, los efluentes líquidos generados deben someterse a un Sistema de Tratamiento de Aguas Residuales (STAR) correctamente dimensionado y operado, tras lo cual puedan ser vertidos a un cuerpo de agua o a un sistema público de alcantarillado.

Por tanto, es necesario realizar un estudio industrial, proceso que involucra el conocimiento del período de funcionamiento de la industria, el número de empleados, el diagrama de flujo del proceso industrial, la planta de la fábrica, las materias primas, la producción, el uso de agua, el efluente generado, el sistema de tratamiento de efluentes, las condiciones de funcionamiento de los equipos industriales y las condiciones de gestión de la industria.

a) Período de Funcionamiento de la industria

Las industrias suelen operar en turnos de ocho horas; algunas trabajan en tres turnos, con un total de 24 horas al día. Generalmente, el funcionamiento es de lunes a viernes, pero algunas operan de forma ininterrumpida.

Además del horario de operación de la producción, es necesario verificar si el régimen de producción es continuo o no, y si los procesos son cíclicos. También es necesario comprobar si la generación de residuos se produce principalmente durante el período de funcionamiento de la fábrica o en otros momentos (como al final de la jornada diaria, en los períodos nocturnos, los fines de semana, etc.), generalmente resultantes del lavado y limpieza.

b) Número de Empleados

El número de empleados indicará el volumen y la carga orgánica de las aguas residuales domésticas generadas. La existencia o ausencia de comedores también influirá en las características de los residuos.

En este ítem se deben incluir a todos los empleados existentes en el lugar en estudio (empleados propios y contratistas), tanto en las áreas de producción como en las áreas administrativas y de soporte.

c) Diagrama de flujo del Proceso Industrial

El conocimiento del proceso industrial tiene una importancia fundamental en cualquier trabajo de caracterización, ya que existen diferentes particularidades para cada tipo de procesamiento, tales como: Productos auxiliares o catalizadores que pueden aportar diferentes características a los residuos generados, tanto en cuanto a sus constituyentes como a sus concentraciones y caudales.

El diagrama de flujo del proceso industrial permitirá al técnico comprender la necesidad, o no, de la segregación de residuos y, de esta forma, definir cuántos puntos de muestreo se utilizarán para caracterizar los efluentes de una industria.

d) Plano de la Fábrica

El plano de la fábrica, junto con la indicación de los sistemas de distribución de agua y redes de toma de muestras de efluentes líquidos, facilitará no sólo la comprensión del flujo del proceso industrial, sino también la visualización de la posibilidad de implementar medidas

de control interno, como la recuperación de materias primas o otros productos vertidos al piso y que serán arrastrados a los efluentes líquidos. También permitirá comprobar la posibilidad de recircular los efluentes líquidos antes o después de que se sometan a un tratamiento específico, así como la existencia, o no, de una adecuada segregación de residuos.

El conocimiento de la red de muestreo de efluentes, la ubicación de la estación de tratamiento y de los lugares de disposición de residuos sólidos (si los hubiera) permitirá elegir los mejores puntos de muestreo, para que la caracterización sea representativa. También es importante indicar el sistema de muestreo de las aguas residuales domésticas en la planta del proyecto, en casos de industrias donde exista incompatibilidad de tratamiento conjunto de éstas.

También es necesario que la red de aguas pluviales sea indicada en la planta del emprendimiento, ya que, cuando están contaminadas, se consideran efluentes líquidos y, como tales, deben ser tratados adecuadamente antes de su disposición final. Cabe señalar que la práctica de combinar aguas pluviales no contaminadas con efluentes está prohibida por ley, caracterizándose como una dilución y, por tanto, no es aceptada por los organismos de control ambiental.

e) Información sobre Materias Primas

La relación de materias primas y productos auxiliares contribuirá a definir los tipos de muestras a ser tomadas y los ensayos a realizar. Para ello, es necesario conocer el principio activo de cada sustancia y no solo su nombre de fantasía.

Además de esta lista, se debe conocer las cantidades utilizadas, los métodos de almacenamiento y las condiciones de seguridad ante derrames, que podrían representar fuentes potenciales de contaminación.

f) Información sobre la Producción

La lista de productos fabricados, las cantidades y frecuencia de su fabricación, los tipos de empaques utilizados, los lugares de alma-

cenamiento y el porcentaje de agua incorporada al producto son muy importantes en el trabajo de caracterización de un residuo industrial. Utilizando estos datos, es posible comparar industrias similares en cuanto a factores de emisión, representados por caudales de efluentes específicos (por ejemplo, m3 de agua utilizada por tonelada de producto) y cargas contaminantes específicas (por ejemplo, kg de contaminante por tonelada de producto), para establecer exigencias de reducción de estos valores, si fuera necesario.

g) Información sobre el Uso del Agua

Es extremadamente importante un balance hídrico completo, que contenga toda la información sobre el uso del agua. Para eso, se deben disponer de datos de caudales de agua industrial (agua de proceso, agua incorporada al producto y agua liberada por la materia prima), agua de refrigeración, agua resultante del lavado de pisos y equipos, agua utilizada en equipos de control de contaminación del aire y agua para el consumo humano (ingesta, lavado, preparación de alimentos, etc.).

h) Información sobre el Efluente Generado

Las peculiaridades en la generación de efluentes líquidos, la posibilidad de medir el caudal por línea de vertido, la disponibilidad de redes de muestreo y las condiciones de acceso a los lugares de muestreo son factores esenciales para definir cualquier campaña de muestreo de efluentes líquidos. Cuando sea necesario, es importante saber si existe o no segregación de residuos.

i) Sistema de Tratamiento de Efluentes

El conocimiento previo de la descripción del sistema de tratamiento de efluentes, así como de su diagrama de flujo, proporciona a los responsables de la toma de muestras una visión global. También permite definir con precisión los puntos muestreo y de los ensayos a realizar, especialmente en los casos de evaluación del rendimiento del sistema de tratamiento.

j) Condiciones de Funcionamiento de Equipos Industriales

Las condiciones de conservación de equipos y maquinaria indican la probabilidad de avería y, por lo tanto, pueden suponer pérdida de materias primas o subproductos con el consiguiente aumento en la generación de efluentes líquidos.

k) Condiciones de Gestión de la Industria

Las condiciones de gestión de una industria dan una idea de cómo se manejan los temas relacionados con el control de la contaminación. Cuando existe una preocupación por implementar programas de capacitación para los empleados, tanto en el ámbito productivo como en el área ambiental, las características de sus efluentes tienden a ser diferentes a aquellas industrias donde no existe esta política.

Para llevar a cabo un estudio industrial confiable, es esencial que los ítems mencionados anteriormente sean verificados con precisión. Además de los datos proporcionados por la industria, las observaciones realizadas en el proceso productivo y en los puntos generadores de efluentes líquidos permitirán una mejor definición del plan de muestreo, con la elección precisa de la frecuencia y tiempo de muestreo, con una descripción detallada de las condiciones físicas del punto de muestreo y medición del caudal, y la correcta elección de los ensayos a realizar.

Además de verificar la información anteriormente mencionada, se debe verificar la existencia de interconexiones inadecuadas, como el agua de refrigeración con efluentes industriales, agua de lluvia y/o agua de refrigeración, la existencia de un *bypass* en el efluente bruto, entre otras. Por lo tanto, una cuidadosa inspección de la industria por parte del responsable de la toma de muestras es fundamental para la adecuada selección del equipo a utilizar en la campaña de muestreo y para dimensionar el equipo requerido para el trabajo.

2.4.5.2 Efluentes Mixtos (Industriales y Domésticos)

La presencia de efluentes industriales mezclados con aguas residuales domésticas en los sistemas públicos de tratamiento de aguas residuales normalmente produce residuos con características diferentes a aquellas donde solo hay aguas residuales domésticas. Por lo tanto, se debe tener un especial cuidado en el momento de seleccionar los ensayos a realizar.

2.4.5.3 Efluentes Generados en Plantas Incineradoras de Residuos Sólidos Industriales u Hospitalarios

Si bien comparte puntos en común con los efluentes industriales, este tipo de efluente no doméstico presenta particularidades en el plan de muestreo que deben observarse para que los resultados de la evaluación sean representativos.

Los principales puntos de generación de efluentes en una planta incineradora de residuos son:

- *Quench* (enfriamiento repentino de gases), cuando se realiza mediante equipos por humedad, como la lavadora Venturi, la torre de *spray* y la torre de llenado;
- Equipos de control de la contaminación del aire por vía húmeda;
- Efluentes provenientes del mantenimiento de equipos;
- Agua de lavado de pisos proveniente de la planta incineradora;
- Aguas de drenaje de enfriamiento de escorias procedentes de residuos industriales incinerados, y
- Aguas de lavado de los depósitos de residuos hospitalarios.

La mayor contribución al caudal proviene, sin duda, de los equipos de control de la contaminación del aire por vía húmeda.

Se debe conocer la cantidad y composición de los residuos introducidos en el incinerador, la cantidad y el tipo de combustible utilizado

y los equipos que generan los efluentes. También es importante evaluar la red muestreo de efluentes y aguas pluviales, ya que en caso de algún derrame y el posterior lavado resultante de la manipulación, transbordo y transporte de grandes cantidades de residuos (en ocasiones peligrosos), estos se caracterizan como efluentes y, por lo tanto, deben ser tratados adecuadamente.

2.4.5.4 Efluentes Percolados Generados en Rellenos Industriales y Sanitarios

La disposición de residuos sólidos en rellenos industriales y sanitarios genera líquidos percolados, conocidos como lixiviados, que pueden infiltrarse y contaminar la napa freática, por lo que deben ser adecuadamente muestreados.

Es importante resaltar que este efluente tiene una composición química que varía según la antigüedad del relleno, las condiciones climáticas, etc., lo que dificulta determinar su caracterización cualitativa y cuantitativa.

2.4.5.5 Evaluación del Desempeño de STAR

Cuando solo se desea evaluar el desempeño de un STAR en su conjunto, los puntos de muestreo a elegir son la entrada y la salida del sistema; sin embargo, si la evaluación en estudio es una unidad STAR, los lugares elegidos deben ser la entrada y la salida de la unidad. Por ejemplo: para el tratamiento biológico realizado mediante un sistema de lodos activados, a menudo es necesario evaluar el funcionamiento del tanque de aireación; para eso, la muestra deberá tomarse dentro de esta unidad y en el retorno de lodos. Por lo tanto, para cada caso es necesario conocer los parámetros de funcionamiento de cada unidad o sistema de tratamiento, para elegir los lugares de muestreo adecuados para evaluar su desempeño.

La evaluación del desempeño en el sistema de tratamiento tendrá en cuenta:

- Aspectos cuantitativos relativos al caudal y la capacidad hidráulica del sistema de tratamiento; y,
- Aspectos cualitativos relativos a las características físicas, químicas y biológicas del efluente bruto y tratado.

En el caso de sistemas biológicos con baja eficiencia operativa, donde todas las condiciones fisicoquímicas e hidráulicas se ajustan a los valores recomendados, es necesario verificar la existencia de posibles compuestos tóxicos en el sistema y, en este caso, los ensayos a realizar deben ser investigados exhaustivamente respecto de todos los productos químicos utilizados, independientemente de la cantidad y finalidad de su uso.

2.4.5.6 Preparación del Proyecto STAR

La obtención de información para el dimensionamiento de un proyecto de sistema de tratamiento, en muchos casos, requiere de muestreos previos en diferentes puntos, para comprobar si existe la necesidad de segregar las líneas generadoras de efluentes.

Se deben seleccionar puntos de muestreo que representen las características de los efluentes a tratar. Si los efluentes se vierten en varias líneas y se unifican antes de ingresar al STAR, el muestreo se debe realizar después de unificar las líneas. Si no fuera posible este encuentro, se deberá realizar un muestreo en cada línea, caracterizando el efluente a tratar.

Es esencial que el muestreo del efluente sea representativo, es decir, su caracterización debe realizarse mediante un muestreo compuesto por alícuotas tomadas, preferiblemente con un volumen proporcional al caudal del efluente bruto durante, al menos, el período de producción diario de la empresa.

2.4.5.7 Selección de Ensayos

Para evaluar los efluentes líquidos de una industria, en términos del cumplimiento de las condiciones y normas de emisión (vertido), se deben seleccionar ensayos pertinentes a ese tipo de actividad industrial y otros propios de esa empresa, teniendo en cuenta sus particularidades, observadas en la guía de información descrita, no siendo necesario analizar todos los parámetros listados en la legislación estatal y/o federal.

En el caso de una estación de tratamiento de aguas residuales domésticas, la elección de los ensayos depende, además de sus características, de los posibles tipos de industrias existentes en la región cuyos efluentes drenan a esta estación.

La elección de los análisis de los efluentes de plantas incineradoras o del líquido percolado de rellenos industriales debe considerar los posibles componentes existentes en los materiales incinerados o en los residuos eliminados, para permitir la selección de ensayos adecuados.

Con relación al cumplimiento de las condiciones y estándares de calidad del cuerpo receptor, se deberá optar por ensayos indicados en la legislación que estén relacionados con la actividad industrial de que se trate, donde estos puedan verse modificados por la descarga del efluente líquido, siendo necesario realizar muestreos en el cuerpo receptor, aguas arriba y aguas debajo de las descargas de la industria o unidad generadora de efluentes líquidos.

Los parámetros a analizar para la evaluación de efluentes con miras a implementar sistemas de reutilización de agua dependen del proceso productivo y de qué contaminantes se tolerarán durante la reutilización.

Para cumplir con los estándares legales, muchas veces es necesario incluir ensayos ecotoxicológicos. Además de estos, también se recomienda realizar la Prueba de *Salmonella*/microsoma (Prueba de Ames – mutagenicidad), aunque no está incluida en la legislación

vigente, ya que es una herramienta importante en el diagnóstico ambiental y el monitoreo de la calidad de los cuerpos de agua receptores para detectar la presencia de compuestos mutágenos.

La elección de los parámetros dependerá, además de los objetivos del programa mencionados anteriormente, del tipo de efluente y de la clase de cuerpos de agua receptores. Para ello, es fundamental mantenerse actualizado, consultando la legislación vigente en los sitios web de las instituciones responsables de su elaboración y/o aprobación, como la ANA (Agencia Nacional de Aguas), ANVISA (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria), CONAMA (Consejo Nacional del Medio Ambiente), IBAMA (Instituto Brasileño de Medio Ambiente y Recursos Naturales Renovables), OMS (Organización Mundial de la Salud), SMA (Secretaría de Medio Ambiente) de cada estado, entre otros.

En el Capítulo 6 y en el Apéndice A se encuentran detalles sobre los procedimientos para la planificación y ejecución del muestreo de sedimentos.

El Apéndice B contiene ensayos adecuados para diversas actividades industriales; sin embargo, solo debe usarse como referencia, debiendo el técnico agregar o no otras variables en función del estudio industrial y/o legislación vigente.

2.4.6 Respuesta a Emergencias Químicas

Las emergencias químicas son eventos no deseados, no planificados, que pueden involucrar diferentes productos y residuos químicos, pertenecientes a diferentes clases de riesgo, y la contaminación ambiental es el propósito de evaluar el evento accidental, en diversos contextos y propósitos.

La toma de muestras en emergencias químicas es una demanda frecuente en situaciones de emergencia que involucran productos químicos, especialmente cuando el suelo y/o el agua están contaminados. En ciertos casos, se pueden tomar muestras inmediatamente

después del accidente con el fin de identificar la fuente de la fuga, como en áreas portuarias, con el objetivo de caracterizar y comparar el perfil químico del petróleo (*fingerprint*) presente en los ambientes acuáticos con las características químicas de petróleo muestreados de diferentes fuentes potenciales. A través de esta comparación es posible reconocer la fuente contaminante (NOAA, 2014). En otras ocasiones, las tomas de muestras requieren un período de tiempo mayor cuando se realizan muestreos secuenciales de acuerdo con una planificación preestablecida, con el objetivo de comprender el comportamiento y los niveles de descomposición de un determinado producto químico dependiendo de la respuesta que se implemente durante la emergencia. Tales muestreos permiten evaluar si las acciones de respuesta están siendo adecuadas o si es necesaria la implementación de otras acciones, con el fin de acelerar la recuperación del medio afectado (IPIECA, 2020).

También son importantes los ensayos para determinar los parámetros físicos y químicos durante la emergencia, ya que en muchos casos la contaminación química, o incluso debido a productos no clasificados como peligrosos (aceite vegetal, concentrados de cítricos, entre otros), puede provocar cambios en las características del ambiente evaluado. como la temperatura del agua, el pH, el oxígeno disuelto, entre otros.

Eventualmente, puede ser interesante aplicar nuevas propuestas de acción, basadas en nuevas tecnologías, que puedan ser probadas para verificar su eficiencia. Para ello se pueden planificar estudios de campo (*in situ*), donde una determinada área es tratada con el método deseado. A través de tomas de muestra realizadas en el área tratada y no tratada con el método, es posible inferir la eficiencia de la acción comparando las concentraciones del contaminante presente en las muestras tomadas y analizadas en el laboratorio.

La toma de muestras y los ensayos de interés dependerán del producto químico involucrado en el accidente. Por lo tanto, en un accidente que involucre productos químicos corrosivos, es clara-

mente necesario determinar el pH del medio afectado. En casos de accidentes con aceites (petróleo y/o sus derivados), se deben tomar muestras para determinar los niveles de hidrocarburos (aceites y grasas, hidrocarburos aromáticos policíclicos, hidrocarburos totales de petróleo, etc.). Como estos productos químicos suelen ser tóxicos para los organismos acuáticos, normalmente se toman muestras para ensayos de ecotoxicidad.

Los productos químicos, los residuos químicos o incluso los productos de combate de accidentes, como el agua de extinción de incendios, pueden cambiar las variables físicas de los cuerpos de agua. Así, un accidente que involucre un producto con alta carga orgánica, aunque no sea una sustancia química (como, por ejemplo, un lixiviado), puede provocar un aumento de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y la necesidad de determinar las concentraciones de oxígeno disuelto en el cuerpo de agua afectado.

Uno de los principales objetivos de la toma de muestras en emergencias químicas es identificar la presencia y concentraciones de contaminantes presentes en el área afectada (ITOPF, 2012), siendo necesarios muestreos en los lugares cercanos al punto donde ocurrió el accidente y muestreos en puntos más alejados, con el fin de identificar la presencia y extensión del área contaminada con el producto químico, así como posibles gradientes espaciales.

Para hacer un seguimiento de la recuperación de los lugares afectados, se podrán realizar muestreos posteriores, según una periodicidad adecuada y compatible con el escenario accidental. El muestreo permitirá, por ejemplo, valorar si las acciones de respuesta están siendo adecuadas o incluso conocer el proceso de recuperación de los lugares afectados mediante el seguimiento de los resultados de los ensayos realizados. En este sentido, el establecimiento de punto(s) de control(es) ayuda(n) a identificar los niveles de contaminación, así como a monitorear la recuperación de lugares afectados por productos químicos en emergencias. En la práctica, los lugares de control en los estudios de campo nunca son completamente idénticos a los lugares

afectados por el accidente. Normalmente, cuando es necesario, se seleccionan *puntos de control representativos* lo más parecidos posible al área afectada.

2.5 Apoyo Operacional

Los vehículos, las embarcaciones, equipos, frascos, material para conservar y envasar las muestras deben estar disponibles en cantidad y calidad adecuadas, evitando adaptaciones de última hora.

2.6 Capacidad Analítica de Laboratorio

Al planificar el muestreo, se debe considerar la capacidad analítica del(los) laboratorio(s) en cuanto al número de muestras que se pueden procesar y los tipos de ensayos a realizar, límites de detección y cuantificación, métodos de ensayo, disponibilidad de estándares y cronograma de atención. Es importante considerar los siguientes conceptos en esta etapa:

- Concentración mínima de interés del analito: es un dato fundamental para la selección de los métodos analíticos que se deben utilizar en la planificación. Normalmente es definida por la legislación o publicada como estándar internacional, y sirve como guía para definir técnicas de muestreo y límites de cuantificación aceptables para los métodos analíticos que se utilizarán para la toma de decisiones ambientales.
- Límite de detección del método (LDM): menor concentración de una sustancia que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse, mediante el método utilizado.
- Límite de cuantificación (LQ): es la concentración más baja de un analito que puede determinarse con un nivel de aceptabilidad que garantice su representatividad. Una vez determinado, este límite sirve para guiar y evaluar si la precisión y la exactitud del método analítico elegido cumplen con los objetivos del plan. Normalmente, para respaldar sustancialmente las decisiones

ambientales, se recomienda que el límite de cuantificación de un método sea al menos un 50% menor que la concentración mínima de interés. En ausencia de métodos oficiales (USEPA, *Standard Methods*, ISO, etc.) que cumplan con la concentración mínima de interés para el analito, se recomienda adoptar el método que mejor cumpla con este límite.

- Incertidumbre de medición: parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de valores asociados a un resultado que puede ser razonablemente atribuido a la cantidad que se desea medir (VIM, 2012). Se utiliza para evaluar la exactitud, la precisión y la confiabilidad de un resultado analítico. La definición de los valores máximos de incertidumbre de los resultados debe establecerse junto con la concentración mínima de interés y debe utilizarse para ayudar en la elección de las metodologías analíticas adoptadas.

2.7 Recursos Financieros y Humanos

Son los recursos necesarios para realizar el trabajo de campo, las tareas analíticas y las de interpretación de datos. En este sentido, es importante planificar cuidadosamente los ensayos a realizar, el número de muestras a examinar y la frecuencia de su muestreo, ajustándolos a los recursos disponibles.

Tanto en los programas de monitoreo, donde se evalúan las tendencias y la eficacia de las medidas de control de la contaminación, como en estudios específicos, se deben elaborar cronogramas de desarrollo de los trabajos, considerando todas las actividades involucradas, la estacionalidad y la disponibilidad para la asignación de recursos humanos y materiales.

2.8 Elaboración del Plan de Muestreo

La planificación del muestreo se documenta en forma de plan de muestreo y su elaboración debe considerar a todos los involucrados en

el proceso, especialmente a los responsables del estudio e interpretación de los resultados, el equipo responsable de la toma de muestras y los laboratorios involucrados en los ensayos.

Se recomienda que el plan de muestreo contenga, como mínimo, la siguiente información:

- Objetivo general y objetivos específicos, cuando corresponda;
- Duración;
- Definición de los lugares a muestrear con detalle de matrices y/o naturaleza de las muestras;
- Frecuencia de muestreo;
- Metodología(s) de muestreo y manipulación de muestras;
- Definición de equipos a utilizar en el muestreo;
- Selección de los ensayos a realizar, en campo y/o en laboratorio;
- Definición de los valores de interés y límites de cuantificación;
- Definición de los métodos analíticos;
- Cantidad necesaria de muestra para cada ensayo o grupo de ensayos;
- Información sobre la conservación y validez de las muestras;
- Establecimiento de procedimientos para monitorear la validez de los resultados;
- Definición del personal responsable de las diferentes etapas del proceso.

Cualquier otro detalle importante para la ejecución de las diferentes etapas del proceso (como croquis de la ubicación de puntos, estudio de la planta y del proceso industrial, plantas hidrográficas de la región, etc.) puede incluirse en el Plan de Muestreo, el cual debe estar disponible para consulta en los lugares de muestreo.



CAPÍTULO 3

PLANIFICACIÓN Y ORGANIZACIÓN DEL TRABAJO DE CAMPO

3. PLANIFICACIÓN Y ORGANIZACIÓN DEL TRABAJO DE CAMPO

Una vez establecido el Plan de Muestreo, que incluye la definición de los objetivos, lugares y frecuencia de muestreo, ensayos, métodos analíticos y de muestreo adecuados y el cronograma de actividades, se pasa a las etapas de planificación, organización y ejecución del trabajo de campo.

Este capítulo contiene instrucciones sobre las actividades de planificación, tipos de muestreo, conservación, acondicionamiento, transporte y almacenamiento de muestras, así como recomendaciones sobre la seguridad en el trabajo de campo.

Más detalles sobre las técnicas y tipos de conservación, el tipo de recipiente, el volumen de muestra necesario, el almacenamiento y la fecha de caducidad de las muestras para ensayos fisicoquímicos, microbiológicos, biológicos y toxicológicos se encuentran en el Apéndice A. En el Apéndice C se describen los procedimientos para preparar las soluciones utilizadas para conservar las muestras y, cuando corresponda, realizar los ensayos.

3.1 Planificación de Actividades

La correcta planificación de las actividades de campo es de fundamental importancia para el éxito del trabajo y debe involucrar los siguientes aspectos:

- Selección de itinerarios racionales, observando los puntos de acceso, el tiempo de muestreo y conservación de las muestras y el plazo de envío de las mismas a los laboratorios, observando la fecha de caducidad de las muestras para cada ensayo, la capacidad analítica y los horarios de atención y funcionamiento de los laboratorios involucrados. Muchos programas de muestreo requieren varios días para desarrollarse, lo que exige enviar las muestras tomadas diariamente a los laboratorios por carretera

o por vía aérea. En estos casos se deben planificar las tomas de muestras calculando la ubicación y horarios de las empresas de transporte;

- Certificación de que el cronograma de muestreo fue enviado a los laboratorios involucrados y que están en capacidad de cumplir con el programa;
- Verificación de la existencia de cualesquiera características en los puntos de muestreo que puedan requerir equipamiento o cuidados especiales, que permitan una adecuada selección y preparación. Esto es especialmente cierto en el caso de toma de muestras utilizando embarcaciones, muestreos de sedimentos, peces y organismos bentónicos, muestreos en lugares de difícil acceso o con alto riesgo de accidentes (ríos caudalosos, mar, puentes con tráfico intenso, muestreos en industrias, etc.);
- Elaboración de tablas o listas de verificación que contengan los equipos y materiales necesarios para el trabajo (fichas de muestreo, frascos de muestra, conservantes químicos, cajas térmicas, hielo, equipos de muestreo y medición, *GPS*, cuerdas, embarcaciones, motores de popa, equipos de seguridad, etc.). Es recomendable llevar frascos de reserva en caso de muestreo adicional, pérdida o rotura de frascos; y
- Verificación de la disponibilidad y adecuado funcionamiento de los equipos utilizados para el muestreo y soporte.

Es importante garantizar que los técnicos involucrados en las actividades de muestreo estén adecuadamente capacitados y calificados para utilizar técnicas específicas de muestreo y conservación de muestras, operar equipos, ubicar con precisión los puntos de muestreo y realizar actividades de acuerdo con los principios de seguridad en el trabajo de campo. Es fundamental que observen y anoten cualquier hecho o anomalía que pueda interferir en las características de las muestras, en las determinaciones de laboratorio o en la interpretación de los datos (color, olor o apariencia extraña, presencia de algas, aceites, colorantes,

material sobrenadante, peces u otros animales acuáticos muertos). También deben tener condiciones de establecer, si fuera necesario, puntos de muestreo alternativos y otros ensayos complementarios para caracterizar mejor el entorno en estudio. Contar con un técnico bien capacitado, consciente y observador es fundamental para el éxito de los objetivos de los programas ambientales de evaluación y monitoreo.

Es importante resaltar que los muestreos ambientales pueden depender de la autorización previa de los organismos competentes, como el Instituto Chico Mendes de Conservación de la Biodiversidad (ICMBio). Se puede obtener más información en el sitio web del Sistema de Autorización e Información en Biodiversidad (SISBIO) (http://www4.icmbio.gov.br/sisbio/). Se recomienda que, durante la planificación del muestreo, se lleve a cabo una verificación de la legislación vigente.

3.2 Toma y Conservación de Muestras

3.2.1 Tipos de Muestreo

El muestreo es probablemente uno de los pasos más importantes en la evaluación de un ambiente o área de estudio; por eso, es esencial que el muestreo se realice con planificación, precaución y técnica, para evitar posibles contaminaciones y/o pérdidas y obtener una muestra representativa de lo que se desea caracterizar.

La técnica a adoptar para el muestreo depende de la matriz (aguas superficiales, aguas subterráneas, aguas tratadas, aguas residuales, sedimentos, biota acuática, entre otras), el tipo de muestreo (simple, compuesto o integrado) y, también, de los ensayos (fisicoquímicos). microbiológicos, biológicos y toxicológicos).

Para definir la naturaleza de la muestra tomada, esta Guía utiliza códigos que hacen referencia a la clase de la muestra: A - Muestras de agua tratada; B - Muestras de agua bruta; C - Muestras de aguas residuales; D - Muestras de suelo, sedimentos, lodo, material sólido

de dragado, residuos sólidos y semisólidos en general; E - Muestras de materiales biológicos. Las definiciones de cada una de éstas se encuentran en el Glosario (Apéndice 4).

Los muestreos pueden ser simples, compuestos o integrados (Fig. 3.1). El muestreo simple, también llamado puntual o instantáneo, consiste en la toma de muestra de un lugar concreto en un corto espacio de tiempo, normalmente de un intervalo de segundos (APHA; AWWA; WEF, 2023). El número de tomas dependerá del volumen de material necesario para realizar ensayos posteriores. Para ensayos relacionados con los analitos o las propiedades inestables o muy sensibles a los procesos de transferencia y homogeneización, como las determinaciones de gases disueltos y compuestos orgánicos volátiles, el muestreo deberá realizarse a partir de una única toma de muestra.

El muestreo compuesto es el asociado a la combinación de una serie de muestras simples, obtenidas durante un determinado período de tiempo, profundidad, sección o incluso en diferentes ubicaciones. Esta técnica se adopta como una alternativa para obtener resultados promedio en casos de matrices heterogéneas o cuando existe alguna limitación en el número de muestras a analizar, pero presenta el riesgo de diluir los analitos a valores por debajo de los límites de cuantificación y aumentar el potencial de interferencia analítica (APHA; AWWA; WEF, 2023). No se recomienda el uso de muestreo compuesto cuando las propiedades o analitos de interés se consideran inestables y/o susceptibles a pérdidas durante el proceso de composición (aceites y grasas, acidez, alcalinidad, dióxido de carbono, cloro residual, cromo hexavalente, nitrito, compuestos orgánicos volátiles, oxígeno disuelto, temperatura, pH, etc.). Es fundamental tomar medidas de acuerdo con la conservación recomendada en los diferentes métodos, para evitar alterar las muestras durante la composición, como refrigerar todas las porciones de muestra tan pronto como se tomen.

El muestreo integrado es el que se realiza con los tomadores de muestras que permiten el muestreo simultáneo, o en intervalos de tiempo muy cercanos, de porciones que se combinarán en una única muestra.

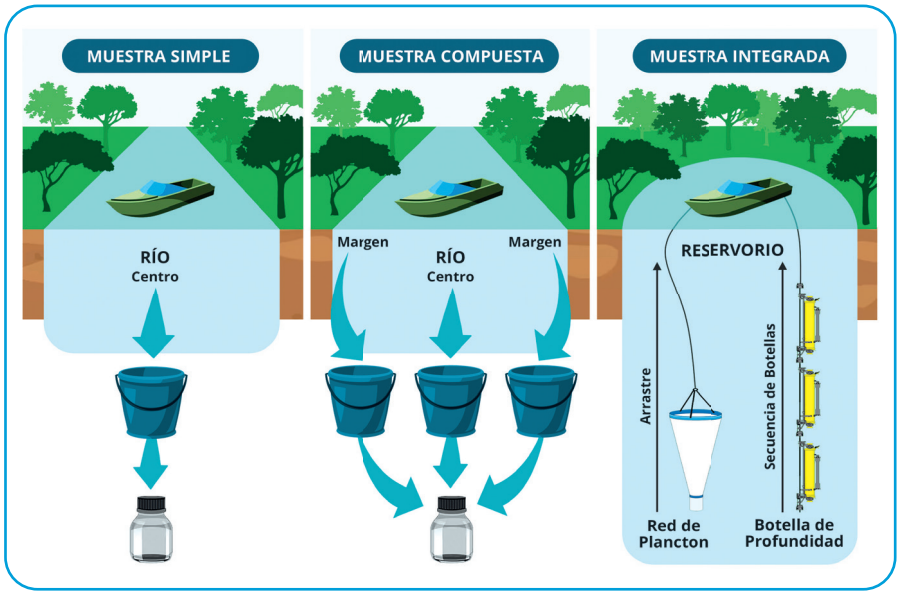


Figura 3.1. Representación de los diferentes tipos de muestreo en aguas brutas superficiales. Muestreo simple; Muestreo compuesto; Muestreo integrado.

Fuente: Renan Lourenço de O. Silva/Banco de Imágenes de CETESB.

Para una mejor representatividad del lugar muestreado, también se puede realizar un muestreo repetido (generalmente por duplicado o triplicado) cuando se toman muestras simples de forma secuencial e independiente, en un corto período de tiempo y/o espacio.

El muestreo de agua también varía en función de la profundidad en que se realiza, pudiendo ser en la superficie (entre 0 y 30 cm de la lámina de agua) o a diferentes profundidades, realizándose esta última obligatoriamente con equipos adecuados. teniendo cuidado de no provocar la suspensión del sedimento cerca del fondo. La profundidad total del lugar de muestreo se verifica en campo mediante una cuerda graduada con un peso adicional, tipo lastre, con la ecosonda de la embarcación o con medidores de profundidad portátiles.

3.2.2 Preservación de Muestras

Independientemente de la naturaleza de la muestra, nunca se puede obtener una estabilidad completa para cada componente. Las técnicas de conservación, selección adecuada de frascos y métodos de almacenamiento tienen como objetivo retrasar la acción biológica y la alteración de los compuestos químicos; reducir la volatilidad o precipitación de los componentes y los efectos de adsorción; y /o preservar los organismos, evitando o minimizando los cambios morfológicos, fisiológicos y densidades poblacionales, en todas las etapas del muestreo (toma, acondicionamiento, transporte, almacenamiento, hasta el momento del ensayo).

Los cambios químicos que pueden ocurrir en la estructura de los componentes ocurren principalmente debido a las condiciones fisicoquímicas de la muestra. Así, los metales pueden precipitar como hidróxidos o formar complejos con otros componentes; los cationes y aniones pueden cambiar el estado de oxidación; los iones se pueden adsorber en la superficie interior del frasco de muestreo; y otros componentes pueden disolverse o volatilizarse con el tiempo.

Las acciones biológicas pueden provocar cambios en la valencia de elementos o radicales. Los componentes solubles se pueden convertir en materia orgánica y, tras la ruptura celular, estos componentes se pueden liberar en la solución. Los ciclos biogeoquímicos, como el nitrógeno y el fósforo, son ejemplos de esta influencia biológica en la composición de la muestra.

Las técnicas de conservación de muestras más utilizadas son: adición química, congelación y refrigeración.

3.2.2.1. Adición Química

El método de conservación más conveniente es el químico, mediante el cual el reactivo se agrega previamente (como para ensayos microbiológicos) o inmediatamente después de la toma de la muestra, promoviendo la estabilización de los componentes de interés por un período más prolongado. Sin embargo, para cada ensayo existe una

recomendación específica (Apéndice A). Generalmente se realiza con la ayuda de un frasco dosificador, un frasco cuentagotas, pipeta, probeta, entre otros.

> ***¡Atención!***
>
> Con relación a la adición previa de reactivo a los frascos de muestreo, se deben tener algunos cuidados, como la posible pérdida de conservantes en situaciones de desbordamiento del volumen de muestra o la contracción de organismos (como el zooplancton) por contacto con altas concentraciones de formol.

3.2.2.2. Congelación

Es una técnica aceptable solo para algunos ensayos y sirve para aumentar el intervalo entre la toma y el ensayo de la muestra *in natura*, sin comprometer esta última.

No es adecuada para muestras cuyas fracciones sólidas (filtrables y no filtrables) cambian al congelarse y volver a temperatura ambiente, ni para la mayoría de determinaciones biológicas y microbiológicas.

La temperatura de congelación es variable y depende del ensayo y/o naturaleza de la muestra, siendo necesario consultar la norma o método de referencia.

3.2.2.3. Refrigeración

Es una técnica común en el trabajo de campo y puede usarse para preservar muestras incluso después de la adición de productos químicos, y se usa con frecuencia para preservar muestras para ensayos microbiológicos, fisicoquímicos, orgánicos e inorgánicos, biológicos y toxicológicos.

¡Esté atento!

Las recomendaciones de conservación dependen del ensayo y de los diferentes métodos y técnicas analíticas asociadas.

Algunas sugerencias se incluyen en el Apéndice A, sin embargo, es esencial que se consulte al laboratorio responsable.

3.3 Acondicionamiento, Transporte y Almacenamiento de Muestras

3.3.1 Acondicionamiento

Este ítem contiene pautas para el acondicionamiento de muestras en cuanto al tipo, limpieza y preparación de los recipientes utilizados.

3.3.1.1 Tipos de Recipientes

Los tipos de recipientes más utilizados para la toma y conservación de muestras son los de plástico autoclavable de alta densidad (polietileno, polipropileno, policarbonato u otro polímero inerte) y los de vidrio neutro, con una boca de aproximadamente 4 cm de diámetro para facilitar la toma de muestras y la limpieza. En general, los recipientes de vidrio y plástico inertes tienen ventajas y desventajas (Tab. 3.1), sin embargo, cabe señalar que algunos ensayos requieren materiales más específicos para el frasco de muestreo, como un color ámbar, vidrio de borosilicato, tapón, protección de la tapa con septo de teflón, etc.

CONDICIONES DE OPERACIÓN	MATERIAL	
	VIDRIO	PLÁSTICO
INTERFERENCIA EN LA MUESTRA	Adecuado para la mayoría de los ensayos orgánicos. Inerte a la mayoría de los componentes excepto a la alcalinidad fuerte. Adsorbe metales en sus paredes.	Adecuado para la mayoría de los ensayos fisicoquímicos, inorgánicos y microbiológicos. Pueden ser una fuente de interferencias/ contaminantes para algunos ensayos.
PESO	Pesado	Liviano
RESISTENCIA A ROMPERSE	Frágil	Resistente
LIMPIEZA	Fácil	Difícil eliminar algunos componentes que están en la superficie por adsorción.
Esterilizable	Sí	Algunos tipos son autoclavables.

Tabla 3.1. Comparación entre recipientes de vidrio y plástico inerte.

Los recipientes de plástico tienen mayores ventajas ya que son livianos y resistentes a romperse, y se recomiendan cuando el plástico es aceptable para el muestreo, debido a su bajo costo y la menor adsorción de iones metálicos. También se pueden utilizar recipientes de polietileno, pero son menos rígidos y, en consecuencia, tienen menor resistencia al autoclavado.

Los frascos pueden ser de vidrio neutro o de borosilicato. La desventaja de este tipo de material es su peso y la posibilidad de rotura durante la manipulación y transporte. Se recomienda el vidrio de borosilicato ya que es inerte a la mayoría de los materiales y es adecuado para ciertos tipos de ensayos, como los microbiológicos, de agroquímicos y de aceites y grasas; sin embargo, tiene un costo mayor.

Los recipientes también pueden ser desechables o reutilizables. Los recipientes desechables se utilizan cuando el costo de limpieza es elevado. Estos deben estar limpios, sin fugas y, en caso necesario,

estériles. Los recipientes reutilizables se usan cuando el costo de limpieza es bajo en comparación con el costo de comprar recipientes nuevos. Deben ser fáciles de lavar y, si es necesario, resistentes a altas temperaturas.

La capacidad de los recipientes varía en función del volumen de muestra requerido para los ensayos a realizar. Generalmente el frasco necesita tener capacidad suficiente para contener la muestra y dejar un espacio que permita una buena homogeneización, a menos que el procedimiento recomiende el muestreo con el frasco completamente lleno. Normalmente, se utilizan frascos de 250 mL, 500 mL, 1 L y 5 L. Sin embargo, pueden ser necesarios recipientes de menor o mayor capacidad, dependiendo de los ensayos a realizar. En el caso de las muestras de sedimentos, se pueden acondicionar en potes o bolsas de plástico de polietileno, potes de vidrio color ámbar (o envolver en papel de aluminio) y bolsas de plástico reforzadas (APHA; AWWA; WEF, 2023).

Es fundamental que el recipiente, la tapa y el tapón estén libres del analito de interés, especialmente cuando los límites de cuantificación son bajos. La elección del material de la botella es extremadamente importante, ya que algunos analitos de la muestra pueden ser adsorbidos por la pared del recipiente y/o algunos contaminantes del recipiente pueden liberarse en la muestra. Para la mayoría de ensayos de compuestos orgánicos se evitan los recipientes de plástico debido a su potencial de contaminación, principalmente por ésteres de ftalatos y considerando que algunos de estos compuestos (incluidos los pigmentos fotosintetizadores) son fotodegradables, es necesario utilizar frascos de vidrio de color ámbar o, si esto no es posible, envolver los frascos transparentes en papel de aluminio o *kraft*. Para el análisis de metales, es importante tener cuidado de que la muestra no entre en contacto con los tapones metálicos. Para realizar ensayos microbiológicos los recipientes deben estar esterilizados. Como norma general, las tapas y tapones deben asegurar un buen sellado de la muestra, especialmente durante el transporte.

3.3.1.2 Limpieza y Preparación de Recipientes

La limpieza de recipientes, tapas y tapones es de gran importancia para evitar la contaminación de las muestras con el analito de interés. Un ejemplo de esta contaminación es el uso de detergentes comunes para lavar los recipientes utilizados en los ensayos de surfactantes y fosfatos. Se debe asegurar que los procedimientos de lavado sean efectivos para la limpieza y no interfieran con los resultados analíticos, por ese motivo, algunos factores como la calidad y composición de los detergentes, pureza de las soluciones utilizadas, tiempo de contacto con los reactivos, control de temperatura, entre otros, deben ser observados.

A continuación, se enumeran los procedimientos manuales más utilizados en la limpieza y preparación de frascos (limpieza básica y especial).

> ***¡Tip!***
>
> Se pueden utilizar procedimientos automáticos usando una lavadora de vidrios, con el desarrollo de programas adecuados para cada tipo de frascos.
>
> Vale la pena señalar que, a pesar de las recomendaciones de esta Guía, se recomienda encarecidamente consultar al laboratorio responsable de los análisis para verificar necesidades analíticas específicas que puedan requerir procedimientos de lavado diferenciados.

a) Limpieza Básica de Frascos

1. Dejar los frascos, tapas y corchos de remojo en una solución de detergente alcalino al 0,1% durante un tiempo suficiente para facilitar la retirada de residuos de la muestra y posibles etiquetas;
2. Fregar los frascos con un cepillo de limpieza hasta eliminar todos los residuos;

3. Fregar con una esponja y detergente neutro la parte exterior de los frascos;
4. Enjuagar con agua corriente para eliminar el detergente (si es necesario, usar agua caliente);
5. Realizar enjuague final con agua reactiva;
6. Colocar en un horno entre 70 y 100°C durante dos horas para que se sequen o dejar secar boca abajo sobre papel filtro absorbente;
7. Cubrir y almacenar en un lugar adecuado (seco y libre de polvo).

En el caso de recipientes nuevos desechables o de vidrio, enjuagar cada frasco, tapa y tapón con agua reactiva (el Glosario). Normalmente este procedimiento es suficiente para asegurar la limpieza de los frascos. Sin embargo, es necesario realizar la prueba del blanco de los frascos para confirmar la limpieza de los mismos (véase el Capítulo 4).

b) Limpieza Especial

En esta Guía, se adoptan procedimientos de lavado especiales para limpiar recipientes para ensayos de metales/fósforo, aceites y grasas, compuestos orgánicos (semivolátiles y volátiles), microbiológicos y mutagénicos.

Limpieza para ensayos de metales y fósforo

1. Sumergir los frascos y sus tapas en una solución de ácido nítrico al 10%, manteniéndolos así durante al menos 48 horas;
2. Retirarlos de la solución, escurriendo el residuo de la solución;
3. Enjuagarlos con agua reactiva;
4. Dejarlos secar con la boca hacia abajo sobre el papel filtro absorbente;
5. Tapar e identificar el lote, que esperará el resultado del ensayo del blanco de frascos (véase el Capítulo 4);
6. Almacenar en un lugar específico adecuado (libre de polvo);

7. Después del resultado satisfactorio del ensayo del blanco de frascos, identificar cada frasco con el número de lote.

Se recomienda, para cada lote, realizar el ensayo del blanco de lavado para todos los metales de interés, utilizando el mismo método que se utilizará en el ensayo.

Este lavado se utiliza en recipientes para ensayos de cromo hexavalente, fósforo total, fósforo disuelto, metales, semimetales y metales disueltos (Apéndice A).

Limpieza para ensayos de aceite y grasa

1. Dejar los frascos, tapas y corchos de remojo en una solución de detergente alcalino al 0,1% durante un tiempo suficiente para facilitar la retirada de residuos de la muestra y posibles etiquetas;
2. Fregar los frascos con un cepillo de limpieza hasta eliminar todos los residuos;
3. Fregar con una esponja y detergente neutro la parte exterior de los frascos;
4. Enjuagar abundantemente con agua corriente caliente (mínimo 5 veces) o en la máquina de lavar con agua caliente (mínimo 2 veces);
5. Enjuagar con n-hexano para eliminar cualquier residuo que pueda interferir con el análisis;
6. Enjuagar con agua reactiva;
7. Dejarlos secar con la boca hacia abajo sobre el papel filtro absorbente;
8. Las tapas y los septos deben lavarse y secarse siguiendo el mismo procedimiento, pero alternativamente se pueden secar a una temperatura entre 110 y 200°C durante al menos 1 hora (probar la resistencia del material antes de la aplicación);
9. Almacenar en un lugar protegido (libre de polvo).

NOTA: Como alternativa a enjuagar los frascos con diluyente, cubrirlos con papel de aluminio y colocarlos en un horno a una temperatura entre 200 y 250°C durante al menos 1 hora (no aplicable para tapas y septos).

Limpieza para ensayos de compuestos orgánicos semivolátiles y ensayos bioanalíticos

1. Remover los residuos de los frascos con agua corriente caliente para retirar la suciedad más gruesa;
2. Lavar con detergente enzimático al 0,5% o similar, utilizando un cepillo y una esponja limpiadora;
3. Enjuagar abundantemente con agua corriente caliente (mínimo 5 veces) o en la máquina de lavar con agua caliente (mínimo 2 veces);
4. Enjuagar con agua reactiva;
5. Introducir los frascos en el horno (270°C - 300 °C) durante al menos 8 horas para eliminar completamente los compuestos orgánicos. Una alternativa para eliminar estos compuestos es enjuagar los frascos con metanol o isopropanol;
6. Las tapas y septos deben lavarse mediante el mismo procedimiento, sin embargo, el proceso de secado debe realizarse en horno a temperatura inferior a 100°C;
7. Tapar e identificar el lote que estará esperando el resultado del ensayo del blanco de frascos (véase el Capítulo 4);
8. Almacenar en un lugar protegido (libre de polvo);
9. Después del resultado satisfactorio del ensayo blanco de los frascos, identificar cada frasco con el número de lote.

Este lavado se utiliza en recipientes para ensayos de fenoles por cromatografía, herbicidas fenoxiácidos, HAPs (hidrocarburos aromáticos policíclicos), agroquímicos, PCBs (bifenilos policlorados), actividad estrogénica y actividad glucocorticoide (Apéndice A).

Limpieza para ensayos de compuestos orgánicos volátiles

1. Remover los residuos de los frascos con agua corriente caliente para retirar la suciedad más gruesa;
2. Lavar con detergente enzimático al 0,5% o similar, utilizando un cepillo y una esponja limpiadora;
3. Enjuagar con agua corriente caliente (al menos 5 veces) o enjuagar en la lavadora con agua caliente (al menos 2 veces);
4. Enjuagar con agua reactiva y secar en horno a temperatura entre 100 y 150 ºC durante al menos 1 hora;
5. Se debe aplicar el mismo procedimiento al septo de teflón (si se reutiliza) y a la tapa, sin embargo, el proceso de secado debe realizarse en horno a temperatura inferior a 105 °C;
6. Almacenar en un lugar protegido (libre de polvo).

Este lavado se utiliza en recipientes tipo V *Vial* (COV y THM) (Apéndice A).

Limpieza para ensayos microbiológicos

- Limpieza de recipientes

1. Lavar los frascos y las tapas, interna y externamente, con una solución de detergente alcalino al 0,1% o equivalente, utilizando un cepillo de limpieza;
2. Enjuagar los frascos unas diez veces con agua corriente y una última vez con agua reactiva, llenando y vaciando los frascos por completo;
3. Acondicionar las tapas y frascos en posición vertical con la boquilla hacia abajo para eliminar el exceso de agua.

Después del lavado, es necesario añadir conservantes y esterilizar los frascos para garantizar que estén libres de contaminación microbiológica. Se debe probar la eficiencia del proceso de autoclavado con bioindicadores.

- Adición de conservantes

Los frascos para la toma de muestras para análisis microbiológicos de aguas y efluentes clorados deben contener un agente neutralizante del cloro residual (tiosulfato de sodio) y un agente quelante (EDTA – etilendiaminotetraacetato de sodio), en cantidades adecuadas para neutralizar el cloro y quelatos metálicos que puedan estar presentes en estas muestras.

Para realizar el análisis de efluentes clorados, agregar tiosulfato de sodio en cantidades suficientes para obtener una concentración de 100 mg/L en la muestra (por ejemplo, 0,1 mL de una solución al 10% para 120 mL de muestra), lo que neutralizará hasta 15 mg/L de cloro residual. Para el muestreo de agua tratada, la concentración de tiosulfato de sodio se puede reducir: 0,1 ml de una solución al 3% por 120 ml de muestra neutralizarán hasta 5 mg/l de cloro residual. Es necesario conocer de antemano los niveles de cloro residual de los nuevos puntos de muestreo para poder preparar frascos de muestreo con cantidades adecuadas de tiosulfato de sodio.

Se debe agregar un agente quelante en caso de que la muestra pueda contener metales (cobre, níquel, zinc, etc.) en concentraciones superiores a 0,1 mg/L. En esta situación probable, agregar 0,3 ml de una solución de EDTA al 15% por cada 120 ml de muestra.

Estas soluciones deben agregarse a los frascos de muestreo antes de la esterilización.

Luego de agregar los agentes quelantes y neutralizadores de cloro libre, se cierra el frasco y se cubre la tapa y el cuello con papel de aluminio, para que queden protegidos de la contaminación por manipulación, durante todo el proceso de muestreo. Es importante que la tapa quede ligeramente suelta para evitar que el frasco se rompa, facilitar la circulación del vapor y eliminar el aire del interior durante el proceso de esterilización. Después del proceso de esterilización, atornillar completamente la tapa del frasco y asegurar el papel de aluminio con una banda elástica (Fig. 3.2).

Para el muestreo de lodos de alcantarillado y sedimentos no es necesario añadir reactivos. Autoclavar los frascos y proteger la tapa y el cuello con un trozo de papel de aluminio.



Figura 3.2. Frasco de muestreo destinado a ensayos microbiológicos en agua y sedimentos/lodos.
Foto: Renan Lourenço de O. Silva/Banco de Imágenes de CETESB.

Después del autoclavado, manipular el frasco sin quitar el papel de aluminio para evitar contaminación y guardar en un lugar protegido (libre de polvo).

- Esterilización de recipientes

Para esterilizar los recipientes se deben observar las precauciones necesarias según el tipo de recipiente, como se describe a continuación:

1) Recipientes de vidrio neutro

Esterilizar en horno a 170 a 180 °C durante dos horas.

2) Recipientes de plástico autoclavable Autoclavar a 121 °C y 0,1 MPa (1 atm) durante 15 a 30 minutos.

Después de la esterilización se debe realizar una prueba de esterilidad de los frascos y una prueba de neutralización del cloro residual libre.

- Preparación y esterilización de la mecha para ensayos de patógenos (Técnica de Moore)

La mecha se confecciona con tela de crepé o gasa esterilizada, la cual debe doblarse cinco veces, manteniendo unas dimensiones de 23 cm de ancho x 46 cm de largo en cada pliegue (Fig. 3.3). Partiendo de la base inferior de 23 cm se cortan 5 tiras de 4,5 cm de ancho y 36 cm de largo, dejando 10 cm libres en la parte superior sin cortar, donde se fijará el hilo de nylon que servirá de soporte para la mecha (Fig. 3.4). La longitud del hilo de nylon utilizado debe determinarse de acuerdo con la profundidad del punto de muestreo, asegurándose de que esté completamente sumergido. Para toma de muestras en ríos, presas o arroyos, las mechas deben tener un peso fijo en su interior, para facilitar la inmersión. Envolver en papel *kraft* y autoclavar a 121 °C durante 15 minutos.

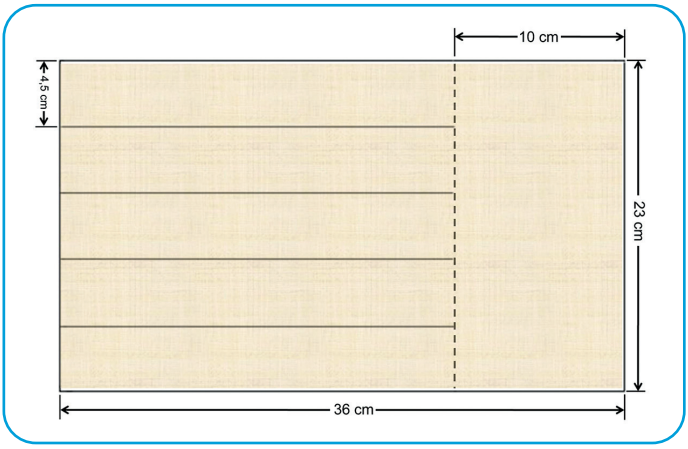


Figura 3.3. Dimensiones de la tela de gasa para fabricar la mecha para tomar muestras y analizar patógenos.

Fuente: Banco de Imágenes de CETESB

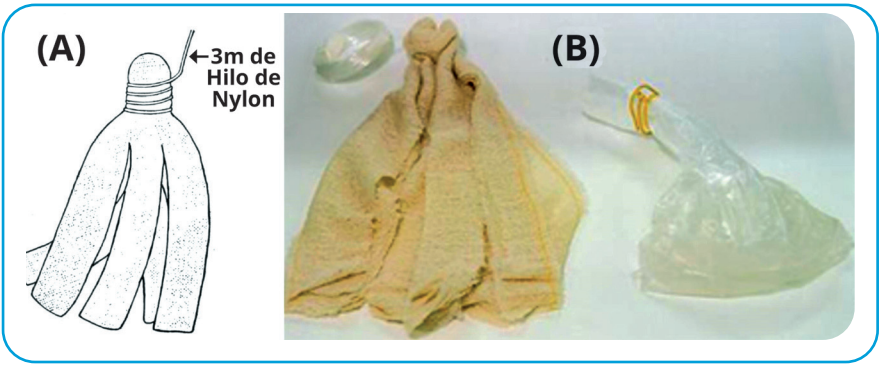


Figura 3.4. Mecha utilizada en la técnica de Moore: (A) Esquema; (B) Foto de la mecha de gasa y el medio de transporte (Cary Blair).

Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de Imágenes de CETESB.

- Preparación de medio de transporte Cary y Blair (Técnica Moore)

La preparación del medio de transporte Cary y Blair se incluye en el Apéndice 03 (Preparación de soluciones).

Limpieza para Ensayos de Mutagenicidad (Prueba *Salmonella*/ microsomas o prueba de Ames)

1. Lavar los frascos de borosilicato y tapas, interna y externamente, con una solución de detergente alcalino tipo Extran® al 0,1%, utilizando un cepillo limpiador;
2. Enjuagar de ocho a diez veces con agua corriente, hasta que los residuos de detergente ya no sean visibles;
3. Lavar con una solución de ácido sulfúrico/ácido nítrico al 10% (6+1);
4. Enjuagar de ocho a diez veces con agua corriente y 1 vez con agua reactiva;
5. Acondicionar las tapas y frascos con la boca hacia abajo para eliminar el exceso de agua;
6. Secar en horno a temperatura superior a 50 ºC;
7. No es necesaria la esterilización posterior de los recipientes;
8. Almacenar en un lugar protegido (libre de polvo).

Limpieza para Ensayos de Toxicidad aguda con *Vibrio fischeri* (Microtox®)

1. Lavar los frascos y las tapas de polietileno unas diez veces con agua reactiva;
2. Dejar secar a temperatura ambiente, colocándolos con la boca hacia abajo sobre papel absorbente o en un horno a 50°C aproximadamente, colocándolos en un recipiente de plástico o aluminio forrado con papel absorbente, hasta que estén visualmente secos;
3. Tapar los frascos e identificarlos con el número de lote;
4. Almacenar en un lugar protegido (libre de polvo);
5. Para cada lote preparado, realizar una prueba con *Vibrio fischeri* en 4 frascos y, si alguno presenta toxicidad, repetir el lavado.

3.3.2 Transporte y Almacenamiento

El transporte y almacenamiento de las muestras tomadas debe realizarse bajo refrigeración, hasta el momento del ensayo, observando las recomendaciones y excepciones especificadas en el Apéndice A.

3.4 Seguridad en el Trabajo de Campo

El trabajo de campo se realiza en condiciones y lugares muy variados, lo que puede provocar accidentes. Para que se puedan reducir los riesgos de accidentes, es necesario alertar y capacitar a los técnicos implicados, proporcionando los equipos de protección individual (delantales, botas, guantes, gafas de seguridad, capa de lluvia, protector solar, etc.) y colectivos adecuados para el trabajo a realizar, tener disponible un botiquín de primeros auxilios y se recomienda que el personal tenga seguimiento médico periódico y que esté vacunado.

A continuación, se realizan consideraciones y recomendaciones para algunas de las actividades que presentan mayor riesgo de accidentes para el trabajo de campo.

3.4.1 Desplazamiento

El propio traslado de técnicos y equipos al lugar de muestreo representa un riesgo. No solo los inherentes al desplazamiento, sino también los resultantes del transporte concomitante del material de muestreo, especialmente cuando se cuenta con una embarcación, equipos especiales, frascos de vidrio y reactivos para la conservación de muestras. Estos materiales no deben transportarse junto con pasajeros. Se recomienda almacenar los materiales adecuadamente, preferiblemente en el maletero o plataforma de carga del vehículo. Se debe respetar la capacidad máxima de peso y volumen del vehículo. Es obligatorio el uso del cinturón de seguridad, incluso en trayectos cortos, tal y como exige la legislación vigente.

Los frascos que contengan los reactivos utilizados para conservar las muestras deben ser preferentemente de plástico y contar con tapones de cierre para evitar fugas. Si son de vidrio, los frascos deberán estar debidamente sujetados y protegidos para que no se rompan durante el transporte.

3.4.2 Acceso a Puntos de Muestreo

Los lugares de difícil acceso y cercanos a puentes, carreteras muy transitadas y lugares con mucho tráfico, etc., pueden aumentar la probabilidad de que se produzcan accidentes, que muchas veces son evitables. Un puente, por ejemplo, puede ser una forma más fácil de llegar al centro de un río y extraer la muestra. Sin embargo, en su mayoría estos lugares están muy transitados, hay carriles estrechos y una pequeña pista de seguridad para los peatones, lo que dificulta la parada del vehículo y supone riesgos para los técnicos que realizan los trabajos. Por ello, la toma de muestras en puentes debe ir precedida de la colocación de un dispositivo de señalización adecuado que proporcione protección frente al paso de vehículos.

Las regiones con mucha vegetación, donde el acceso a los puntos de muestreo se realiza a través de senderos, ofrecen un mayor riesgo

de picaduras de insectos y de serpientes u otros animales. Por ello, en estos lugares se debe prestar especial atención y llevar ropa adecuada, como pantalones largos, botas, calzas, gorro, etc.

3.4.3 Embarcaciones

Es muy común el uso de embarcaciones para la toma de muestras en ríos, presas, embalses, zonas de estuario y de mar. Por lo tanto, verificar las condiciones generales de la embarcación, remolque y sus accesorios es importante para evitar retrasos y accidentes durante el viaje y la ruta embarcada hasta el lugar de muestreo. Se deben comprobar las condiciones de funcionamiento del conjunto de equipos. Los ítems obligatorios son: motor, tanque y manguera de combustible, batería, tapones de casco, remos, chaleco salvavidas en cantidad suficiente para toda la tripulación, ancla, extintor, cuerdas, luces de señalización nocturna para la embarcación y el remolque y rueda de repuesto para el remolque. También se recomiendan otros accesorios como brújula, ecosonda, GPS, teléfono celular, sistema de radiocomunicación, bengalas de colores, así como piezas básicas de mantenimiento del motor (bujías, caja de herramientas, aceite de motor, etc.).

Toda la documentación de la embarcación y remolque, así como la licencia náutica de los operadores de la embarcación, deberá estar en regla. Se deberá tener en cuenta la compatibilidad de la ubicación de los puntos con la categoría de licencia náutica del conductor.

Cuando los trabajos requieran la operación de la embarcación lejos de la costa o en otras zonas remotas, es necesario establecer un punto de apoyo en tierra (puertos deportivos, presas, clubes, Capitanía Portuaria, Policía Militar/Ambiental, etc.), informando el plan de trabajo y ruta de navegación, un número de celular o radiofrecuencia para contacto. También se recomienda obtener información previa sobre las condiciones climáticas de la región y tener a la mano mapas o cartas náuticas y tablas de mareas. En el caso de muestreos de larga duración, es importante llevar a bordo agua potable y alimentos ligeros.

Se recomienda que el equipo de trabajo tenga capacitación en natación básica y supervivencia en naufragios.

3.4.4 Manipulación de Reactivos y Soluciones

La conservación de muestras mediante reactivos químicos puede provocar numerosos accidentes. Para reducir este riesgo, se deben manipular los reactivos correctamente (¡nunca pipetee los reactivos con la boca!) para evitar quemaduras en manos, cuerpo y pies, ataque al esmalte dental e ingestión accidental de reactivos.

La rotura de frascos y pipetas de vidrio se puede evitar utilizando frascos de plástico, como cuentagotas o frascos dosificadores, que permiten añadir la cantidad necesaria de reactivo directamente a la muestra, sin utilizar pipetas.

3.4.5 Muestreo de Efluentes (Industriales, Domésticos y Mixtos)

Cuando los puntos de muestreo se ubican dentro de industrias, los técnicos involucrados están expuestos a todos los riesgos de accidentes inherentes a esa área. Por ello, deberán recibir la capacitación adecuada para su permanencia, así como estar dotados con los equipos de seguridad que exige la industria.

Como los efluentes líquidos pueden contener diversos compuestos químicos y/o componentes infectocontagiosos, los técnicos deben estar preparados para manipularlos con seguridad, evitando todo tipo de accidentes, ya sea desde la perspectiva tóxica o explosiva, o desde el punto de vista de la contaminación y riesgos biológicos. Por ejemplo, los efluentes que contienen cianuro y arsénico pueden presentar una alta toxicidad; los diluyentes, en general, presentan riesgo de explosión; varios compuestos químicos pueden ser cancerígenos o presentar riesgo de quemaduras; las aguas residuales y los desechos domésticos pueden contener microorganismos patógenos.

Por lo tanto, es necesario capacitar a los técnicos para situaciones de emergencia que puedan ocurrir en los lugares de muestreo, como

industrias, plantas de tratamiento de aguas residuales, rellenos sanitarios e industriales y plantas de incineración de residuos sólidos.

3.4.6 Muestreo en Respuesta a Emergencias Químicas

El muestreo en ambientes con derrame de productos químicos o con signos de contaminación expone al equipo técnico a ciertos riesgos, debiendo utilizar equipos de protección individual (EPI) adecuados, en combinación con las buenas prácticas laborales observadas en la respuesta a emergencias químicas (BONN AGREEMENT, 2021). La toma de muestras en los momentos iniciales de un incidente puede llevar al técnico de muestreo a los mismos riesgos a los que están expuestos otros socorristas. Puede ser necesario ingresar a un área donde existe una fuga/derrame de alguna sustancia y aún está expuesta al ambiente o posiblemente tener que transitar por áreas de riesgo para llegar a los puntos de evaluación de interés, ya sea en tierra o en agua. Por lo tanto, es necesaria una evaluación cuidadosa sobre la necesidad de utilizar protección cutánea y respiratoria.

Los ambientes con presencia física de un producto, ya sea sólido, líquido o gaseoso, que haya emitido o pueda estar emitiendo gases o vapores orgánicos o inorgánicos, inflamables o tóxicos, reactivos u oxidantes, obligan al técnico a optar por EPIs que lo protejan para llevar a cabo la tarea. En los casos en que existan sustancias tóxicas, la protección respiratoria se proporciona mediante el uso de una máscara panorámica con filtro de carbón específico para los productos involucrados. En casos extremos, cuando no se pueden garantizar niveles seguros de oxígeno en el aire o en caso de altas concentraciones de contaminantes, se debe utilizar un equipo de respiración autónomo. En episodios que involucren vapores tóxicos o agresivos para la piel, se debe usar ropa de protección química junto con protección respiratoria (Fig. 3.5).



Figura 3.5. Equipo de protección individual para la toma de muestras en emergencias químicas.
Foto: Sector de Emergencias/Banco de imágenes de CETESB.

Para la toma de muestras líquidas o sólidas se deben utilizar guantes adecuados que garanticen la protección química en caso de contacto directo con el producto. El rostro queda protegido contra salpicaduras mediante el uso de una máscara panorámica.

Para situaciones en las que la principal característica del producto es la inflamabilidad, con posible riesgo de incendio o explosión, se recomienda utilizar ropa de protección térmica durante la realización de trabajos y permanencia en el lugar.

El uso de botas de protección química completa el conjunto de EPIs utilizados para responder a emergencias químicas y también para las actividades de muestreo.

Las buenas prácticas laborales recomiendan un mínimo contacto/exposición con el producto químico, incluso cuando se usan botas, guantes y ropa protectora. Se debe evitar el contacto innecesario, recordando que todos los EPIs y materiales de muestreo que puedan

entrar en contacto con el producto químico deben someterse a un proceso de descontaminación química o incluso ser eliminados adecuadamente.

Con el inicio de acciones de combate, como detener la fuga, contener el producto, utilizar materiales absorbentes y eliminar productos y residuos, se espera una reducción continua de la contaminación en el medio ambiente. Por tanto, todo el trabajo posterior, incluida la toma de muestras, puede realizarse en un entorno menos hostil para los trabajadores. Así, los equipos de protección individual podrán ajustarse a niveles de protección menos intensos, volviendo a los practicados habitualmente, como el uso de guantes, gafas protectoras y delantal contra salpicaduras.

En términos generales, en toda campaña de muestreo se deben tomar las siguientes precauciones:

- Verificar la limpieza de los frascos y demás materiales y equipos utilizados para la toma de muestras (baldes, botellas, tomamuestras, etc.);
- Verificar que los frascos y reactivos para conservación sean aptos y estén dentro de la fecha de caducidad para su uso. En caso de duda, cambiarlos;
- Asegurarse de que el interior de los frascos, así como las tapas y tapones, no sean tocados con las manos ni expuestos al polvo, humo y otras posibles fuentes de contaminación (como gasolina, aceite y gases de escape de vehículos, cenizas y humo de cigarrillos). Es importante que los técnicos no fumen y usen guantes de procedimiento durante la toma de muestras para evitar la contaminación;
- Se pueden utilizar repelentes de insectos y protectores solares, siempre y cuando se utilicen guantes al manipular las muestras, para evitar su contaminación;
- En caso necesario, realizar la ambientación del equipo de muestreo con agua del lugar;
- Asegurar que las muestras líquidas no contengan partículas grandes (escombros, hojas, etc.) u otro tipo de material incidental durante la toma de muestras;
- No realizar ensayos de campo sobre muestras destinadas a ensayos de laboratorio, evitando así el riesgo de contaminación;
- Almacenar las muestras protegidas de la luz inmediatamente después de la toma y/o conservación;
- Acondicionar muestras que requieran refrigeración para su conservación en cajas térmicas con hielo;
- Siempre que el procedimiento de muestreo se realice con el apoyo de una embarcación, se recomienda que esta se mantenga en la misma posición hasta el final del procedimiento para evitar perturbaciones;

- Mantener un registro de toda la información de campo en un formulario adecuado (ficha de muestreo, por ejemplo), que contenga los siguientes datos:
  a) Nombre del programa de muestreo y responsable, con teléfono de contacto;
  b) Nombre de los técnicos responsables del muestreo;
  c) Identificación unívoca de la muestra;
  d) Identificación del punto de muestreo: código del punto, descripción, dirección, georreferenciación, etc.;
  e) Fecha y hora del muestreo;
  f) Matriz de muestra (agua tratada, agua subterránea, agua dulce bruta, agua bruta salobre, agua bruta salina, efluente industrial, efluente doméstico, sedimento, etc.);
  g) Tipo de muestreo (simple, compuesto o integrado);
  h) Resultados de ensayos/datos de campo e identificación unívoca del equipo utilizado para medir la temperatura del aire y del agua, pH, conductividad, oxígeno disuelto, transparencia, color visual, caudal, lectura de regla, etc., cuando corresponda;
  i) Eventual observación de campo;
  j) Condiciones climáticas de las últimas 24 horas que puedan interferir con la calidad del agua (lluvias, marejadas, etc.);
  k) Indicación de los ensayos a realizar y los laboratorios involucrados;
  l) Tipo e identificación unívoca de los equipos de muestreo para rastrear información importante, como: nombre, tamaño, malla, capacidad, volumen filtrado, etc.



CAPÍTULO 4

CONTROL DE CALIDAD EN EL MUESTREO

4. CONTROL DE CALIDAD EN EL MUESTREO

Como se describió en los capítulos iniciales de esta Guía, el objetivo del muestreo siempre está relacionado con la obtención de muestras, las cuales deben ser manipuladas y analizadas de tal manera que no se comprometa la calidad de los resultados, con el fin de representar el medio ambiente y cumplir con los objetivos predeterminados.

Una vez retiradas del medio ambiente, las muestras pasan por varias etapas antes de ser analizadas y, en este proceso, existen varias fuentes de variabilidad que pueden afectar los resultados. El detalle de estas etapas indica que la mayoría de las posibles fuentes están relacionadas con procedimientos de campo (Figura 4.1).

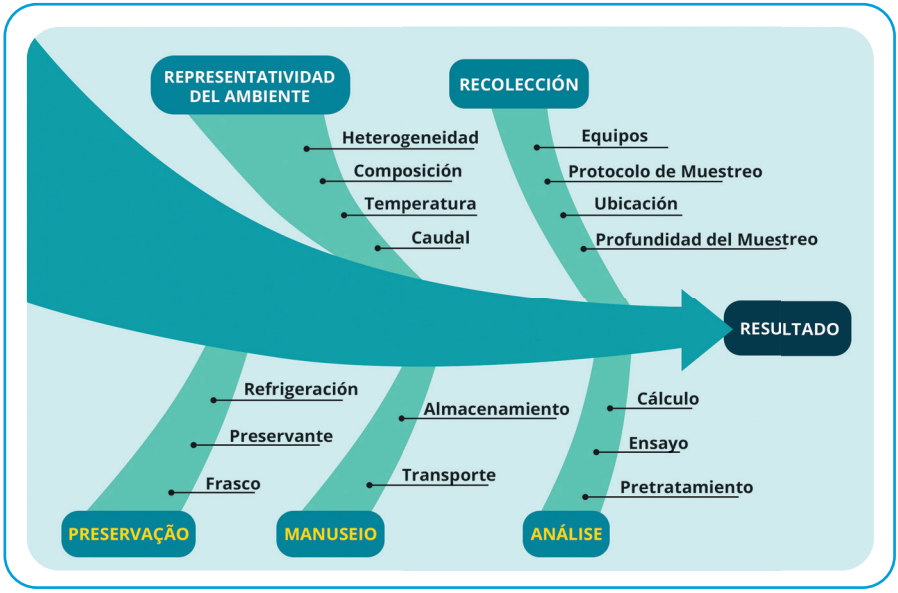


Figura 4.1. Diagrama de Espina de Pescado que representa las diversas fuentes de variabilidad en el muestreo y los ensayos.

Fuente: Renan Lourenço de O. Silva/Banco de imágenes de CETESB.

Por lo tanto, el muestreo puede considerarse uno de los factores más críticos en este proceso. Uno de los hitos al reconocer la importancia de esta etapa en los análisis ambientales de rutina lo fue la pu-

blicación de la norma ISO 5667-1 en 1980 (ISO, 1980) que contiene directrices generales para diseñar programas de muestreo y técnicas de muestreo. En aquel momento, sin embargo, los esfuerzos por garantizar la validez de los resultados todavía se centraban en la descripción y validación de los propios procedimientos y métodos analíticos, que en solo unos pocos casos contenían recomendaciones y/o requisitos para un adecuado muestreo (STRUB et. al, 2009).

Con la evolución de las técnicas analíticas, junto con el avance de diversas políticas de calidad de los laboratorios, la dependencia entre la calidad de los resultados y las etapas de muestreo se hizo cada vez más evidente y, desde principios de los años 1990, surgieron programas de monitoreo ambiental que preveían la estandarización de protocolos de toma de muestras destinadas a controles de calidad (CQ) de campo (MULLER et al., 2015).

Siguiendo esta tendencia, la Cgcre (Coordinación General de Acreditación), organismo de acreditación vinculado al INMETRO y reconocido por el Gobierno brasileño para acreditar laboratorios y otros organismos de evaluación de la conformidad, publicó a finales de 2009 la primera versión de la NIT DICLA-057 (INMETRO, 2009), que es el documento que define los criterios de acreditación de muestreo para ensayos de aguas y matrices ambientales. Estos criterios incluyen la necesidad de implementar una serie de muestras para el control de calidad.

Según Müller et al. (2015), el muestreo con fines de control de calidad tiene dos objetivos distintos que deben considerarse al planificar actividades. El objetivo principal es proporcionar estimaciones generales sobre errores y variabilidad derivados de todos los procedimientos incluidos en las etapas de muestreo, procesamiento y análisis de muestras. El segundo objetivo de los datos de control de calidad de campo es localizar el origen de estos errores y variabilidad para que se puedan proponer modificaciones a los procedimientos, o parte de ellos, con el objetivo de eliminar o reducir el impacto de estas variables en los resultados.

Determinar el alcance e implementar un programa de control de calidad de muestreo que cumpla cualquiera de estos dos objetivos principales requiere el conocimiento de la información proporcionada por cada tipo específico de muestra de control de calidad, las fuentes potenciales de error y variabilidad del proceso general de muestreo y análisis, las técnicas para utilizar la información de CQ (control de calidad) en la interpretación de datos y los límites espaciales y/o temporales del uso de la información de CQ.

Los controles de calidad para el proceso de muestreo deben establecerse con antelación a la actividad de muestreo y tener definidos sus criterios de aceptación y toma de decisiones. Su planificación debe considerar la criticidad del proyecto, el uso previsto de los resultados del análisis, los analitos de interés y los niveles de contaminación esperados, las matrices y la cantidad de muestras, las diferentes estrategias de muestreo y conservación utilizadas y los costos involucrados.

Los siguientes ítems describen la información principal respecto de los blancos y duplicados, que son los dos tipos de muestras de control de calidad más adoptadas en la etapa de muestreo para estimar las magnitudes y variabilidad de la contaminación, respectivamente. Las fuentes específicas de error y variabilidad que pueden evaluarse utilizando estos controles dependen de cómo se toman las muestras.

Detalles como el volumen de la muestra, el tipo de frasco y la forma de conservación están relacionados con la matriz de la muestra y los ensayos involucrados. Se sugiere consultar las instrucciones generales de muestreo en los Capítulos 6 y 7 y otras instrucciones en el Apéndice A.

4.1 Blancos

Los blancos son muestras utilizadas para estimar **errores** causados por la **contaminación** y deben prepararse con agua reactiva, es decir, agua libre de los analitos de interés. La calidad del agua utilizada puede variar, por tanto, en función de los ensayos que se realicen para

investigar una posible contaminación. En este tipo de control, la presencia de resultados cuantificables para un analito determinado puede indicar la aparición de una contaminación similar en otras muestras.

Este tipo de muestra de control se utiliza para estimar la contaminación relacionada con el proceso de muestreo y análisis en su conjunto, o solo en ciertas etapas, dependiendo de cómo se toman las muestras. En consecuencia, existen diferentes tipos de blancos y, aunque existen divergencias con respecto a las definiciones y sugerencias de procedimientos en la literatura, es importante que cada laboratorio de muestreo tenga conocimiento de todas las fuentes potenciales de contaminación consideradas en sus protocolos de muestreo de blancos.

Esta Guía cubrirá los principales tipos de blancos asociados a la etapa de muestreo. Para obtener información acerca de los blancos utilizados en los procedimientos de análisis, se recomienda consultar la NIT DICLA-057 (INMETRO, 2009) y otros documentos específicos como *Blanks in Method Validation - Supplement to Eurachem Guide The Fitness for Purpose of Analytical Methods* de Cantwell (2019).

4.1.1 Blanco de Campo

El blanco de campo se utiliza para estimar la magnitud de la posible contaminación ambiental que puede agregarse a las muestras durante los procedimientos de muestreo y, en consecuencia, puede usarse para evaluar protocolos de campo. Por lo tanto, deben prepararse de tal manera que la muestra de agua reactiva utilizada esté expuesta a todas las fuentes potenciales de contaminación que puedan afectar las muestras durante todas las operaciones de muestreo.

Los frascos deben llenarse en el campo con agua reactiva utilizando el **mismo protocolo de muestreo** que las otras muestras y deben exponerse al entorno de muestreo durante el mismo tiempo que las muestras de rutina, como el siguiente ejemplo para muestreo de agua bruta de superficie.

Procedimiento de muestreo de blanco de campo – muestreo de agua bruta de superficie

- En el mismo lugar donde se realizan los muestreos de rutina, llenar el balde de acero inoxidable que se utilizará para ello con agua reactiva (simulando el volumen de agua ambiental habitualmente muestreado en el equipo);
- Llenar el (los) frasco(s) destinado(s) a los ensayos de blanco de campo, conservarlos según el Apéndice A y mantenerlos abiertos;
- Tomar muestras de rutina de acuerdo con el procedimiento específico descrito en el Capítulo 6;
- Cerrar los frascos destinados a los ensayos de blanco en el momento en que se cierran los demás frascos de rutina;
- Acondicionar la(s) muestra(s) de blanco de campo en la misma caja térmica que las otras muestras para su transporte.

¡Atención!

En la etapa de planificación del trabajo de campo se debe calcular el volumen de agua reactiva a utilizar en las muestras de blanco y también en otros posibles procedimientos, como lavado de sensores y/o sondas.

En resumen, siguiendo este procedimiento para muestrear el (los) blanco(s) de campo, la muestra representada por el agua reactiva queda expuesta a las siguientes fuentes potenciales de contaminación: medio ambiente, equipo responsable de la toma y manipulación de muestras, equipos de muestreo, conservantes, frascos, caja térmica y vehículo utilizado para el transporte.

Si el objetivo es aislar el entorno del muestreo de otras fuentes potenciales de contaminación, se sugiere que el(los) frasco(s) destinado(s)s a los ensayos de blanco de campo se prepare(n) en un lugar limpio y controlado, como el laboratorio de muestreo, y que la muestra de agua reactiva se tome directamente de su fuente, sin pasar por equipos de muestreo. Posteriormente las muestras son preservadas y refrigeradas, cuando corresponda, para ser transportadas al campo. En el campo, los frascos deben retirarse de la caja térmica y dejarse

destapados junto con los demás frascos de rutina, durante toda la operación de muestreo. Deben taparse y transportarse de la misma manera que los frascos de muestras de rutina.

Se observa que, si bien las posibles contaminaciones provenientes del medio ambiente sean el mayor interés, otras fuentes potenciales de contaminación son inherentes al proceso (reactivos, frascos, caja térmica y el vehículo utilizado para el transporte).

4.1.2 Blanco de Equipos

El blanco de equipo se utiliza esencialmente para demostrar la eficiencia de los protocolos de limpieza del (los) equipo(s) utilizado(s) en los procedimientos de muestreo, con el fin de demostrar que no son una fuente de contaminación para las muestras.

Debe prepararse en un ambiente controlado (como el laboratorio de muestreo), utilizando equipo limpio (basado en protocolos de rutina definidos por el laboratorio) y disponible para su uso.

El equipo de muestreo se llena con un volumen de agua reactiva similar al volumen típico de muestra tomada en campo y luego este volumen se distribuye en frascos de acuerdo con los ensayos de interés, se conservan y envían a análisis.

En resumen, siguiendo este procedimiento de muestreo del blanco del equipo, la muestra representada por el agua reactiva queda expuesta a las siguientes fuentes potenciales de contaminación: equipos de muestreo, conservantes y frascos.

En los casos en que se lleve a cabo algún tipo de limpieza en campo para utilizar equipos en más de un punto de muestreo, la estrategia del blanco del equipo se puede modificar para hacer frente a esta situación. Por ejemplo, después de lavar el equipo en el lugar de muestreo, la última porción de agua reactiva utilizada para enjuagar el equipo se puede ser muestreada y analizada como blanco. En esta situación hay

que prestar atención al hecho de que el medio ambiente también se convierte en una fuente potencial de contaminación.

4.1.3 Blanco de Viaje

El blanco de viaje se utiliza para demostrar que las etapas del transporte no son fuentes de contaminación para las muestras. Normalmente se muestrean únicamente para ensayos de compuestos orgánicos volátiles (COVs) e implican llenar los frascos adecuados con agua reactiva en el laboratorio. Estos deberán transportarse junto con los frascos vacíos destinados a las tomas de muestras rutinarias, mantenerse sin manipulación en la caja de transporte durante las operaciones de muestreo y enviarse al laboratorio de análisis en las mismas condiciones que los demás frascos.

Las principales fuentes potenciales de contaminación a evaluar son: frascos y entorno de transporte (caja térmica y vehículo).

4.1.4 Blanco de Frascos

Como se mencionó en los ítems anteriores, los frascos utilizados para muestrear y acondicionar las muestras también representan fuentes potenciales de contaminación y el uso de blancos de frascos es una forma de detectar una posible contaminación de esta fuente.

Los frascos destinados a los ensayos de interés se llenan con agua reactiva, se conservan según las recomendaciones (véase el Apéndice A) y se envían para análisis. Siempre que sea posible, el llenado del frasco debe realizarse en el propio laboratorio para evitar la posibilidad de contaminación durante las etapas de transporte.

El blanco de frascos se utiliza típicamente para ensayos que tienen límites bajos de cuantificación o que tienen alta sensibilidad a posibles materiales y/o sustancias presentes en los frascos de muestreo, incluso si son nuevos, como para el análisis de metales, agroquímicos y ensayos microbiológicos.

En la práctica, algunos ejemplares se seleccionan para este tipo de evaluación después de lavar un cierto número de frascos según un procedimiento específico (lote de frascos).

Por lo tanto, el blanco de frascos se puede utilizar como una forma de determinar si los procedimientos de lavado de frascos son adecuados para un ensayo o grupo de ensayos específico, o incluso para comprobar la posible contaminación de frascos nuevos utilizados sin lavado previo.

4.1.5 Blanco de Jeringa y Filtro

La filtración de muestras en campo es un procedimiento de rutina para analizar fracciones disueltas de algunos analitos. Se debe evaluar el sistema de filtración (jeringa y filtro) para estimar la magnitud de la posible contaminación originada por estos materiales y que pueden agregarse a las muestras durante los procedimientos de filtración.

En el laboratorio de muestreo, el sistema se debe preacondicionar de acuerdo con los procedimientos de rutina (véase el Capítulo 6). Luego, se debe filtrar el volumen necesario de agua reactiva para el ensayo de interés directamente en el frasco adecuado. Luego se debe conservar la muestra (véase el Apéndice A) y enviarla al laboratorio de ensayos.

En general, se recomienda evaluar al menos el 4% del lote de filtros y jeringas.

La siguiente figura (Fig. 4.2) representa una comparación en cascada de fuentes potenciales de contaminación entre diferentes tipos de blanco.

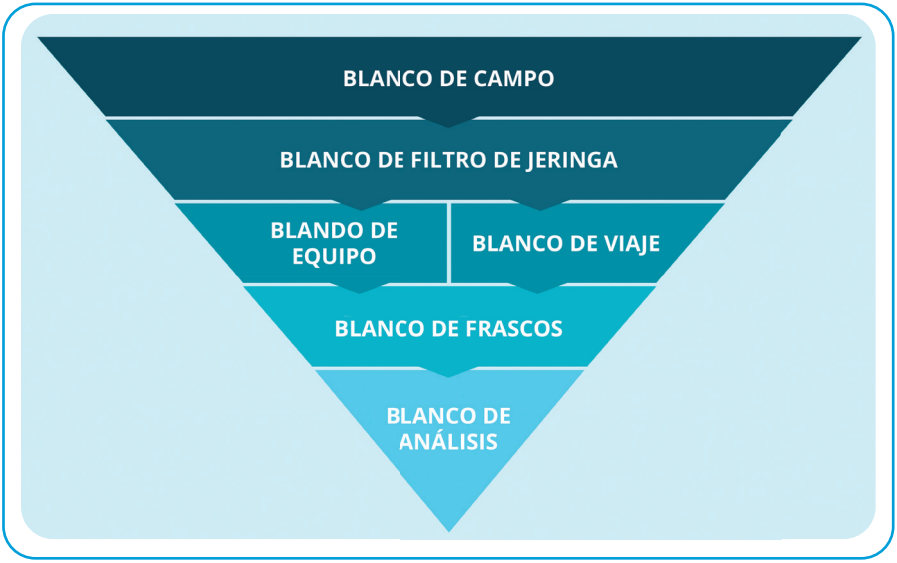


Figura 4.2. Comparación en cascada de posibles fuentes de contaminación englobadas por diferentes tipos de blanco.

Fuente: Renan Lourenço de O. Silva/Banco de Imágenes de CETESB.

4.1.6 Blanco de Agua Reactiva

Aunque el agua reactiva está, por definición, libre de analitos de interés, es importante evaluar su posible contaminación por estos analitos, especialmente cuando el agua se transporta para su uso en lugares de muestreo, como en el caso de los blancos de campo.

En estos casos, se sugiere preparar una muestra de agua reactiva en campo (en el lugar más limpio posible) llenando el frasco adecuado para el ensayo de interés directamente de la fuente de agua (galón, por ejemplo). A continuación, la muestra debe conservarse, si es necesario, y acondicionarse en una caja térmica para su transporte.

Además, se puede preparar un blanco de agua reactiva en el laboratorio para eliminar posibles fuentes de contaminación en el entorno de muestreo y transporte. También se recomienda que el agua reactiva utilizada para todos los tipos de blancos en una misma campaña sea del mismo lote.

4.2 Control de Temperatura de Transporte

Históricamente conocido como "blanco de temperatura", no se considera un blanco como tal ya que no se utiliza para medir una posible contaminación.

Dado que la mayoría de las muestras deben transportarse en medio refrigerado, el control de temperatura es una forma de evaluar si el sistema adoptado fue eficiente para reducir la temperatura de las muestras. Se pueden utilizar cajas térmicas con un termómetro digital acoplado o *dataloggers* debidamente calibrados; sin embargo, el control de temperatura más utilizado consiste en un frasco lleno de agua o glicerina y transportada junto con muestras de rutina. La temperatura de esta "muestra" se mide cuando las muestras se reciben en el laboratorio (Fig. 4.3).



Figura 4.3. Verificación del control de temperatura de transporte en la etapa de recepción de muestras.

Foto: Renan Lourenço de O. Silva/Banco de Imágenes de CETESB.

4.3 Duplicados de Campo

El muestreo de duplicados de campo se utiliza para evaluar la precisión y repetitividad de todo el proceso de muestreo, ya que también incluye la variabilidad de los procedimientos de laboratorio, a través de la comparación de resultados de dos muestras consideradas equivalentes.

La definición de la estrategia de muestreo cambia las fuentes de variabilidad asociadas con el proceso (Fig. 4.4). A continuación, tenemos los dos enfoques principales:

1. Variabilidad derivada del submuestreo + ensayo: toma(s) de muestras (A), según procedimiento rutinario, con distribución del volumen en los distintos frascos destinados a los análisis rutinarios de laboratorio (A1) **y también** en los frascos destinados a duplicados de campo (A2), al mismo tiempo. La comparación entre los resultados obtenidos mediante este procedimiento (A1 y A2) estima la variabilidad total derivada de las etapas de distribución del volumen de muestra en los diferentes frascos, conservación, transporte y demás etapas realizadas en el laboratorio de ensayo.
2. Variabilidad derivada del muestreo + ensayo: tomada(s) de muestra(s), según el procedimiento rutinario, con distribución de volumen en los distintos frascos destinados a los análisis de laboratorio de rutina (B1) y **después** toma(s) de muestra(s), en el menor intervalo de tiempo posible, con volumen distribuido en los frascos destinados a duplicados de campo (B2). La comparación entre los resultados obtenidos mediante este procedimiento (B1 y B2) refleja la variabilidad de todo el proceso de muestreo y ensayo, incluida la variabilidad ambiental.

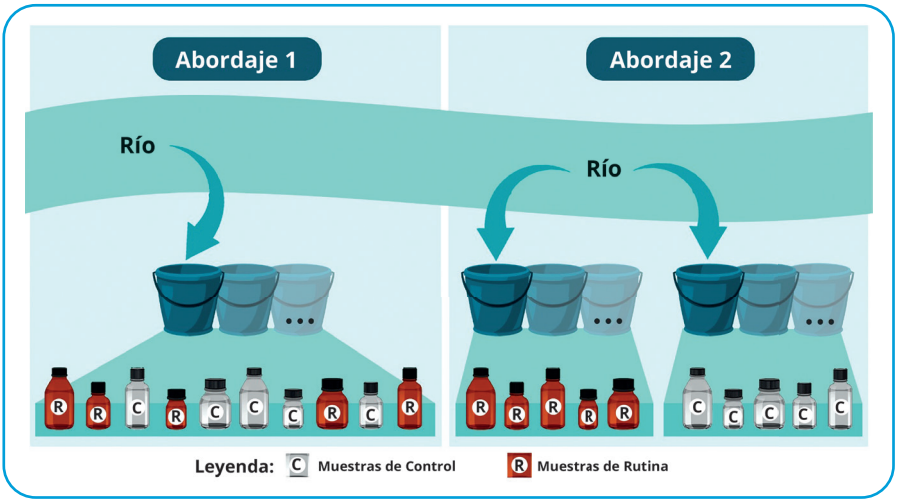


Figura 4.4. Ilustración de diferentes estrategias de muestreo duplicado: Abordaje 1 - Los frascos para muestras de rutina y de control de calidad se llenan a partir de las mismas tomas de muestras; Abordaje 2 - Los frascos para muestras de rutina y de control de calidad son llenados por toma de muestras independientes.

Foto: Renan Lourenço de O. Silva/Banco de imágenes de CETESB.

El resultado de los duplicados se puede evaluar comparando los resultados obtenidos (A1/A2 o B1/B2, por ejemplo) utilizando el cálculo de la diferencia porcentual relativa (DPR) según la siguiente fórmula.

$$DPR = \left| \frac{(A1 - A2)}{\frac{(A1 + A2)}{2}} \right| \text{X } 100$$

Cuando se lee A1 y A2 en la fórmula anterior, se puede entender B1 y B2 tal como se describe en los enfoques 1 y 2.

¡Esté atento!

Para algunos ensayos, como los microbiológicos, los resultados de cada muestra deben transformarse a sus respectivos logaritmos (base 10) antes de usarse en la fórmula.

4.4 Planificación y Evaluación de Muestras de Control de Calidad

La planificación relacionada con la toma de muestras de CQ implica definiciones tales como analitos y/o características de interés, frecuencia de muestreo y criterios de aceptación. Lo ideal sería que las muestras de CQ se analizaran en todas las muestras y para todos los ensayos de interés, pero desde un punto de vista práctico se evalúan según los objetivos de cada proyecto y en base, por ejemplo, a la relevancia del ensayo para la toma de decisiones, sensibilidad del ensayo al manejo de la muestra, límites de cuantificación de los métodos, orden de magnitud de resultados esperados en muestras de rutina, tipos de ambientes donde se realizan muestreos y en resultados históricos de muestras de control de calidad.

Para el **blanco de campo**, donde el objetivo principal es una evaluación de la **posibilidad de contaminación** resultante del medio ambiente a través del aire, la lluvia, el polvo y el humo, por ejemplo, y para el **blanco de equipos**, se pueden seleccionar ensayos o grupos de ensayo con límites de cuantificación bajos que representan diferentes tipos de contaminantes y ensayos de interés (orgánicos, inorgánicos y microbiológicos), que funcionarán como trazadores de diferentes tipos de contaminación. Los ensayos de metales, por ejemplo, se utilizan ampliamente en esta función.

Respecto a los **duplicados de campo**, al estar relacionados con la **precisión y repetitividad de los procedimientos de muestreo** y, dependiendo de la estrategia de muestreo utilizada, están influenciados por la heterogeneidad del ambiente a muestrear, se recomienda seleccionar ensayos o grupos de ensayos que representan diferentes formas de presencia de los analitos y/o características de interés en el medio ambiente, como disueltos o en suspensión, y también las diferentes naturalezas de estos analitos, como físicas, químicas, microbiológicas o hidrobiológicas.

En general, las variables ambientales asociadas a los sólidos no disueltos presentan menor homogeneidad y, en consecuencia, mayor sensibilidad a la ejecución de los procedimientos de muestreo. Por lo tanto, se puede considerar la inclusión de duplicados de campo para ensayos de sólidos totales, sólidos suspendidos y/o turbidez, para evaluar la homogeneización en la etapa de distribución de la muestra en los diferentes frascos y también para ayudar en la interpretación de los resultados de duplicados de otros ensayos.

En cuanto a la frecuencia de ejecución de blancos y duplicados, a excepción del control de temperatura de transporte para el cual existe consenso en que se debe utilizar en todo transporte de muestras que requieran refrigeración, se recomienda que las muestras de control de calidad representen entre un 5 y un 10% del total de muestras.

Este esfuerzo adicional de muestreo y análisis debe utilizarse de manera crítica, considerando los objetivos de cada tipo de control, para que sean relevantes en el proceso de garantizar la calidad de los resultados. En el caso de los blancos realizados en campo, se debe centrar en tomar muestras en ambientes y/o situaciones donde el riesgo de contaminación de la muestra sea mayor, como muestreos en clima lluvioso o ambientes con alta presencia de polvo.

Para duplicados de campo, se sugiere que las tomas de muestras se distribuyan proporcionalmente a la variedad de situaciones de muestreo en la rutina del laboratorio de muestreo, como diversidad de ambientes (lótico, léntico, costero, estuarinos, etc.), estrategias de muestreo (simple, compuesto, superficial, a profundidad, etc.), matrices (agua bruta, aguas residuales, sedimentos, etc.), orden de magnitud de los analitos de interés, etc.

Para evitar cualquier interferencia con los resultados de las muestras, **los resultados de los ensayos de blanco deben estar por debajo de los límites de cuantificación de los métodos.** En términos de toma de decisiones, si los analitos de interés se cuantifican en los blancos, es necesario evaluar las concentraciones de estos analitos

en las muestras ambientales correspondientes, para decidir si deben considerarse válidas.

Los resultados de los cálculos del DPR para la evaluación de duplicados de campo dependen de varios factores, como el analito o característica de interés, orden de magnitud de los resultados de la muestra, técnicas y/o metodologías analíticas, además de la variabilidad que surge de los procedimientos de muestreo y del propio medio ambiente, de modo que no existen criterios universales.

Una serie de documentos nacionales e internacionales, como NIT DICLA-057 (INMETRO, 2009) y AUSTRALIA (2007), indican que resultados de DPR de hasta el 20% son aceptables, sin embargo, se propone realizar una evaluación cuidadosa que tenga en cuenta en cuenta las diferentes características ambientales e incertidumbres de medición de cada ensayo, especialmente los biológicos. Una opción para monitorear estos resultados, que incluye el análisis de tendencias, es la preparación e interpretación de cartas de control.

4.5 Incertidumbre de la Muestra

Como ya se presentó en esta Guía, el muestreo ambiental surge de la necesidad de conocer, por ejemplo, las características y/o composición de un determinado ambiente o parte de él y la imposibilidad de analizar el "**todo**". Así, los procedimientos se planifican cuidadosamente para obtener muestras **representativas**, pero incluso los mejores protocolos pueden no producir muestras perfectamente representativas, en el sentido de que no presentan el mismo promedio que el "todo", ya que la mayoría de los entornos son heterogéneos hasta cierto punto. Esta variación potencial en la composición de una muestra en sí misma da lugar a incertidumbre: incertidumbre de la muestra (THOMPSON, 2008).

El resultado de una medición no puede evaluarse eficazmente sin una declaración de su incertidumbre asociada y, en el caso de la incertidumbre del análisis ambiental, la contribución proveniente de

la etapa de muestreo suele ser mucho mayor que la proveniente de las etapas analíticas propiamente dichas, especialmente para los ensayos químicos de modo general. Por lo tanto, la falta de conocimiento de la incertidumbre del muestreo puede conducir a valores de incertidumbre de medición subestimados y a fallas en la evaluación de los resultados obtenidos para su uso previsto (THOPMSON, 2008; 2009).

En principio, se propusieron y probaron cuatro métodos para estimar la incertidumbre de la medición del muestreo. Estos corresponden a las cuatro posibles combinaciones de números de técnico de muestreo (tomador de muestras) y números de protocolo de muestreo utilizados: tomador de muestras único/protocolo único, tomador de muestras único/protocolos múltiples, varios tomadores de muestras/protocolo único y varios tomadores de muestras/protocolos múltiples (RAMSEY, 1998). Actualmente, los enfoques más utilizados para estimar esta incertidumbre se basan en la evaluación de una serie de muestras duplicadas.

Para calcular la incertidumbre del muestreo con fines ambientales, se recomienda utilizar las instrucciones del *Measurement uncertainty arising from sampling: A guide to methods and approaches* (RAMSEY; ELLISON; ROSTRON, 2019) que, en relación con la primera edición de la publicación de 2007, incorporó resultados de investigaciones recientes e incluso propone métodos con menor costo agregado.



CAPÍTULO 5

EQUIPOS DE MUESTREO

5. EQUIPOS DE MUESTREO

En este capítulo se presentan los distintos tipos de equipos. Las metodologías de muestreo y las peculiaridades se detallan en los capítulos específicos sobre muestreo de aguas superficiales, sedimentos, aguas tratadas, aguas subterráneas, efluentes líquidos y cuerpos de agua receptores.

Los equipos utilizados en los ensayos de campo y mediciones de caudal se tratarán en capítulos específicos.

5.1 Muestreadores de Superficie

Los muestreadores de superficie son aquellos que se utilizan para muestreos desde la lámina del agua hasta 30 cm de profundidad y también para muestreos en tanques, grifos, pozos, etc. Incluso son equipos que se utilizan como apoyo para la realización de algunos ensayos de campo.

Dependiendo de las variables a analizar, los tomadores de muestras de superficie deben ser lisos o pulidos para evitar incrustaciones y pueden ser de plástico inerte, acrílico o acero inoxidable AISI 316L, siendo este último el recomendado en esta Guía por su compatibilidad con la mayoría de los ensayos de interés.

5.1.1 Balde de Acero Inoxidable

El balde que normalmente se utiliza para el muestreo en la superficie de cuerpos de agua en general debe ser de acero inoxidable AISI 316L pulido, para evitar incrustaciones en las costuras de soldadura, corrosión y tener un volumen adecuado para el propósito del muestreo (Fig. 5.1).

En general, debe ser autoclavado para los muestreos microbiológicos (en pozos de agua subterránea y reservorios de agua potable, por ejemplo). En muestreos donde no se requiera la esterilidad del balde, este se podrá ambientar con agua del propio lugar, antes del propio muestreo.



Figura 5.1. Balde de acero inoxidable AISI 316L pulido.
Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de Imágenes de CETESB.

5.1.2 Recolector con Brazo Retráctil o Enroscable

Se utiliza en el muestreo de aguas superficiales, como en salidas de efluentes, en lugares de muestreo de difícil acceso mediante otros equipos. El brazo retráctil o atornillable permite llegar al lugar de muestreo deseado, incluso estando en la margen. Debe ser de acero inoxidable AISI 316L pulido, para evitar incrustaciones en las costuras de soldadura, corrosión y presentar un volumen adecuado para el propósito del muestreo (Fig. 5.2).

Al igual que el balde, también debe ser autoclavado para el muestreo microbiológico (en pozos de agua subterránea y reservorios de agua potable, por ejemplo). En muestreos donde no se requiere esterilidad, el equipo se puede ambientar con agua del propio lugar, antes del muestreo propiamente dicho.



Figura 5.2. Recolector con brazo atornillable: (A) Vista lateral del equipo montado; (B) Vista del recolector y del brazo atornillable desmontado; (C) Vista superior del recolector.

Fotos: Carlos Jesus Brandão/Banco de Imágenes de CETESB.

5.1.3 Batiscafo

Este equipo se utiliza para tomar muestras que no pueden someterse a aireación, como las destinadas a ensayos de oxígeno disuelto y sulfuro, y permite tomar muestras de superficie.

Consta de un tubo cilíndrico, fabricado en acero inoxidable AISI 316L pulido (Fig. 5.3), en cuyo interior se coloca un frasco de vidrio de 300 mL con boca estrecha y tapa esmerilada (frasco tipo DBO). El agua a muestrear ingresa a través de un tubo ubicado en la parte central superior de la tapa y llega al interior del frasco, permitiendo que el aire contenido sea expulsado a través de un orificio lateral a medida que se va llenando

de agua. El volumen del batiscafo permite renovar el agua del interior del frasco de DBO, eliminando así todo el aire que pueda alterar los resultados.

El equipo puede diseñarse para otros volúmenes o diseños de frascos según las necesidades de los ensayos a realizar, como, por ejemplo, la determinación de compuestos orgánicos volátiles (Fig. 5.4).

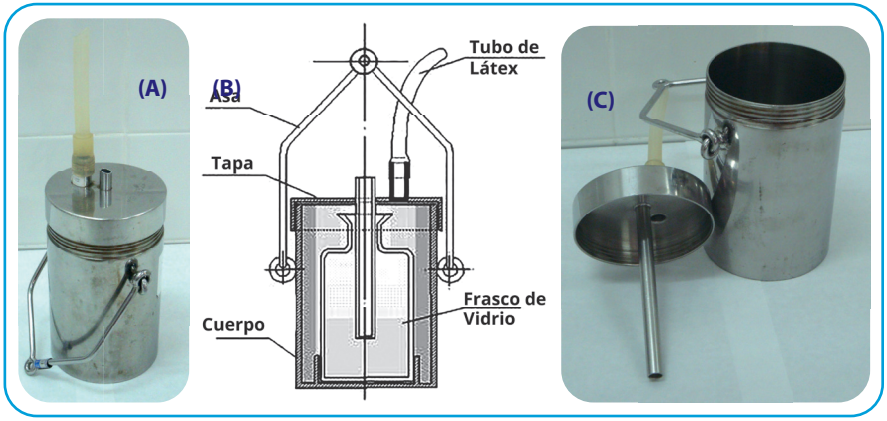


Figura 5.3. Batiscafo: (A) Batiscafo cerrado; (B) Diagrama ilustrativo en corte del equipo; (C) Batiscafo abierto.

Fotos: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB

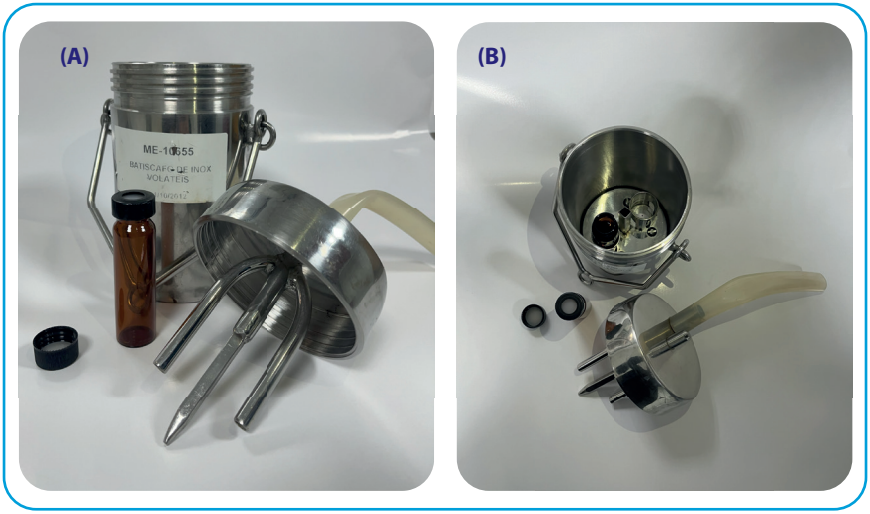


Figura 5.4. Batiscafo para la determinación de compuestos orgánicos volátiles: (A) Vista frontal del Batiscafo abierto; (B) Vista superior del Batiscafo abierto con frasco tipo *Vial* posicionado.

Fotos: Renan Lourenço de O. Silva/Centro de Imágenes de CETESB.

5.2 Muestreadores de Profundidad (columna de agua)

5.2.1 Botella de Profundidad

Este equipo permite tomar muestras en la superficie y a diferentes profundidades. Los tipos más utilizados son los tipos van Dorn y Niskin. No se recomiendan para ensayos que requieren grandes volúmenes de muestra y para el muestreo de organismos con mayor movilidad.

Las botellas pueden fabricarse con tubos cilíndricos de PVC rígido, acrílico o acero inoxidable AISI 316L pulido con diferentes capacidades, por ejemplo 2 L, 6 L y 10 L (Fig. 5.5 y Fig. 5.6).

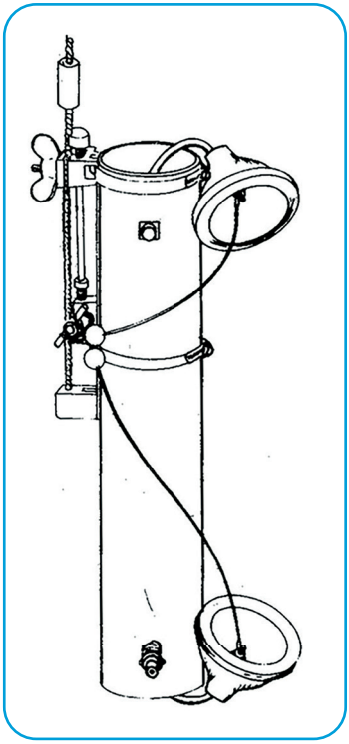


Figura 5.5. Esquema de una botella tipo Van Dorn.
Fuente: CETESB, 1988.



Figura 5.6. Botella tipo Niskin.
Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

La botella abierta se sumerge por ambos extremos y, tras alcanzar la profundidad deseada, se libera el mensajero (Fig. 5.7), que cierra herméticamente el muestreador. Estas botellas se pueden utilizar para muestrear tanto el flujo vertical como el horizontal, dependiendo del sistema de desarme (Fig. 5.8 y 5.9). Para estudios de microdistribución se deben utilizar botellas de flujo horizontal.

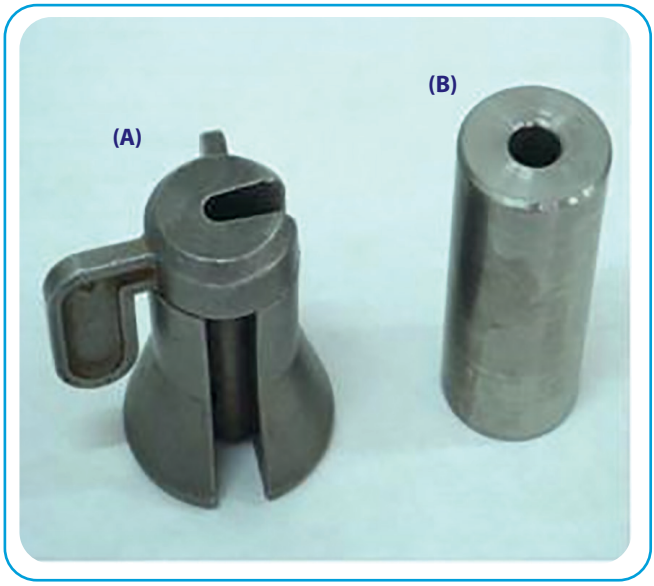


Figura 5.7. Mensajero: (A) Equipos industrializados; (B) Mensajero fabricado.
Fotos: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

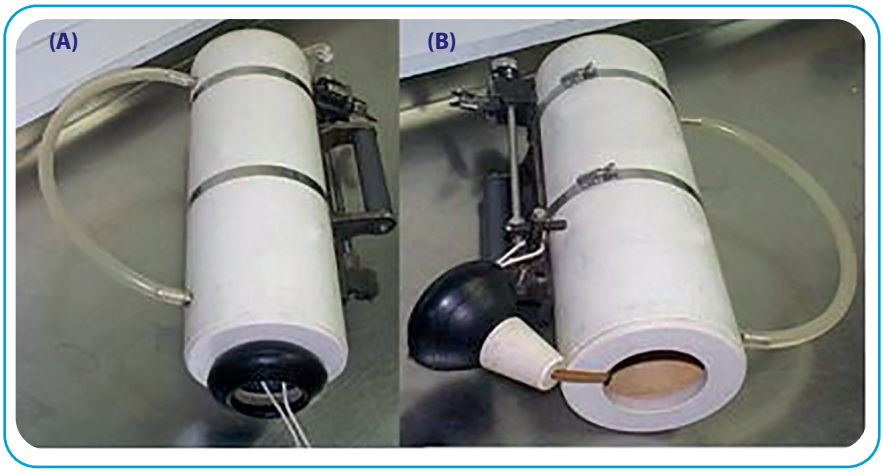


Figura 5.8. Botella tipo Van Dorn de flujo vertical: (A) Botella desmontada; (B) Botella ensamblada.
Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

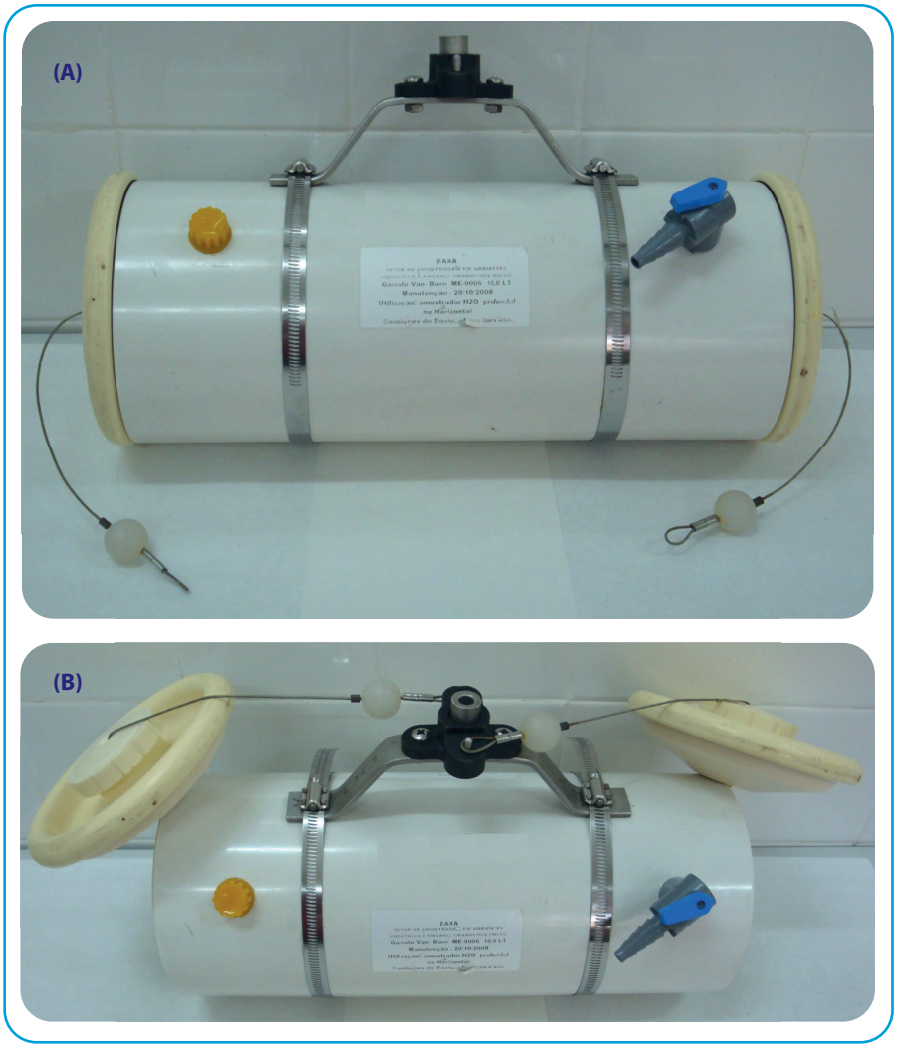


Figura 5.9. Botella tipo Van Dorn de flujo horizontal: (A) Botella desmontada; (B) Botella ensamblada.

Fotos: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

5.2.2 Trampa de Tipo Schindler-Patalas

Se utiliza en estudios cualitativos y cuantitativos de la comunidad planctónica. Fabricado en acrílico transparente (Fig. 5.10), tiene forma de cubo o paralelepípedo y capacidades variables (generalmente entre 5 y 30 L), siendo 30 L la capacidad preferencial, por ser más representativa según APHA, AWWA y WEF (2023). Para estudios cuantitativos, se recomienda identificar las trampas y medir sus volúmenes. Posee una red de nylon en uno de sus costados, de diámetro de poro conocido, a través de la cual se filtra el agua del lugar y se retienen los organismos planctónicos. Puede utilizarse para obtener muestras puntuales o integradas de la columna de agua, se detalla el funcionamiento de este equipo en el Capítulo 6.



Figura 5.10. Trampa tipo Schindler-Patalas.
Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imagens de CETESB.

5.2.3 Bomba de Agua

Tiene la ventaja de obtener grandes volúmenes de agua a diferentes profundidades y es muy utilizada en el muestreo de organismos zooplanctónicos. Para su aplicación, se sumerge una manguera flexible conectada a una bomba de agua a la profundidad deseada, permitiendo que pase mucha agua del lugar.

Los tipos de bombas varían, pero la elección del material de la manguera depende del ensayo de interés (transparente en el caso de muestreo de zooplancton, por ejemplo) y se debe asegurar que la muestra no entre en contacto con partes internas del equipo que podrían ser fuentes potenciales de contaminación. Muchas veces es necesario estimar el volumen bombeado, por lo que es interesante acoplar un hidrómetro u otro medidor que pueda proporcionar esta información.

5.2.4 Redes de Plancton

Existen varios tipos de redes de plancton y, a pesar de mostrar importantes mejoras con el tiempo, todavía se utilizan ampliamente modelos simples (Fig. 5.11).

La red tiene forma de cono y las costuras deben hacerse con cuidado para que los organismos no queden atrapados en los pliegues. En el extremo inferior se encaja un vaso (Fig. 5.12), que puede ser enroscada y tener orificios sellados con malla de nylon adecuada para retener los organismos planctónicos en estudio y reducir la acumulación de agua en el interior del vaso.

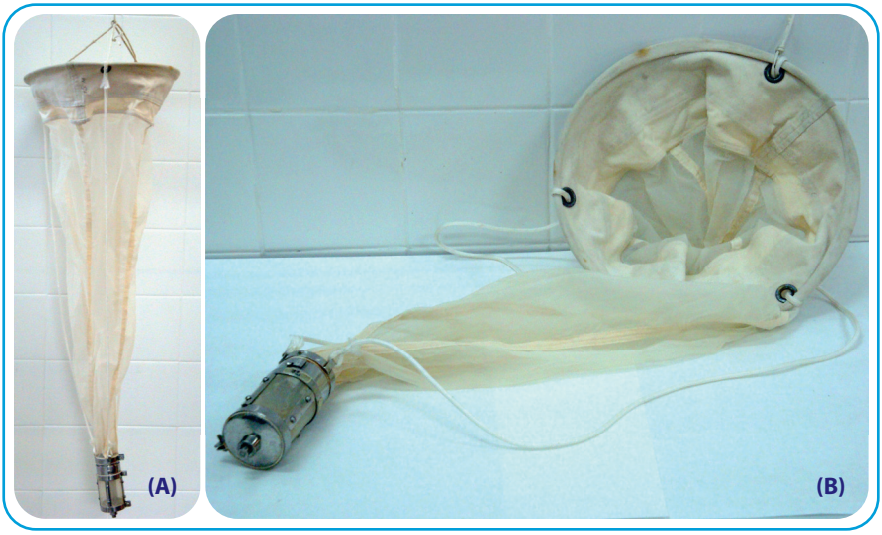


Figura 5.11. Red de plancton: (A) Vista frontal de la red y el vaso recolector; (B) Vista lateral de la red y el vaso recolector.

Fotos: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

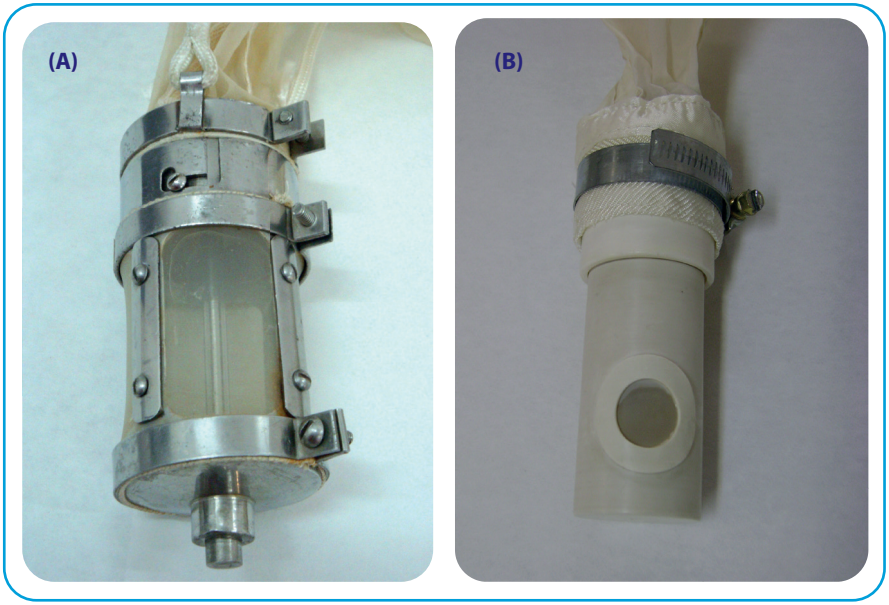


Figura 5.12. Vaso recolector de red de plancton: (A) Acero inoxidable; (B) PVC.

Fotos: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

Las redes más adecuadas son las fabricadas con malla de nylon monofilamento, que no son fácilmente susceptibles a modificaciones y deformaciones. Al extremo superior de la red (borde de la boca de la red) se atan equidistantemente tres cordeles, a los que se ata una cuerda, la cual debe graduarse cuando se quiera conocer la profundidad del arrastre. Las redes pequeñas pueden tener una varilla lateral de tamaño fijo o un brazo retráctil para estudios cualitativos de organismos que viven cerca de las orillas o en la vegetación.

Se deben definir las características de la red (largo, ancho, diámetro de la boca, modelo, diámetro de poro de la malla, etc.) y el tipo de arrastre (horizontal, vertical, oblicuo o estratificado) según el objetivo del estudio y con las características del lugar, especialmente el tamaño de la abertura de la malla, que variará dependiendo de la clase de organismos a evaluar. Cabe recordar que, por muy finas que sean las mallas, la capacidad de la red para retener organismos se limita a una fracción del plancton total, y no muestrea toda la variedad de organismos existentes en la masa de agua.

Para estudios cualitativos, una forma sencilla de muestrear del plancton es sumergir la red en el agua, retirarla y dejar que el agua retenida se escurra a través de la malla.

Para medir cuantitativamente el plancton es necesario conocer el volumen de agua filtrada por la red mediante el uso de una probeta, balde de acero inoxidable AISI 316L pulido o tomadores de muestras, como botellas tipo van Dorn o Niskin, cuidando de medir el equipo antes del muestreo. Para la filtración por arrastre lo ideal es acoplar un caudalímetro calibrado (Fig. 5.13) entre el centro y el borde de la boca de la red, que mide con mayor precisión el volumen de agua que pasa a través de la red. A falta de un caudalímetro, el volumen filtrado por los arrastres se puede estimar utilizando la fórmula presentada en el Capítulo 6.

La red se utiliza ampliamente para estudios cualitativos de fitoplancton y estudios cuantitativos y cualitativos de zooplancton; la

información cuantitativa sobre fitoplancton generalmente se obtiene de muestras tomadas con botellas. Los detalles sobre el muestreo con redes de plancton se pueden encontrar en el Capítulo 6.



Figura 5.13. Caudalímetro: (A) Caudalímetro resaltado; (B) Caudalímetro acoplado a red de plancton

Foto: César Augusto M. Roda/CETESB (A) y José Jorge Neto (B)/Banco de imágenes de CETESB.

5.3 Muestreadores de Fondo

Un buen tomador de muestras de fondo (sedimentos y placas rocosas) debe obtener muestras representativas del lecho, y la elección del equipo más adecuado depende de las características del sustrato, la dinámica del ambiente, el volumen y eficiencia requeridos, y los objetivos del estudio. El conocimiento previo del lugar, la elección del equipo más adecuado y su correcto funcionamiento son fundamentales para un buen trabajo de muestreo. Algunos equipos, por ejemplo, provocan ondas de choque a medida que descienden por la columna de agua, lo que puede perturbar la capa superficial de sedimentos más finos, siendo necesario controlar su velocidad de descenso para evitar este efecto.

El muestreo de sedimentos se puede realizar utilizando tomamuestras o testigos (*core* o *corer*), que deben usarse preferentemente sobre una superficie de soporte (por ejemplo: embarcación o plataforma). En general, los tomamuestras se utilizan en estudios de distribución horizontal de variables físicas, químicas y biológicas, mientras que los testigos son adecuados para estudios de distribución vertical (de perfil) de estas mismas variables en el sedimento. Para el muestreo de macroinvertebrados acuáticos se utilizan redes, delimitadores, sustratos artificiales y muestreadores de succión.

5.3.1 Tomamuestras de Ekman-Birge

Este tipo de muestreador es uno de los más utilizados en embalses, tanto por la facilidad de funcionamiento del equipo como por su eficiencia, y es adecuado para evaluar la contaminación de sedimentos finos en ecosistemas acuáticos. Al ser un equipo muy liviano, no se recomienda para lugares con corrientes moderadas o fuertes y en sustrato duro.

El diseño original fue realizado por Ekman en 1911, posteriormente descrito por Birge en 1922 y modificado por Lenz en 1931 y 1932 (O'SULLIVAN; REYNOLDS, 2004).

El tomamuestras tipo Ekman-Birge (Fig.5.14) consta de una caja, preferentemente de acero inoxidable AISI 316L pulido, donde se fijan dos garras en forma de concha y cuyo mecanismo de cierre funciona mediante el uso de un mensajero. En la parte superior de la caja se insertan dos puertas a través de bisagras que se abren cuando el tomamuestras desciende, para que obtenga velocidad, tenga mejor fijación en el sedimento y evite la formación de ondas de choque. Estas puertas se cierran en la subida, minimizando el lavado de la superficie del sedimento y la extravasación del material muestreado.

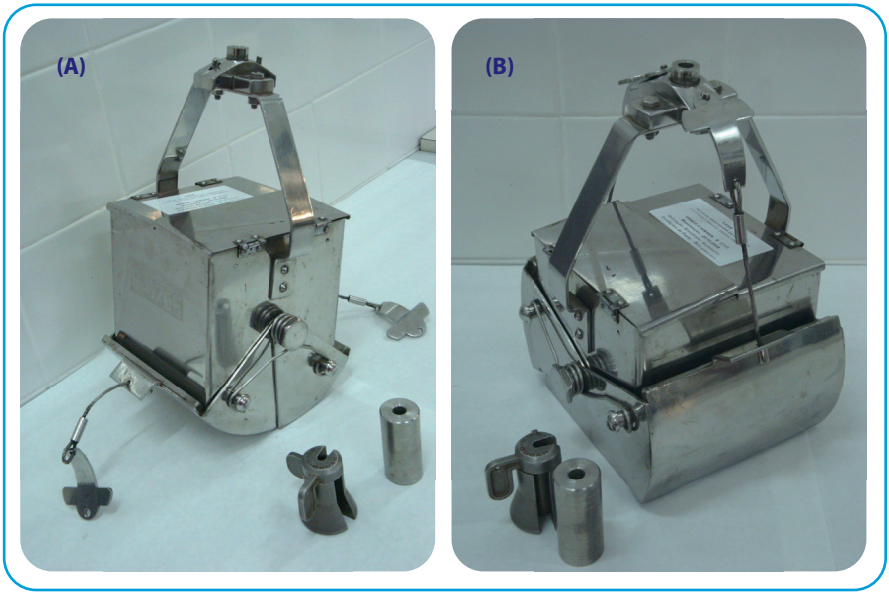


Figura 5.14. Tomamuestras tipo Ekman-Birge (A) Equipo desarmado; (B) Equipo armado.
Fotos: César Augusto M. Roda/Banco de imágenes de CETESB.

El tamaño estándar es de 15 cm de ancho x 15 cm de largo x 15 cm de alto, pero se puede encontrar en versiones más grandes (15 cm x 15 cm x 23 cm, 23 cm x 23 cm x 23 cm y 30 cm x 30 cm x 30 cm). Las versiones con una altura superior a la anchura son aconsejables para muestrear sedimentos muy blandos.

Para armar el tomamuestras, hay que tirar de las garras hacia arriba y enganchar un anillo terminal fijado al cable de acero atado a las garras, en un pasador situado en la parte superior del muestreador. El muestreador deberá sumergirse perpendicularmente a la embarcación (que deberá estar anclada) o a la plataforma fija desde la que se lance. Una vez en el fondo, cuando la cuerda esté perfectamente recta y estirada, lanzar el mensajero mediante la cuerda, lo que activará el mecanismo de desarme, haciendo que las garras se cierren y capturen el sedimento. Hay que tener cuidado con armar el tomamuestras, ya que no hay cierres de seguridad y el cierre se realiza rápidamente.

El tomamuestras tipo Ekman-Birge requiere pesos adicionales para una perfecta penetración en sedimentos más gruesos (arenosos), lugares muy profundos o con corrientes. En lugares con sedimentos finos (limos y arcillas, predominantemente), este tomamuestras tiende a ir demasiado profundo, siendo necesario lanzar el mensajero apenas llega al fondo, para evitar que la muestra se desborde.

La versión modificada por Lenz (Fig. 5.15) permite el fraccionamiento de la muestra de sedimento. Dispone de ranuras horizontales equidistantes en uno de los lados de la caja, donde se encaja verticalmente una placa maciza para evitar la pérdida del material muestreado. Para fraccionar la muestra, se retira esta placa y se insertan horizontalmente en las rendijas laterales otras placas de acero inoxidable (de dimensiones similares a la sección transversal del tomamuestras), con el fin de aislar únicamente la capa de sedimento de interés (el resto se desecha).

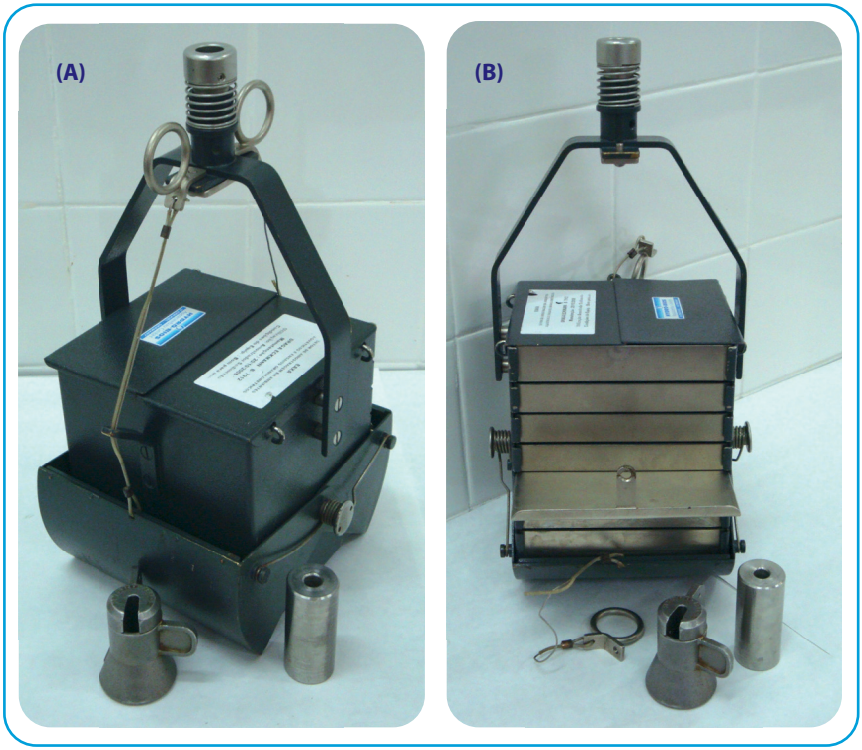


Figura 5.15. Tomamuestras tipo Ekman-Birge, modificado por Lenz: (A) Vista lateral del equipo montado; (B) Vista frontal del equipo cerrado con fraccionador de sedimentos insertado.
Fotos: César Augusto M. Roda/Banco de imágenes de CETESB.

5.3.2 Tomamuestras de Ekman-Birge de Petersen y van Veen

Ampliamente utilizados para el muestreo de sustratos con predominio de arena, grava y arcilla, son capaces de excavar (*morder*) sustratos gruesos debido a su gran peso y sistema de palanca. Dependiendo de la necesidad, como por ejemplo la existencia de una fuerte corriente en el lugar, se puede aumentar el peso del equipo adicionando piezas metálicas.

Están fabricados preferentemente en acero inoxidable AISI 316L pulido y pueden fabricarse en varios tamaños. Generalmente se manejan con un guinche fijado al borde de la embarcación u otro

punto de apoyo. Al no tener bloqueos de seguridad, requieren un manejo cuidadoso.

El tomamuestras de Petersen dispone de un sistema de brazos con pantógrafo que, cuando están tensados, mantienen abierto el contenedor mediante un bloqueo. Cuando el tomamuestras llega al fondo, la tensión desaparece y el bloqueo se libera. El tomamuestras solo se cierra cuando se vuelve a tirar del cable para sacar el tomamuestras del agua, permitiendo que el muestreo del sedimento. En la versión modificada (Fig. 5.16) se cambió la forma de la sección transversal del contenedor, de circular (forma original) a semicircular, y la posición de los brazos.



Figura 5.16. Tomamuestras tipo Petersen modificado.
Foto: César Augusto M. Roda/Banco de imágenes de CETESB.

El tomamuestras van Veen se diferencia del Petersen original porque dispone de un sistema de cierre formado por una cuerda o cadena y un contenedor semicircular (Fig. 5.17). La fijación de los brazos en el borde de las garras proporciona una mayor estabilidad a la hora de bajar y cerrar este tomamuestras, respecto al tomamuestras Petersen original. La presencia de agujeros en la parte superior de la tolva minimiza la formación de ondas de choque al descender, evitando

el lavado de la capa superficial de sedimentos y la eliminación de epifauna, permitiendo una mayor velocidad de operación.

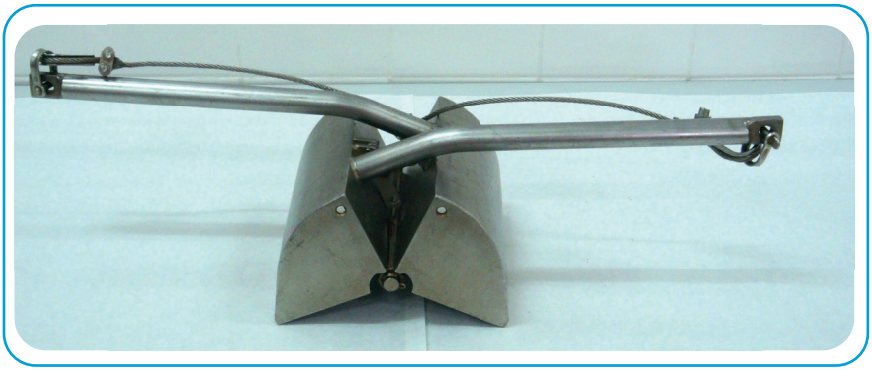


Figura 5.17. Tomamuestras de tipo van Veen.
Foto: César Augusto M. Roda/Banco de imágenes de CETESB.

5.3.3 Tomamuestras Ponar

El tomamuestras Ponar es considerado el mejor equipo para el muestreo cualitativo y cuantitativo de bentos en sustrato grueso (BURTON, 1992), y es el más utilizado, debido a la reducción en la formación de ondas de choque.

Se puede encontrar en dos tamaños: estándar (área de captura aproximada: 0,052 m^2) y pequeño (0,023 m^2) (*petite Ponar*). El primero requiere un guinche durante su operación y se recomienda para ambientes prístinos y con mayor diversidad biológica, y el segundo se recomienda para ambientes contaminados.

Este muestreador cuenta con un pasador de seguridad para su manejo y transporte, y está compuesto por un par de garras que descienden tensionadas mediante un pasador con resorte que se libera cuando el capturador se asienta en el sustrato, desbloqueando el equipo, permitiendo cerrarlo en el inicio del proceso de izamiento. Dispone de placas laterales y una rejilla en la parte superior del contenedor que evitan la pérdida de material durante el cierre. También hay una placa de goma en la rejilla que minimiza la formación de ondas de

choque durante el descenso y evita el lavado y la consiguiente pérdida de material durante el ascenso (Fig. 5.18). Se pueden agregar pesos adicionales al equipo para estabilizar su descenso.

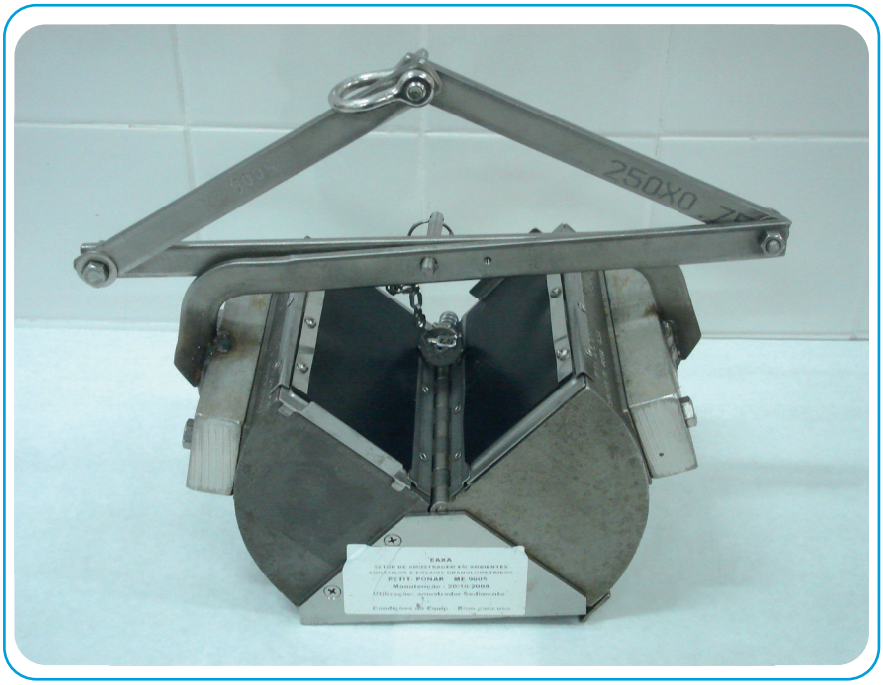


Figura 5.18. Tomamuestras tipo Ponar pequeño.
Foto: Mónica L. Kuhlmann/Banco de imágenes de CETESB.

5.3.4 Muestreador en Tubo (Corer o Testigo)

Adecuado para el muestreo de sedimentos finos en agua dulce, estuarios y mares, a baja y alta profundidad. Se considera el más adecuado para estudios de dinámica y distribución vertical de elementos químicos y biológicos en esta matriz, ya que provoca baja perturbación en el perfil del sedimento muestreado y en la interfaz sedimento-agua. Es más eficaz sobre sustratos compactados, con menor contenido de agua, donde se obtienen muestras íntegras.

Este equipo consta de un cilindro, generalmente fabricado en acero inoxidable AISI 316L pulido, con un tubo recolector interno fabricado en plástico resistente e inerte (ej.: acrílico, politetrafluoroetileno – teflón, cloruro de polivinilo - PVC y polietileno de alta densidad). Puede ser simple o múltiple (tubos acoplados en paralelo); de diámetro y longitud variables; gravitacionales o manuales.

En el modelo Kajak-Brinkhurst (K-B) (Fig. 5.19), está fijada una punta cónica con un borde cortante en el extremo inferior del cilindro de acero, donde se coloca un retenedor con forma de media naranja. El retenedor, fabricado en material flexible, tiene la función de dejar entrar la muestra e impedir su salida. Este modelo se opera con un mensajero, que el técnico lanza cuando siente que el equipo ha penetrado adecuadamente en el sedimento. El mensajero cierra una válvula, generando un vacío parcial dentro del tubo al retirar el muestreador del fondo, lo que ayuda a retener el sedimento. Para que el mensajero funcione correctamente, la cuerda que sujeta al testigo debe estar estirada verticalmente hasta la superficie del agua (KLEMM et al., 1990; MUDROCH; MACKNIGHT, 1994).

Un correcto manejo normalmente requiere de dos técnicos para lograr una perfecta estabilidad del equipo, especialmente en lugares con corrientes y profundidades mayores, y los modelos oceanográficos de mayor tamaño requieren un cabrestante. Pueden formar ondas de choque, que se minimizan reduciendo la velocidad de descenso del equipo, lo que, por otro lado, puede provocar una menor profundidad de penetración. En lugares con corrientes o profundidades, se recomienda que el modelo cuente con aletas (para brindar mayor hidrodinámica) y permita el uso de pesos adicionales (si es posible en el medio del equipo), para evitar que se incline durante su descenso y aumentar la penetración en el sustrato, respectivamente.

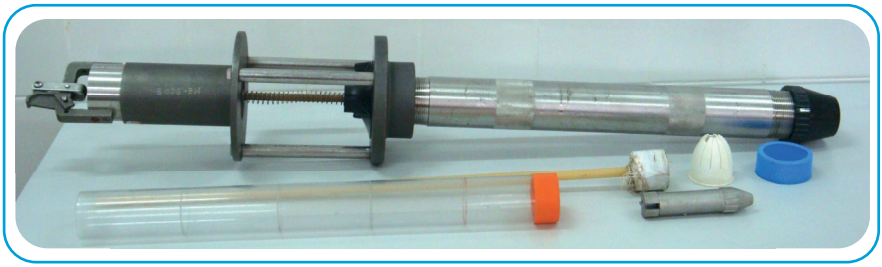


Figura 5.19. Testigo modelo Kajak-Brinkhurst (K-B *corer*).
Foto: CETESB, 1988.

Se puede encontrar más información sobre los métodos de fraccionamiento de muestras tomadas con testigos en Mudroch y Macknight (1994).

Modelos manuales (Fig. 5.20) se utilizan en lugares poco profundos o en la región intermareal (más detalles sobre su uso se pueden encontrar en Rosa Filho et al. (2015). Pueden construirse con un tubo rígido de PVC de diámetro y longitud compatible con el objetivo del estudio. En el extremo inferior normalmente se realizan recortes para facilitar la penetración en el sedimento, y cerca del extremo superior se pueden realizar dos recortes horizontales a través de los cuales se puede fijar una barra para facilitar la manipulación.

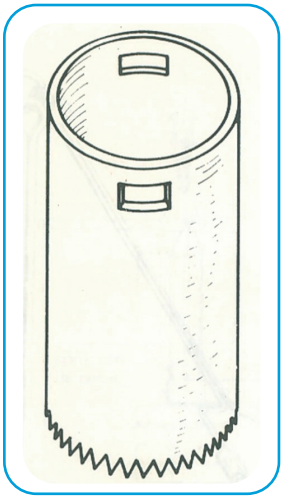


Figura 5.20. Tomamuestras manual.
Fuente: CETESB, 1988.

5.3.5 Draga Rectangular

La draga rectangular es adecuada para el muestreo por arrastre, generalmente en el medio marino. Debido a su tamaño, requiere de un guinche y una embarcación adecuada, y se recomienda para el muestreo de organismos de mayor tamaño, como crustáceos, equinodermos y macroalgas.

Consta de una estructura metálica, de diferentes dimensiones, a la que se fija una red resistente, con mallas de apertura seleccionadas según el material a muestrear (Fig. 5.21). En la parte frontal del marco hay dos varillas que están conectadas a un cable, a través del cual se baja y sube el equipo. El equipo se lanza al agua y se arrastra con la embarcación en movimiento, y se recomienda estandarizar el tiempo o distancia recorrida por el arrastre para comparar los resultados (semicuantitativos).

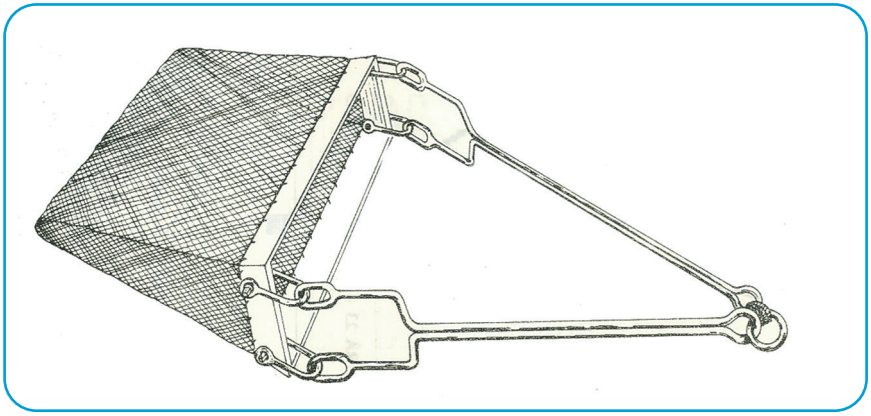


Figura 5.21. Draga rectangular.
Fuente: CETESB, 1988.

5.3.6 Delimitadores

Aunque fueron diseñados para muestreo cuantitativo de bentos y macrófitos , los delimitadores se utilizan más en estudios cualitativos o semicuantitativos de lugares poco profundos en diferentes ambientes (de 30 a 70 cm de profundidad, en agua dulce, estuario y marino), costas

rocosas y manglares, por definir un área de muestreo. En el caso de este equipo, la experiencia del profesional es fundamental para que se realice un buen muestreo.

Consisten en un marco con un área definida al que se puede acoplar una red. Cuanto menor sea la malla de la red, mayor será la resistencia a la corriente, mayor el reflujo y, en consecuencia, mayor la pérdida de material. La malla de 0,25 mm retiene la mayoría de los estadios larvarios de insectos acuáticos, pero las mallas de 0,50 a 0,90 mm se utilizan más comúnmente para evitar el reflujo.

Delimitador tipo Surber (Fig. 5.22) consta de una red que se mantiene abierta mediante un marco cuadrado, perpendicular a otro marco del mismo tamaño. Cuando está en funcionamiento, el marco que soporta la red se encuentra en posición vertical mientras que el marco horizontal, que corresponde al área de muestreo, se presiona manualmente contra el fondo. Es el más utilizado y también el más indicado para muestreos en lugares de difícil acceso, ya que es plegable y más ligero, lo que facilita su transporte en terrenos accidentados.



Figura 5.22. Delimitador tipo Surber.
Foto: Lucy L. Ogura/Banco de imágenes de CETESB.

El Hess-Canton (Fig. 5.23), otro tipo de delimitador, puede montarse sobre tubo de PVC o acrílico, donde se realizan dos aberturas: una debe estar situada aguas arriba, protegida por una rejilla, para no permitir la contaminación por material que venga aguas arriba, y la otra, frente a la primera, contiene una red en forma de bolsa en la que quedan atrapados los organismos. El área interna del tubo corresponde al área de muestreo.



Figura 5.23. Delimitador tipo Hess-Canton.
Foto: Helena M. Watanabe/Banco de imágenes de CETESB.

En los muestreadores tipo Surber y Hess-Canton, la corriente se utiliza como fuerza motriz que impulsa a los organismos desplazados del área delimitada, mediante el raspado con las manos o con palas, hasta el fondo de las redes. A la hora del muestreo, se debe tener cuidado de que no queden espacios en la base del equipo y que no se perturbe el sustrato aguas arriba. Para minimizar la pérdida de organismos, se recomienda acoplar a su base material flexible, como esponjas.

El delimitador de bentos de sustrato consolidado (orillas rocosas) para porcentaje de cobertura consta de un marco rectangular de PVC, que puede ser de 22 cm x 18 cm (con muestreo de un área de 396 cm2), al cual se unen hilos de nylon a intervalos regulares, tanto en la dirección horizontal como en la vertical (Figs. 5.24 y 5.25).

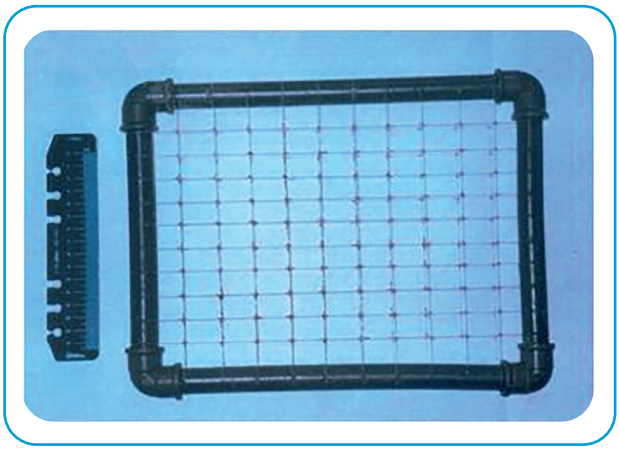


Figura 5.24. Detalle del delimitador para estimar el porcentaje de cobertura de comunidades en la formación rocosa de la margen.
Fuente: LOPES, 1997.

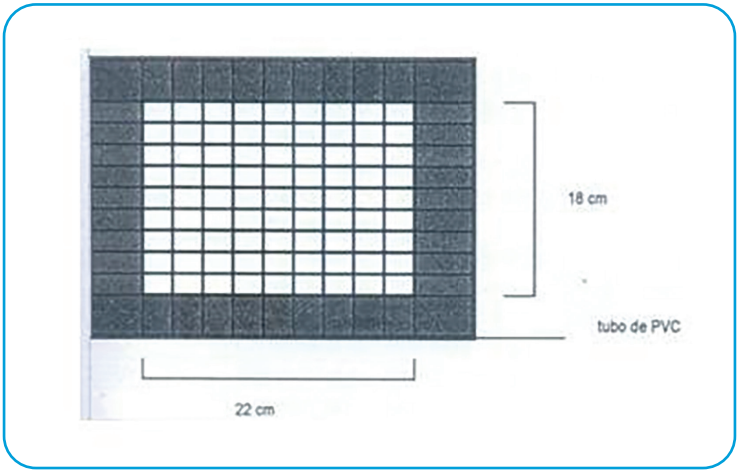


Figura 5.25. Dimensiones del delimitador para estimar el porcentaje de cobertura de comunidades de formación rocosa de la margen.
Fuente: MILANELLI, 2003.

Otro método utilizado para evaluar la cobertura de poblaciones de sustratos consolidadas es el fotográfico. Las fotografías se toman utilizando una cámara con lente de *close-up* (Fig. 5.26) que encuadra, mediante un soporte con un delimitador, un área estandarizada del sustrato.



Figura. 5.26. Cámara fotográfica montada con lente *close-up*, soporte con delimitador de encuadre y flashes.
Foto: Helio Rubens V. Imbimbo /Banco de imágenes de CETESB.

Para determinar la estructura espacial de las comunidades en rocas de la margen, se pueden utilizar varios tipos de muestreadores, cuyas dimensiones están relacionadas con la distribución de los individuos en el sustrato, así como con la presencia de especies menos comunes e incluso raras. La Figura 5.27 muestra un delimitador para este fin elaborado en madera, de 10 cm x 50 cm, dentro del cual corre uno más pequeño, de 10 cm x 10 cm, subdividido en cuadrículas de 1 cm x 1 cm (MILANELLI, 1994). Los delimitadores mencionados anteriormente en las figuras 5.24 y 5.25 también se pueden utilizar para muestrear el porcentaje de cobertura (dimensión 22 cm x 18 cm); la diferencia consiste en el método de muestreo debido a los diferentes propósitos (LOPES, 1997, MILANELLI, 2003).

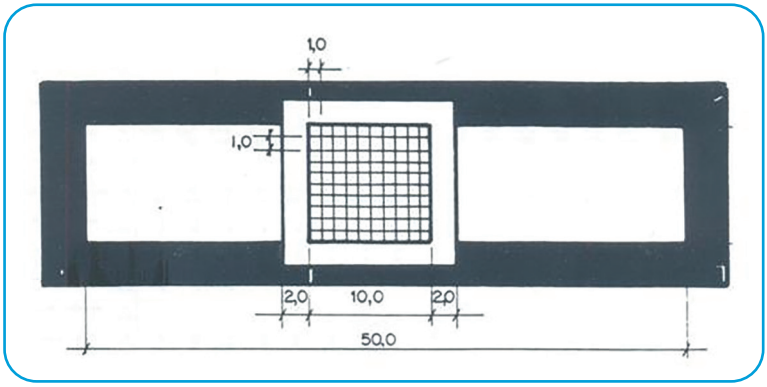


Figura 5.27. Detalle del delimitador para estimar la estructura espacial de las comunidades en la formación rocosa de la margen, indicando sus respectivas dimensiones en centímetros.
Fuente: MILANELLI, 1994.

La determinación de la pendiente de la formación rocosa de la margen se realiza mediante dos reglas. Ambas son de madera, de 200 cm de largo, marcados cada 1 cm, con numeración cada 10 cm. El ancho de la barra es variable, preferentemente unos 5 cm, con un espesor de alrededor de 1 cm, lo que la hace suficientemente resistente y fácil de manipular.

La pendiente y el perfil de la playa se definen mediante un declivímetro, dispositivo desarrollado por CETESB. Consta de tres barras cilíndricas de acero, de 1 metro de largo cada una, y una barra horizontal que corre por dos barras verticales, una de ellas graduada en centímetros (Fig. 5.28).

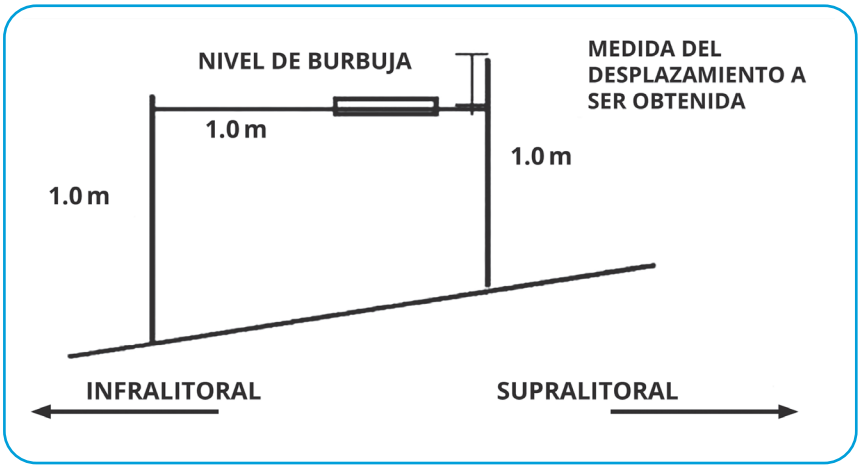


Figura 5.28. Medidor de pendiente de playa.
Fuente: MILANELLI, 2003.

5.3.7 Redes Manuales

Las redes manuales sirven para el muestreo cualitativo o semicuantitativo de la macrofauna bentónica en ambientes poco profundos (lénticos y lóticos), de hasta 70 cm de profundidad, y de fauna asociada a bancos de macrófitos (Fig. 5.29) en agua dulce. En la evaluación semicuantitativa, el esfuerzo de muestreo debe estandarizarse en términos temporales o espaciales. Un método muy utilizado en el biomonitoreo con macroinvertebrados bentónicos en arroyos se llama *kick sampling*. En este método, la red manual, generalmente de forma rectangular, se coloca transversalmente al curso del río, de modo que su apertura esté dirigida hacia la fuente. El técnico muestreador se posiciona frente a la red y literalmente patea el sustrato desde una distancia previamente estandarizada. Con este movimiento, los organismos que colonizan este sustrato serán desalojados y capturados en la red.

Con abertura de forma triangular, rectangular o semicircular (Red D), la red debe tener preferentemente una abertura de malla entre 0,25 y 0,90 mm. Las aberturas más pequeñas causan problemas de reflujo de agua, lo que puede provocar la pérdida de organismos.



Figura 5.29. Red manual.
Foto: José Jorge Neto/Banco de imágenes de CETESB.

5.3.8 Muestreador de Succión

Construido con mangueras acopladas a una bomba de agua o un compresor de aire, funciona succionando o suspendiendo el sustrato, que luego es muestreado con una red (KIKUCHI; FONSECA-GUESSNER; SHIMIZU, 2006). Es utilizable en cualquier tipo de ambiente y puede ser la única opción para muestrear sustratos rocosos de grandes ríos, cuya velocidad de flujo no permite el asentamiento de un sustrato artificial. Además, estandariza el muestreo en ríos con sustratos muy variables o que van a sufrir cambios (por ejemplo, ríos que serán represados). El equipo desarrollado por Kikuchi y colaboradores (2006) requiere de una embarcación de al menos 5 m de eslora con un motor fueraborda, un cabrestante transversal capaz de soportar al menos 50 kg y puntos de sujeción para la manguera y bomba de agua, de tipo autocebante a gasolina, con motor de 3600 rpm. El tiempo de succión sugerido, desde que el equipo se asienta sobre el sustrato, es de 30 segundos.

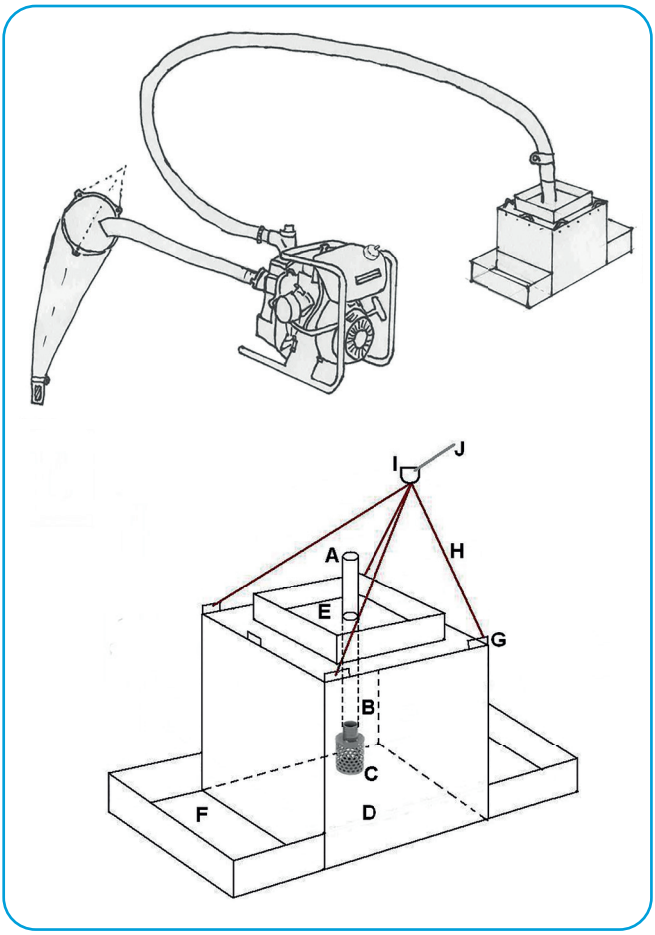


Figura 5.30. Esquema del equipo para muestreo de bentos mediante muestreador de succión: (A y B) Extremos del tubo; (C) Filtro; (D) Parte inferior de la caja; (E y F) Espacio para acoplar lastre; (G) Asa para fijar la cuerda; (H) Cable; (I) Enganche y (J) Cable de acero.
Fuente: KIKUCHI; FONSECA-GUESSNER; SHIMIZU, 2006.

5.4 Sustrato Artificial

Existe una amplia variedad de tipos de sustratos artificiales, desarrollados para diferentes ambientes y objetivos de muestreo. En general, estos muestreadores son adecuados para el muestreo cualitativo y semicuantitativo de fauna de macroinvertebrados y de

perifiton en ambientes lóticos poco profundos o lénticos costeros. El muestreo con sustrato artificial no es destructivo y es adecuado para: (a) estudios de biomonitoreo de la calidad del agua en ambientes de acceso restringido; (b) inventario de fauna en áreas de protección ambiental; (c) actividades de educación ambiental; (d) ayudar en estudios de fauna, además de otras técnicas de muestreo; (e) muestreo en situaciones en las que el uso de otros muestreadores no resulta práctico, como en ríos más profundos, con fondos pedregosos o en losas. En estos casos, las dimensiones del sustrato artificial deben ser compatibles con la profundidad local durante el período seco.

Las principales desventajas en su uso se refieren a: (a) necesidad de dos viajes a campo (instalación y muestreo); (b) susceptibilidad al vandalismo, que conduce a la pérdida o generación deficiente de datos; (c) limitación del historial de datos a la extensión del período de exposición; (d) evaluación de la calidad del agua y no de los sedimentos naturales; (e) necesidad de definir previamente el tiempo de exposición ideal, para que el proceso de colonización alcance una estabilidad, que variará con el tipo de sustrato y ambiente de estudio.

Antes de instalar sustratos artificiales en ecosistemas acuáticos, es necesaria una evaluación previa del entorno para evitar la pérdida del material, especialmente durante la época de lluvias.

Para la comunidad de macroinvertebrados, se deben evitar los estudios con sustratos artificiales durante la temporada de lluvias, ya que las inundaciones pueden aumentar la probabilidad de pérdida de organismos y sustratos, además de provocar perturbaciones en el proceso de colonización.

5.4.1 Cesta con Piedras (Macroinvertebrados)

Las cestas llenas de piedras desarrolladas por CETESB (Fig. 5.31) son rectangulares, fabricadas con material plástico resistente y con una abertura de malla de 1 a 2 cm (KUHLMANN; IMBIMBO; WATANABE, 2003). Disponen de un asa superior para facilitar su manejo, fabricada en tubo fino de PVC. Se rellenan con piedra machacada de un diámetro aproximado de 4 cm y su peso final es, en promedio, entre 7 y 8 kg. La

piedra triturada se adoptó considerando su rugosidad, lo que facilita la colonización y la fácil obtención.

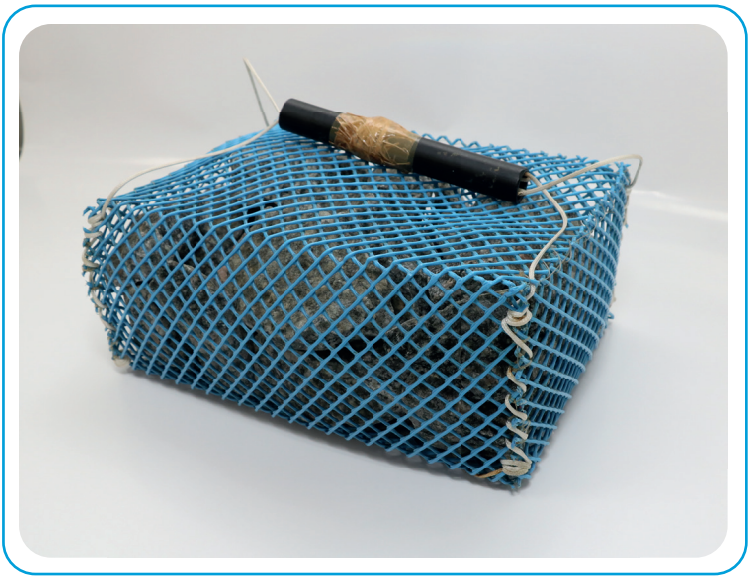


Figura 5.31. Sustrato artificial tipo cesta llena de piedras trituradas.
Foto: José Jorge Neto/Banco de imágenes de CETESB.

Durante la instalación, cada cesta debe estar sujeta por el asa a una cuerda de nylon, fijada a un punto de la orilla por el otro extremo. Se pueden utilizar árboles como punto de fijación o, cuando no se disponga de ellos, estacas de madera. Es importante camuflar (con barro o vegetación, por ejemplo) tanto las estacas como las partes expuestas de la cuerda. Las réplicas de sustrato deben colocarse en diferentes puntos, seleccionados al azar, separados por al menos 2 metros, pero cerca de la orilla. La ubicación de las cestas deberá quedar registrada en un croquis o registro fotográfico del lugar de muestreo para facilitar su rescate.

Como medidas preventivas contra la pérdida de animales debido al lavado por la película de tensión superficial del agua, se puede (a) coser un trozo de malla al fondo y a los lados de la cesta; (b) colocar una red manual debajo de la cesta, antes de sacarla del agua, lavando

el material atrapado en la red en la bolsa plástica donde se coloca la cesta; (c) colocar la cesta directamente en la bolsa de plástico, cuando aún esté bajo la superficie del agua.

5.4.2 Soporte para Láminas (Perifiton)

Existen varias opciones de soportes de sustratos artificiales para estudiar y muestrear el perifiton (Fig. 5.32). Los soportes sostienen láminas de vidrio utilizados en microscopía común, que se fijan a ranuras en las placas laterales de acrílico o madera. Los soportes que contengan los sustratos artificiales deberán permanecer sumergidos durante el período de estudio. Se recomienda posicionar los sustratos entre 10 y 20 cm de profundidad para evitar la fotoinhibición e interferencias del ambiente externo (por ejemplo, acción de insectos, aves, entre otros factores). En función de los objetivos del estudio, los soportes que contienen los sustratos pueden quedar fijos o libres mediante una llana.



Figura 5.32. Soportes con láminas: (A) Esquema que muestra un soporte para láminas de vidrio; (B) Soporte acrílico que contiene láminas de vidrio colonizado; (C) Estructura fija que contiene soporte de madera con láminas de vidrio para colonización; (D) Sustrato de acrílico sumergido con 35 días de colonización fijado en un tubo de PVC; (E) Estructura de madera con flotadores con láminas de vidrio para colonización; (F) Soporte de madera con láminas de vidrio colonizadas.
Fotos: Laboratorio de Ecología Acuática/IPA/Banco de imágenes de CETESB.

La ubicación de los sustratos artificiales debe georreferenciarse, anotando puntos de referencia y coordenadas geográficas para facilitar su recuperación. Es aconsejable instalar los flotadores en lugares menos frecuentados, protegidos y sin sombra, para evitar pérdidas por manipulación por parte de extraños y/o robo.

Existen soportes de diferentes modelos, como tubos de vidrio en lugar de láminas. Los perifitómetros, por ejemplo, se pueden adquirir en algunas tiendas especializadas en material y equipos para estudios limnológicos y se pueden utilizar en lagos y embalses o en ríos/arroyos.

5.5 Sustrato Natural Consolidado (Rocas)

Perifitómetro con Cepillo

Los perifitómetros con cepillos se utilizan para muestrear perifiton en sustratos naturales consolidados (rocas) y pueden usarse para muestreos en ríos y arroyos poco profundos, en rocas que no se pueden remover. El perifitómetro de cepillo adaptado de VIS (1997) por la CETESB (Fig. 5.33) consta de un tubo acrílico al que se le acoplan un cepillo y una pera de succión. El cepillo está sujeto a la parte superior del equipo mediante una pieza de goma flexible, que permite moverlo en todas direcciones mediante un cable externo. Un orificio permite el paso de una manguera de goma, a la que se acopla una pera de succión. En el otro lado del tubo, se utiliza una manguera más delgada para transferir la muestra del equipo al frasco de muestreo.



Figura 5.33. Perifitómetro con cepillo (VIS, 1997 - Modificado).
Foto: Rita Cerqueira Ribeiro de Souza.

En la parte inferior del equipo, que está abierta, una goma de diámetro de medida conocida permite colocar el equipo contra el sustrato a muestrear, permitiendo una medida cuantitativa, relativa al área del muestreador, de los organismos muestreados.

La Tabla 5.1 enumera los muestreadores de sustrato contenidos en este capítulo, presentando las principales ventajas y desventajas de las aplicaciones de sus usos.

EQUIPOS	AMBIENTE	USAR
TOMAMUESTRAS		
Ponar	• marino y estuarino. • agua dulce – ríos profundos y riberas de embalses.	• sobre sustrato grueso y duro (arenoso a rocoso). • para ensayos químicos, toxicológicos, microbiológicos y de comunidades bentónicas. • la versión más grande (523 cm2) es más adecuada para ambientes marinos, estuarinos y prístinos de agua dulce; la más pequeña (232 cm^2) para lugares de agua dulce contaminados. • sirve para el muestreo cuantitativo y cualitativo de la comunidad bentónica.
Petersen o van Veen modificado	• marino y estuarino. • agua dulce – ríos profundos y riberas de embalses.	• sobre sustrato grueso y duro (arenoso a rocoso). • para ensayos químicos, toxicológicos, microbiológicos y de comunidades bentónicas. • la versión más grande (588 y 1000 cm^2) es más adecuada para ambientes marinos y estuarinos; la más pequeña (390 cm^2) para lugares de agua dulce contaminados. • sirve para el muestreo cuantitativo y cualitativo de la comunidad bentónica.

VENTAJAS:	DESVENTAJAS:
TOMAMUESTRAS	
• viene en varios tamaños. • es considerado el mejor muestreador cuantitativo sobre sustrato duro para la comunidad bentónica. • las placas laterales y las rejillas evitan la pérdida de muestra durante el cierre y reducen la formación de ondas de choque. • tiene pasador de seguridad.	• la muestra obtenida no es tan íntegra como en el muestreo con testigos (*corer*). • la versión más grande es pesada y requiere un cabrestante. • no es muy adecuado para su uso en sustratos blandos, ya que puede haber pérdida de partículas finas debido a las ondas de choque y no captura adecuadamente los organismos que se encuentran enterrados a mayor profundidad. • sus garras pueden bloquearse con piedras, ramas u otros desechos, lo que provoca la pérdida de muestra. • Es posible que la muestra esté contaminada por metales que puedan formar parte de la estructura del tomamuestras (verificar el material utilizado para fabricar el equipo).
• viene en varios tamaños. • captura gran volumen de sedimento.	• la muestra obtenida no es tan íntegra como en el muestreo con testigos (*corer*). • las versiones mediana y más grande son pesadas y requieren un guinche. • no es muy adecuado para su uso en sustratos blandos, lo que provoca la pérdida de partículas finas debido a las ondas de choque y de organismos que quedan enterrados a mayor profundidad • sus garras a menudo quedan bloqueadas por piedras, ramas u otros desechos, lo que provoca la pérdida de muestras. • Es posible que la muestra esté contaminada por metales que puedan formar parte de la estructura del tomamuestras (verificar el material utilizado para fabricar el equipo).

EQUIPOS	AMBIENTE	USAR
TOMAMUESTRAS		
Ekman-Birge	• estuarino. • agua dulce – región profunda de embalses y regiones de corriente débil en los ríos.	• en sustrato fino y blando (arenoso fino a arcilloso). • para ensayos químicas, toxicológicas, microbiológicas y de comunidades bentónicas. • sirve para el muestreo cuantitativo y cualitativo de la comunidad bentónica. • la modificación de Lenz permite la estratificación y estudios a lo largo del perfil vertical del sedimento.
MUESTREADOR DE TUBO (TESTIGO O *CORER*)		
Simple o múltiple	• marino y estuarino. • agua dulce – ríos profundos y región de profunda de embalses.	• en sustrato fino y blando (arenoso fino a arcilloso). • para ensayos químicas, toxicológicas, microbiológicas y de comunidades bentónicas. • la versión más grande (45,6 cm^2) es más adecuada para ambientes marinos y estuarinos; la más pequeña (20,3 cm^2) para lugares de agua dulce contaminados. • sirve para el muestreo cuantitativo y cualitativo de la comunidad bentónica.

VENTAJAS:	DESVENTAJAS:
TOMAMUESTRAS	
• es ligero y fácil de operar. • reduce las ondas de choque debido a la existencia de placas que se abren en la parte superior. • la muestra se obtiene casi íntegra, lo que permite el submuestreo.	• la muestra obtenida no es tan íntegra como en el muestreo con testigos (*corer*). • es demasiado liviano para usarlo en sustratos duros o en corrientes moderadas o fuertes. • sus garras muchas veces no cierran del todo debido a una falla en el mecanismo. • Es posible que la muestra esté contaminada por metales que puedan formar parte de la estructura del tomamuestras (verificar el material utilizado para fabricar el equipo). • es posible perder material fino a medida que se eleva el muestreador.
MUESTREADOR DE TUBO (TESTIGO O *CORER*)	
• La muestra se obtiene íntegra, permitiendo la estratificación y estudios a lo largo del perfil vertical del sedimento. • la alteración de la interfaz sedimento-agua es mínima. • Es adecuado para muestrear organismos que se entierran profundamente en sedimentos blandos. • el pequeño tamaño de la muestra permite una mayor cantidad de réplicas, lo que reduce el tiempo de ensayo. • hay varios modelos (por ejemplo: cierre por gravedad o mensajero), diámetros y longitudes. • pueden contar con válvulas de funcionamiento automático que evitan la pérdida de muestra. • bajo riesgo de contaminación de la muestra por metales que puedan formar la estructura del tomamuestras, debido al uso de material inerte en la fabricación de tubos extraíbles.	• l aquellos que funcionan por gravedad pueden presentar problemas de funcionamiento y provocar pérdida de muestra. • el área de muestreo es limitada, lo que requiere repetir la operación y retirar los tubos. • debido a la pequeña área de muestreo, no permite estimar con precisión la biomasa bentónica y la densidad de población de organismos bentónicos más grandes. • no retiene arena. • muchos modelos requieren una embarcación y un guinche para su funcionamiento. • se debe tener cuidado en el manejo para evitar pérdida de sedimento al retirar la muestra.

EQUIPOS	AMBIENTE	USAR
TOMAMUESTRAS		
Manual	• marino, estuarino y de agua dulce poco profundos.	• en sustrato fino y blando (arenoso fino a arcilloso). • para ensayos químicos, toxicológicos, microbiológicos y de comunidades bentónicas. • sirve para el muestreo cuantitativo y cualitativo de la comunidad bentónica.
REDES Y DELIMITADORES		
Red para *kick sampling*	• arroyos poco profundos (profundidad inferior a 32cm) con corriente moderada.	• sustrato grueso y duro (arena gruesa, grava y guijarros). • para ensayos en comunidades bentónicas. • sirve para el muestreo semicuantitativo y cualitativo de la comunidad bentónica.
Hess	• arroyos poco profundos (profundidad inferior a 32cm) con corriente moderada.	• sustrato grueso y duro (arena gruesa, grava y guijarros). • para ensayos en comunidades bentónicas. • sirve para el muestreo cuantitativo y cualitativo de la comunidad bentónica.

VENTAJAS:	DESVENTAJAS:
TOMAMUESTRAS	
• la muestra se obtiene íntegra, permitiendo la estratificación y estudios a lo largo del perfil vertical del sedimento. • la alteración de la interfaz sedimento-agua es mínima. • Es adecuado para muestrear organismos que se entierran profundamente en sedimentos blandos. • el pequeño tamaño de la muestra permite una mayor cantidad de réplicas, lo que reduce el tiempo de ensayo. • hay de varios diámetros y longitudes. • bajo riesgo de contaminación de la muestra por metales que puedan formar la estructura del tomamuestras, debido al uso de material inerte en la fabricación de tubos extraíbles.	• el área de muestreo es limitada, lo que requiere repetir la operación y retirar los tubos. • debido a la pequeña área de muestreo, no permite estimar con precisión la biomasa bentónica y la densidad de población de organismos bentónicos más grandes. • no retiene arena. • se debe tener cuidado en el manejo para evitar pérdida de sedimento al retirar la muestra.
REDES Y DELIMITADORES	
• la muestra es fácil para el procesamiento analítico. • es fácil de construir y operar. • equipos de bajo costo. • se puede utilizar en bancos de macrófitos.	• requiere experiencia por parte del recolector, quien debe ser capaz de reconocer los diferentes mesohábitats del lugar.
• la muestra de una unidad de área definida y completamente cercada, lo que evita la pérdida lateral de organismos. • la muestra es fácil para el procesamiento analítico. • es fácil de construir y operar. • equipos de bajo costo.	• de difícil colocación sobre algunos sustratos, lo que puede resultar en pérdida de organismos por la parte inferior del equipo. Las adaptaciones de espuma en la base del equipo mejoran su adherencia al fondo, minimizando esta pérdida. • no se puede utilizar eficientemente en corrientes suaves. • requiere experiencia por parte del recolector, quien debe ser capaz de reconocer los diferentes mesohábitats del lugar. • es pesado y voluminoso, lo que dificulta su transporte, especialmente en senderos.

EQUIPOS	AMBIENTE	USAR
TOMAMUESTRAS		
Surber	• arroyos poco profundos (profundidad inferior a 32cm) con corriente moderada.	• sustrato grueso y duro (arena gruesa, grava y guijarros). • para ensayos en comunidades bentónicas. • sirve para el muestreo cuantitativo y cualitativo de la comunidad bentónica.
MUESTREADOR DE SUCCIÓN		
Muestreador de Succión	• marino y estuarino. • agua dulce – ríos y embalses.	• todo tipo de sustrato. • sirve para el muestreo cualitativo y cuantitativo de la comunidad bentónica. • a cualquier profundidad.
SUSTRATO ARTIFICIAL		
Cesta con piedras	• ríos, arroyos y riberas de reservorios.	• sobre sustrato grueso y duro (arenoso a rocoso). • para ensayos de comunidades bentónicas (muestreo semicuantitativo y cualitativo).

VENTAJAS:	DESVENTAJAS:
TOMAMUESTRAS	
• muestra de unidad de área definida. • la muestra es fácil para el procesamiento analítico. • es fácil de construir y operar. • equipos de bajo costo.	• de difícil colocación sobre algunos sustratos, lo que puede resultar en pérdida de organismos por la parte inferior del equipo. Las adaptaciones de espuma en la base del equipo mejoran su adherencia al fondo, minimizando esta pérdida. • puede ocurrir pérdida de organismos por el costado de la red, debido a que el área de muestreo no está completamente cercada. • no se puede utilizar eficientemente en corrientes suaves. • requiere experiencia por parte del recolector, quien debe ser capaz de reconocer los diferentes mesohábitats del lugar.
MUESTREADOR DE SUCCIÓN	
• permite realizar muestreos en ríos profundos y caudalosos con fondos rocosos o mixtos. • fácil operación. • eficiente. • estandariza el muestreo en estudios de entornos de fondo heterogéneos o cambiantes. • reduce el tiempo de trabajo del laboratorio al lavar la muestra en campo.	• requiere pesos adicionales en ambientes más profundos con fuertes corrientes. • requiere adaptación de la embarcación, con la inserción de puntos de fijación para la bomba, manguera y cabrestante. • la manguera puede ocupar mucho espacio en la embarcación, ya que su tamaño debe adaptarse a la profundidad del entorno. • equipo no encontrado en el mercado, requiriendo un equipo técnico especializado para su desarrollo.
SUSTRATO ARTIFICIAL	
• estandariza el sustrato de muestreo. • permite el muestreo en lugares demasiado duros para uso de otros muestreadores. • la muestra es fácil para el procesamiento analítico. • es fácil de construir y operar. • equipos de bajo costo.	• el tiempo de colonización de los organismos es espacial y temporalmente variable. Por ello, se requiere de un estudio previo del tiempo de colonización de organismos para cada ambiente en el que se utiliza el equipo. • requiere dos viajes a campo (instalación y remoción). • solo refleja las condiciones ambientales durante el período de colonización. • es selectivo para algunos organismos, favoreciendo el muestreo de insectos. En consecuencia, no representa la estructura de la comunidad bentónica del lugar de muestreo. • las muestras a menudo se pierden debido al vandalismo o inundaciones en el lugar.

EQUIPOS	AMBIENTE	USAR
TOMAMUESTRAS		
Flotador con láminas	• ríos, arroyos y riberas de reservorios.	
SUSTRATO NATURAL		
Perifitómetro	• agua dulce – ríos poco profundos con rocas.	• sobre sustrato consolidado. • sirve para el muestreo cuantitativo y cualitativo de la comunidad perifítica.

Tabla 5.1. Principales características de algunos muestreadores de sedimentos, comunidades bentónicas y perifíticas.

VENTAJAS:	DESVENTAJAS:
TOMAMUESTRAS	
• estandariza el sustrato de muestreo. • la muestra es fácil para el procesamiento analítico. • es fácil de construir y operar. • es un equipo de bajo costo.	• el tiempo de colonización de los organismos es espacial y temporalmente variable. Por ello, se requiere de un estudio previo del tiempo de colonización de organismos para cada ambiente en el que se utiliza el equipo. • requiere dos viajes a campo (instalación y remoción). • solo refleja las condiciones ambientales durante el período de colonización. • es selectivo para algunos organismos y favorece el estudio de las diatomeas. En consecuencia, no representa la estructura comunitaria perifítica del lugar de muestreo. • las muestras a menudo se pierden debido al vandalismo o inundaciones en el lugar.
SUSTRATO NATURAL	
• permite la estandarización del área de muestreo. • es fácil de manipular. • es un equipo fácil de fabricar y de costo relativamente bajo.	• su uso se limita a determinados hábitats: ríos poco profundos, con rocas. • requiere especial cuidado en la limpieza del cepillo, gomas y mangueras antes de utilizarlos entre diferentes lugares de muestreo. • no hay estandarización de superficie de sustrato.

5.6 Muestreadores de Necton

Existe una variedad muy amplia de muestreadores de necton para fines científicos (estudios comunitarios, taxonomía, bioacumulación, etc.) y la elección del equipo depende de varios factores, como, por ejemplo: características del entorno (río, embalse, etc.), objetivos del estudio, estructura de la comunidad de necton del lugar y época del año. Se trata de un muestreo que involucra a varios técnicos y generalmente se extiende a lo largo de muchos días, lo que hace necesaria una planificación detallada, considerando la disponibilidad de personal, recursos materiales y económicos. De esta forma, antes de definir los procedimientos de muestreo de necton, que están compuestos principalmente por peces, es necesario consultar el Capítulo 6.

Los muestreadores de necton pueden ser pasivos o activos. Los muestreadores pasivos son fijos o estacionarios, como anzuelos, palangres, trampas, redes de enmalle, etc. Los muestreadores activos son móviles, como las redes de deriva (redes arrojadizas), y de arrastre y atarrayas. La captura con muestreadores pasivos depende del movimiento del pez en relación al dispositivo, mientras que con muestreadores activos, los peces se capturan en función del movimiento del muestreador. Los muestreadores como anzuelos, palangres y trampas dependen no solo del movimiento sino también del comportamiento de los peces en relación con el cebo o carnada utilizados. Cuando se utilizan redes, la elección del tamaño de malla (apertura entre nodos) dependerá de los organismos y entornos a los que están destinadas.

Se pueden utilizar otros recursos para tomar muestras ictiológicas científicas, como: drogas (como el timbó), arpones y aparatos para la pesca eléctrica. A continuación, se enumeran algunos de los equipos más utilizados en la pesca científica para muestrear la comunidad de necton. Es importante destacar la necesidad de cumplir con la legislación específica vigente que regula esta actividad.

5.6.1 Equipos de Pesca Pasivos

5.6.1.1 Red de Espera

La red de espera sin uso de carnada se usa ampliamente para el muestreo de peces, se puede usar en diferentes ambientes y su disposición en la masa líquida es en el plano vertical. También conocida como red de *poita* se puede instalar en la superficie, en el medio y en el fondo. Consiste básicamente en una malla rectangular, de longitud y altura variables, unida a una cuerda superior sobre la que se disponen las boyas a intervalos regulares (boyas de cuerda) (Figs. 5.34, 5.35 y 5.36). En la parte inferior hay una cuerda con pesos a intervalos regulares (plomos de cuerda). En la red de superficie, las boyas de cuerda deben tener suficiente poder de flotación para soportar el peso de la rejilla y de los plomos de cuerda (lastre ligero) y la red debe estar sujeta a una boya fondeada o en la orilla.

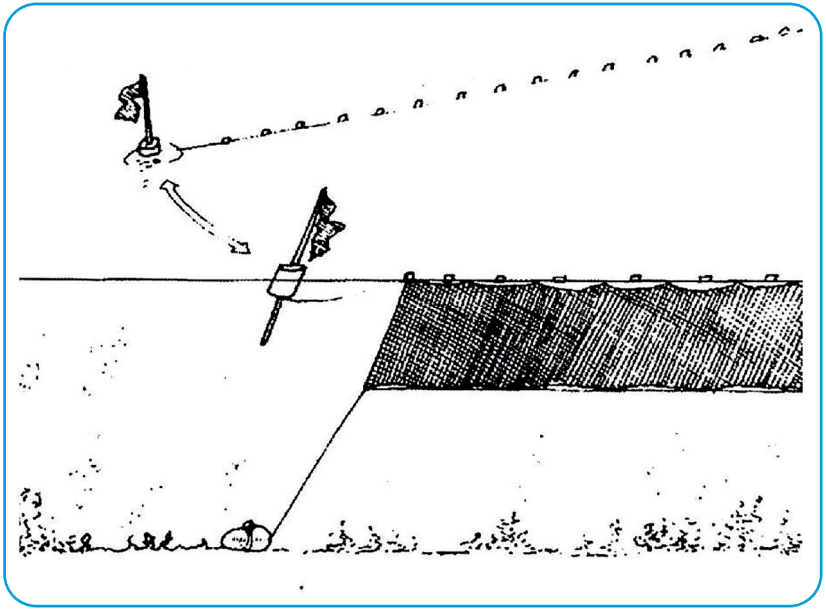


Figura 5.34. Red de espera de superficie.
Fuente: CETESB, 1988.



Figura 5.35. Red de espera armada.

Foto: Adriana C.C.R. de Deus/Banco de imágenes de CETESB.



Figura 5.36. Retirada de la red de espera.

Foto: Adriana C.C.R. de Deus/Banco de imágenes de CETESB.

Las variaciones de peso y en los plomos de cuerda permiten colocar la red en el medio de la columna de agua o anclarla al fondo. Así, la red de espera de fondo (Fig. 5.37) deben tener pesos mayores y boyas más pequeñas. Los extremos de los cables de la boya y la red se fijan a la orilla o a una boya demarcada en la superficie del agua, mediante un cable lo suficientemente fuerte como para permitir retirar la red. También existen redes de espera con dos o más rejillas diferentes superpuestas entre sí, unidas a un solo cordel de boyas y plomos, como la red *hechicera* (o de trasmallo).

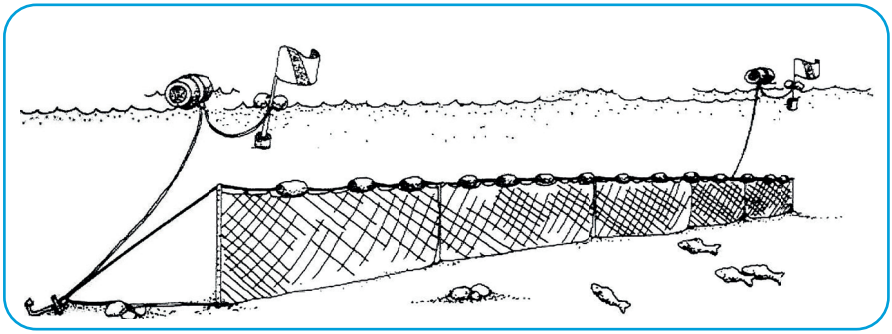


Figura 5.37. Red de espera anclada en el fondo.
Fuente: *American Fisheries Society* – Esquema utilizado con permiso/Banco de imágenes de CETESB.

5.6.1.2 Palangre

Existe una gran variedad de palangres y, básicamente, constan de un hilo principal a lo largo de la cual se aplican hilos secundarios con anzuelos. El número de hilos secundarios y el tipo de anzuelo dependerá de la especie de pez a capturar. El palangre de superficie dispone de boyas a lo largo del hilo principal, con sus extremos sujetos a boyas separadas y ancladas o sujetas a troncos, piedras o cualquier otro soporte; el palangre de fondo no tiene boyas a lo largo del hilo principal (Fig. 5.38).

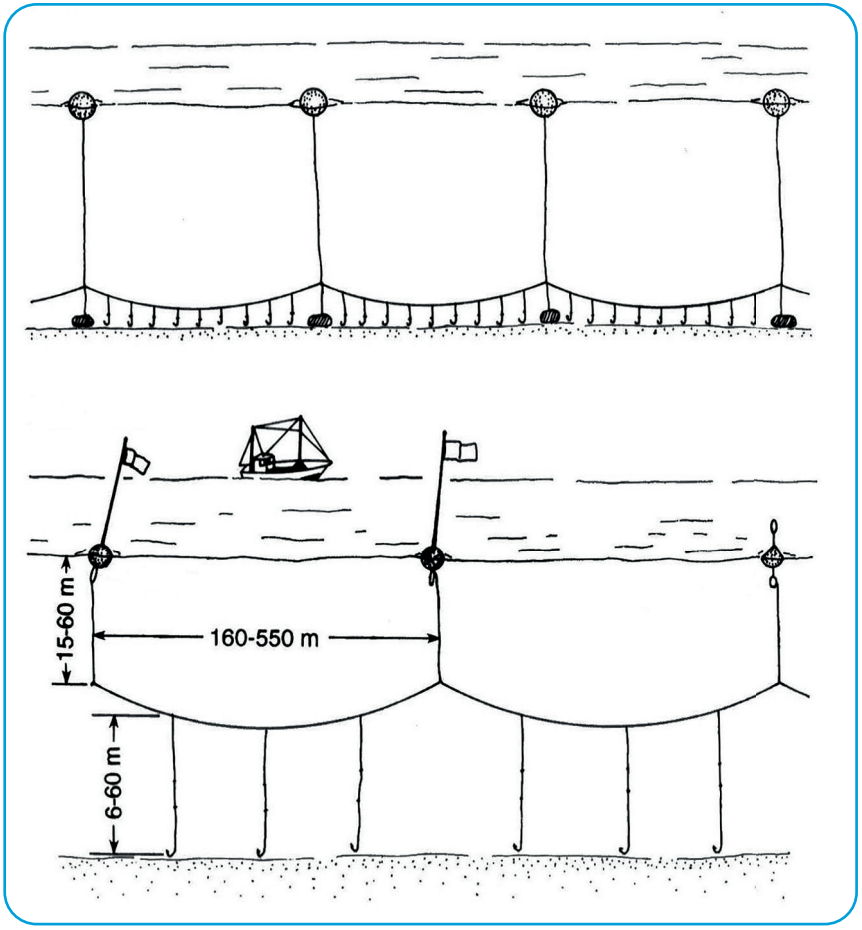


Figura 5.38. Ejemplos de palangres.
Fuente: *American Fisheries Society* – Esquema utilizado con permiso/Banco de imágenes de CETESB.

5.6.1.3 Caña de pescar

Este mecanismo de pesca consta de una caña de bambú y un hilo de nylon resistente, con o sin flotador, y un anzuelo en su extremo con carnada viva o artificial. Este tipo de pesca se puede realizar utilizando embarcación o no (Fig. 5.39).



Figura 5.39. Caña de pescar.
Foto: Adriana C.C.R. de Deus/Banco de imágenes de CETESB.

5.6.1.4 Corral (Red de Estacas o Cerco)

Consiste en un cerco generalmente hecho de bambú trenzado, fijado al sustrato mediante estacas, donde existe una sola abertura que permite la entrada de los peces, pero no su salida. Por lo tanto, es importante asegurarse de que la pared del corral sea lo suficientemente alta para permanecer siempre por encima del nivel del agua (para que los organismos puedan ser inspeccionados y muestrearlos) y que la estructura esté bien cerrada (para evitar que los peces se escapen) (Fig. 5.40).



Figura 5.40. Corral.
Foto: CETESB, 1988/Banco de imágenes de CETESB.

5.6.1.5 Cesta o Canasta

Trampa de forma variable, que puede ser cónica, cóncava o de fondo de bolsa. Su construcción también es variable, pudiendo ser de bambú trenzado, alambre trenzado o aros de alambre cubiertos con malla de algodón (Figs. 5.41 y 5.42).



Figura 5.41. Cesta o canasta.
Foto: Adriana C.C.R. de Deus/Banco de imágenes de CETESB.



Figura 5.42. Cesta o canasta.

Foto: José Jorge Neto/CETESB/Banco de imágenes de CETESB.

5.6.1.6 Nasa

Tipo de trampa, cilíndrica o cónica, que permite que el pez entre, pero no que salga, y puede usarse con o sin carnada. La entrada a la nasa tiene forma cónica, con el vértice hacia el interior, siendo flexible para permitir la entrada de los peces. Para su elaboración se utiliza malla metálica, alambre, bambú o alambre recubierto de malla de nylon, algodón, etc. (Fig. 5.43).

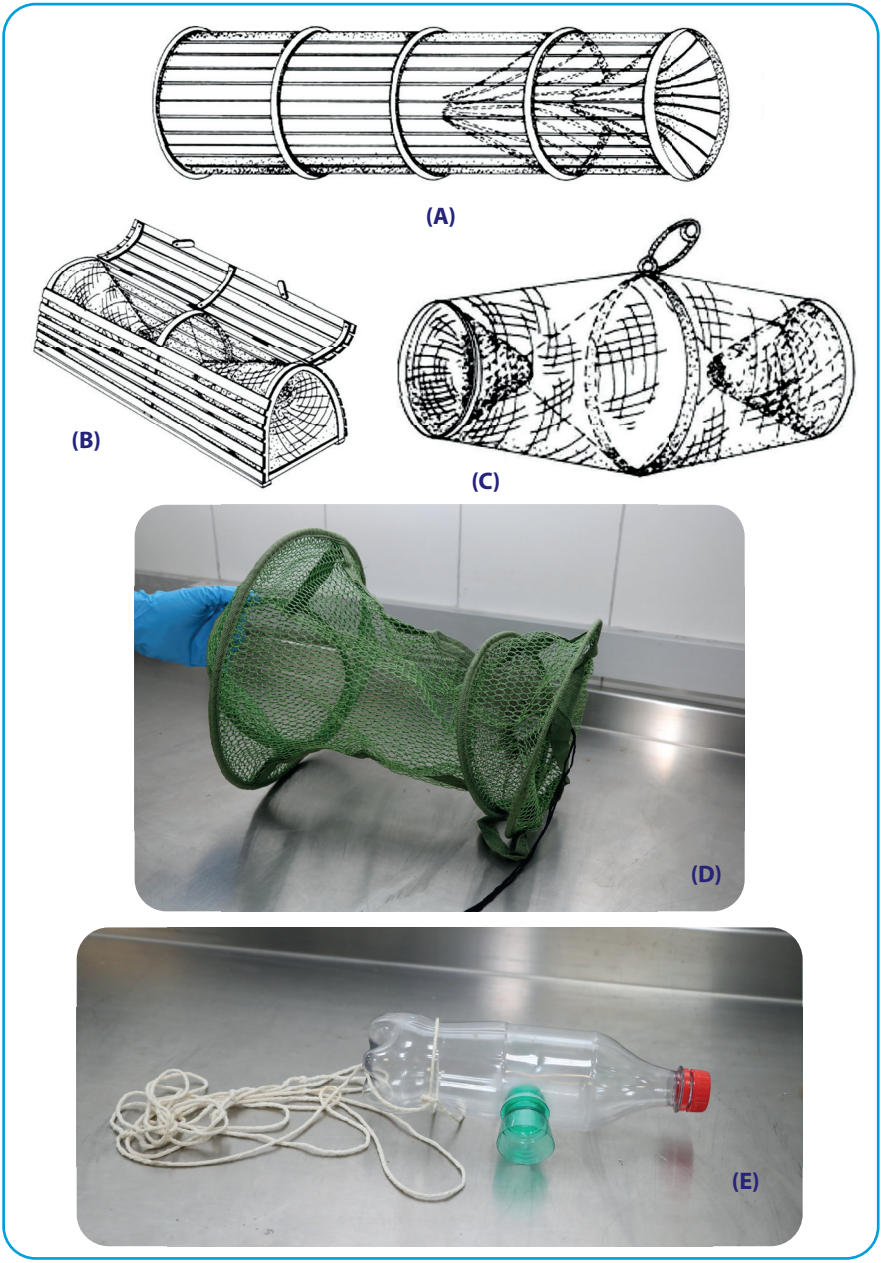


Figura 5.43. Diferentes trampas tipo "nasa": (A) Trampa de forma cilíndrica; (B) Trampa para pesca de langosta; (C y D) Trampa para peces pequeños en ríos; (E) Nasa artesanal en PET.
Fuente: *American Fisheries Society* – Esquema utilizado con autorización (A, B y C) y José Jorge Neto/CETESB (D y E)/Banco de imágenes de CETESB.

La confección de nasas a partir de botellas *PET* es un recurso muy utilizado debido al bajo costo y la gran variedad de tamaños de trampas que se pueden fabricar. En el mercado se pueden encontrar nuevos formatos de trampas, pero el mecanismo de entrada del pescado sigue siendo el mismo.

5.6.2 Equipos de Pesca Activos

5.6.2.1 Red de Cerco

Se utiliza principalmente para tomar muestras de peces en rápidos suaves y sin obstáculos y en brazos de estuario.

También se le llama red de deriva, ya que se lanza al cuerpo de agua y es acompañada por la embarcación. Similar a la red de espera, consta de una sola pieza de tela, pero la cuerda inferior tiene un peso más ligero y no utiliza poita ni boyas. En los extremos de la red se colocan flotadores que sirven de guía y aseguran que permanezca abierta durante el recorrido.

5.6.2.2 Red de Arrastre

Consta de rejilla entera o de dos partes. En la parte superior se colocan boyas y en la parte inferior se colocan plomos. Los extremos superior e inferior de cada lado de la red están atados a varillas laterales de madera. En lugares poco profundos, el arrastre se puede realizar directamente mediante las varillas, mientras que, en lugares de mayor profundidad y corriente, donde es necesario el uso de una embarcación, se puede unir una cuerda de tracción a cada extremo de las varillas (Figs. 5.44 y 5.45).

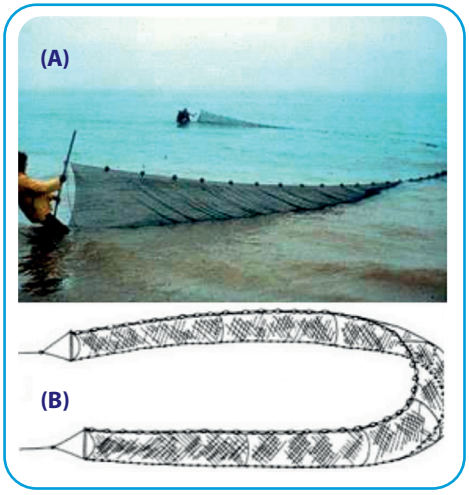


Figura 5.44. Red de arrastre manual: (A) Foto de la red de arrastre manual en funcionamiento; (B) Esquema de la red de arrastre manual.

Fuente: *American Fisheries Society* – Esquema utilizado con permiso/Banco de imágenes de CETESB.

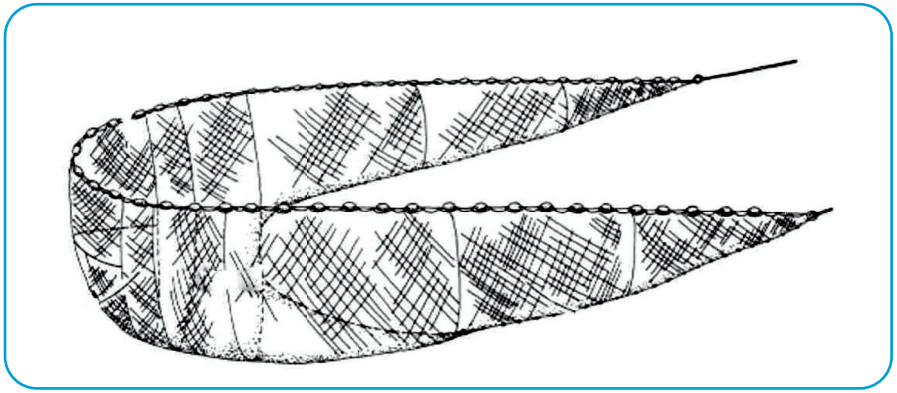


Figura 5.45. Red de arrastre por embarcación.

Fuente: *American Fisheries Society* – Esquema utilizado con permiso/Banco de imágenes de CETESB.

5.6.2.3 Red de Bolso

Consiste en una tela de confección similar a la de la red de espera. En su centro se forma una bolsa similar a un colador, con un diámetro de malla mayor que el de los extremos. Se fija de la misma forma que la red de espera (Fig. 5.46).

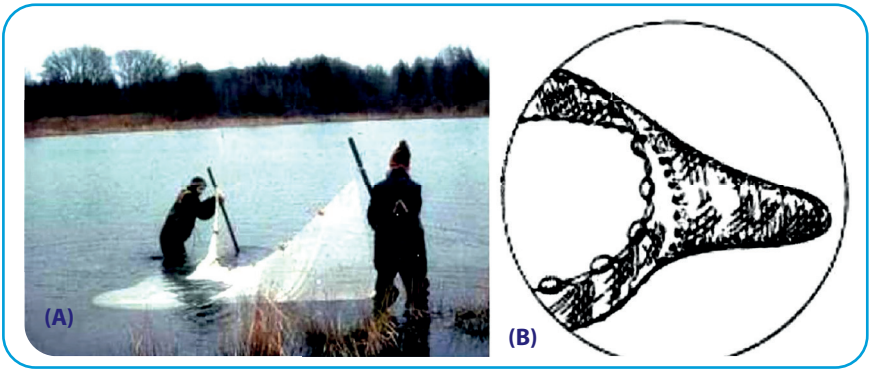


Figura 5.46. Red de arrastre manual tipo bolsa: (A) Foto de la red de arrastre manual con bolsa en funcionamiento; (B) Esquema del detalle de la bolsa.

Fuente: *American Fisheries Society* – Esquema utilizado con permiso/Banco de imágenes de CETESB.

5.6.2.4 Atarraya

Utilizada en lugares poco profundos, consta de una red de forma cónica, unida en su vértice a un cable, y cuya base circular está provista de plomos de cuerda, destinados a cerrar el dispositivo cuando se tira del cable. Su lanzamiento se realiza de manera que pueda abrirse en el aire, alcanzando la superficie del agua en la mayor área posible y hundiéndose rápidamente gracias a los plomos de cuerda (Fig. 5.47).

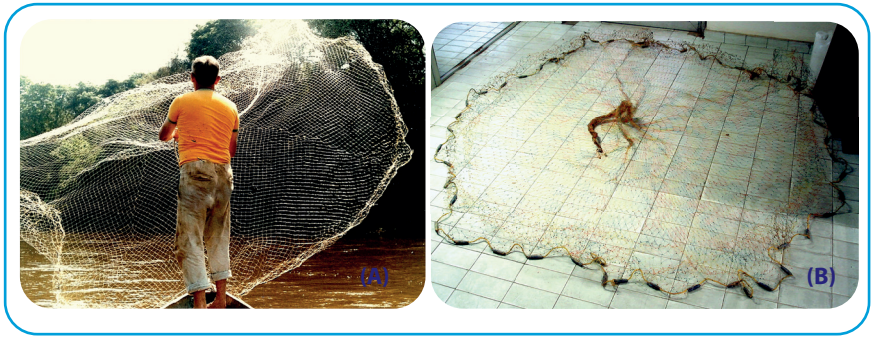


Figura 5.47. Atarraya: (A) Atarraya en uso; (B) Vista superior de la atarraya.

Fotos: (A) CETESB, 1988; (B) Adriana C. C. R. de Deus/Banco de imágenes de CETESB.

5.6.2.5 *Línea de Arrastre (Trolling)*

Consiste en un hilo resistente con anzuelo y carnada artificial, que se utiliza cuando la embarcación está en movimiento.

5.6.2.6 *Salabre o Tamiz*

Es un aparato utilizado generalmente para recolectar ejemplares durante las actividades pesqueras o en episodios de mortalidad de organismos acuáticos y consiste en un círculo metálico al que se fija una red embudo de distintos tamaños. El círculo de metal está sujeto a un mango de bambú, madera o a una cuerda. (Fig. 5.48).



Figura 5.48. Salabre: (A) Vista lateral; (B) Equipo en uso.

Fotos: (A) Adriana C. C. R. de Deus/CETESB; (B) *American Fisheries Society* - Foto utilizada con permiso/Banco de imágenes de CETESB.

5.6.2.7 *Pesca Eléctrica*

La pesca eléctrica es un método de muestreo utilizado con fines científicos. Este tipo de muestreo se utiliza normalmente en entornos de aguas poco profundas. La pesca eléctrica se puede realizar desde una embarcación preparada para ello o mediante equipos adaptados para su uso móvil, como una mochila (Fig. 5.49). Independientemente del equipo a utilizar, se deben observar las medidas de seguridad necesarias para el muestreo en campo, especialmente aquellas relacionadas con los riesgos inherentes a las descargas eléctricas.



Figura 5.49. Pesca eléctrica con equipo tipo móvil (mochila).
Fuente: *American Fisheries Society* – Esquema utilizado con permiso/Banco de imágenes de CETESB.

5.7 Muestreadores automáticos

Los muestreadores automáticos son equipos, fijos o portátiles, que cuentan con un sistema de captura y un compartimento cerrado para almacenar las muestras tomadas (Fig. 5.50).

Los sistemas de bombeo para la captura de muestras pueden basarse en diversas tecnologías, como bombas de vacío peristálticas, mediante un émbolo en línea o usando sistemas de bombeo externos.

Al elegir el equipo, es importante comprobar la compatibilidad del muestreador automático con los requisitos de almacenamiento y conservación de muestras, como el tipo de frasco y la necesidad de refrigeración. Los objetivos del proyecto serán decisivos para la selección de las estrategias de muestreo, por lo que el equipo utilizado debe seguirlas. En este contexto, se debe comprobar la disponibilidad de recursos como el muestreo en función del tiempo, el muestreo en

función del caudal, el muestreo en uno o varios frascos, el muestreo en función de eventos críticos, etc.

Normalmente, el uso de estos muestreadores es una opción para campañas que implican largos periodos de muestreo, desde horas hasta días, ya que la disponibilidad de técnicos para este tipo de actividad puede ser un factor limitante. Además de los recursos disponibles, la elección del equipo más adecuado debe tener en cuenta la facilidad de manipulación, la disponibilidad de un manual con lenguaje accesible y la construcción en material adecuado para los analitos de interés.



Figura 5.50. Tipo de muestreador automático utilizado en muestreos de agua y efluentes: (A) Visión general; (B) Equipo abierto, vista de los diferentes frascos de muestreo.

Foto: José Jorge Neto/Banco de imágenes de CETESB.

5.8 Mantenimiento y Cuidado de los Equipos

Los equipos de muestreo deben lavarse con agua limpia, con o sin chorros fuertes, después de su uso. Si es necesario, lavar con una solución suave de detergente neutro fosfatado y dejar secar a la sombra. Deben almacenarse en un lugar adecuado, alejados de equipos que puedan dañarlos y protegidos de posibles focos de contaminación. Durante el transporte deberán acondicionarse en empaques adecuados.

Es importante que los procedimientos de lavado de cada tipo de equipo estén validados teniendo en cuenta los analitos o características a analizar, los métodos de ensayo y las concentraciones mínimas de interés. Una de las formas de evaluar estos protocolos de lavado es el uso de blancos de equipos (véase el Capítulo 4).

En el caso de equipos de malla, como redes de muestreo, siempre se debe evaluar la integridad del tejido o estructura antes y durante su uso en campo.



CAPÍTULO 6

MUESTREO DE AGUA BRUTA SUPERFICIAL, SEDIMENTOS Y EFLUENTES LÍQUIDOS

6. MUESTREO DE AGUA BRUTA SUPERFICIAL, SEDIMENTOS Y EFLUENTES LÍQUIDOS

En un estudio básico para evaluar la calidad del agua y los sedimentos se deben tener en cuenta sus usos preponderantes. En general, el muestreo en ríos, arroyos y pequeños cursos de agua se realiza aguas arriba y aguas debajo de las fuentes contaminantes, cuando éstas existen. Dependiendo del objetivo del estudio se pueden añadir puntos de muestreo para evaluar el grado de contaminación o asimilación de carga orgánica a lo largo del tramo evaluado, por ejemplo. Es mejor evitar tomar muestras en áreas donde pueda ocurrir estancamiento de agua y en lugares cercanos a la orilla interna de las curvas, excepto para el muestreo de sedimentos y organismos bentónicos. Para obtener más detalles sobre la planificación del muestreo, consultar el Capítulo 3.

Para cursos de agua de mayor extensión se debe tener en cuenta la existencia y grado de mezcla de los vertidos (afluentes y efluentes) en el cuerpo receptor, tanto lateralmente (de una orilla a otra) como verticalmente (de la superficie al fondo). La mezcla en dirección lateral a menudo ocurre más lentamente que la mezcla en dirección vertical. Por otro lado, hay que considerar que el agua del cuerpo principal puede ingresar al afluente, o viceversa, desde la superficie o el fondo, debido a la diferencia de densidad provocada por la temperatura, las sales disueltas o la turbidez. Para obtener una muestra representativa, se deben evaluar estas posibilidades durante el período de caracterización o monitoreo, tomando muestras en múltiples puntos a lo largo del eje transversal (Fig. 6.1) o vertical del cuerpo de agua cuando no hay certeza de una mezcla completa.

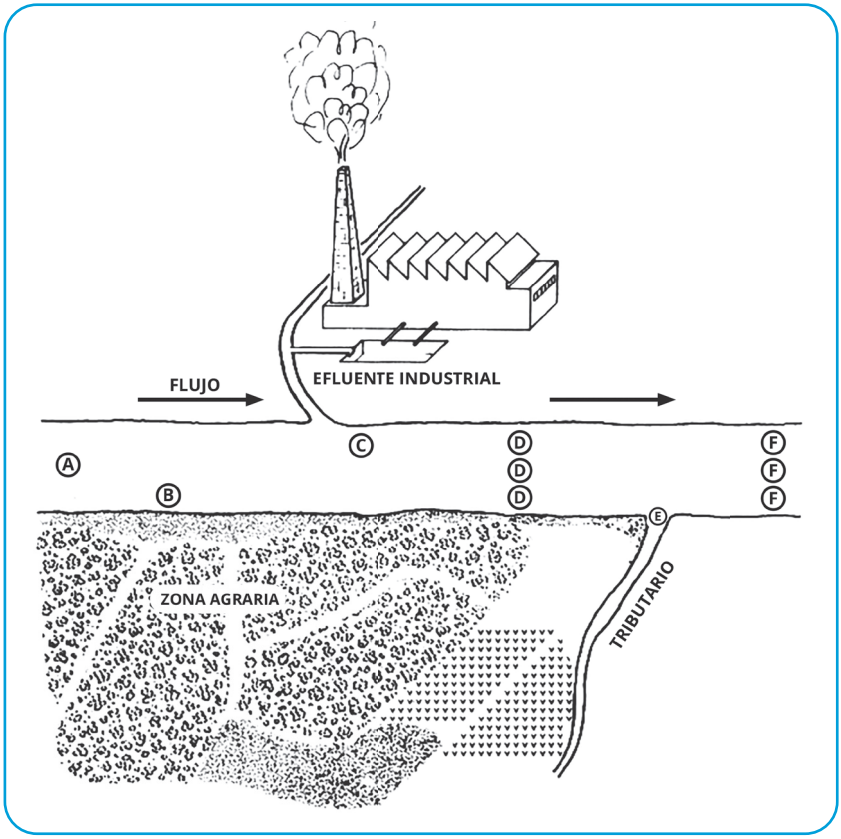


Figura 6.1. Ubicación genérica de los puntos de captación de aguas superficiales en grandes cursos de agua: (A) Control en la región superior del área en estudio (referencia o *background*); (B) Monitoreo de fuentes contaminantes no puntuales (ejemplo: contaminación agrícola); C) Muestreo de descargas contaminantes en el punto de su lanzamiento al cuerpo receptor; (D) Múltiples puntos aguas debajo de los lanzamientos, para verificar su mezcla en dirección lateral; (E) Muestreo en afluentes, en la zona donde desembocan en el cuerpo receptor en estudio (en el esquema, el monitoreo aguas arriba del afluente se obtiene mediante muestreo en D); (F) Monitoreo aguas abajo del afluente, luego de su mezcla en el cuerpo.

Fuente: CETESB, 1988/Banco de imágenes de CETESB.

A menos que se necesite información sobre la calidad del agua durante la temporada de lluvias, el muestreo puede suspenderse durante o poco después de lluvias intensas, ya que puede haber un aumento significativo en el caudal del curso de agua. En el caso de estudios que requieran información estacional, se debe continuar con el muestreo e incluso se pueden incluir con los demás los datos obtenidos durante la época de lluvias.

La programación de muestreo depende no solo de los usos del agua (recreación, acuicultura, generación de energía, agricultura, industria, alcantarillado, drenaje pluvial y abastecimiento público), sino también de los objetivos del estudio, tales como: tasa de sedimentación, dispersión y degradación de contaminantes orgánicos, distribución y comportamiento de metales y agroquímicos, eutrofización y carga de nutrientes, estudios ictiofaunísticos, entre otros. Cada caso requiere una metodología específica, tanto de muestreo como de ensayo e interpretación de datos.

Para definir los análisis a realizar en aguas superficiales (brutas) y sedimentos y el encuadramiento de los cuerpos de agua en clases de calidad y sus respectivos usos previstos, es fundamental mantenerse actualizado, consultando la legislación vigente en los sitios web de las instituciones responsables de su elaboración y/o aprobación, como ANA (Agencia Nacional de Aguas), ANVISA (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria), MS (Ministerio de Salud), CONAMA (Consejo Nacional del Medio Ambiente), IBAMA (Instituto Brasileño del Medio Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables), Secretarías de Medio Ambiente y Recursos Naturales Renovables de cada estado, y criterios internacionales adoptados por la OMS (Organización Mundial de la Salud), USEPA (Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos), *Environment Canada*, Comunidad Europea, entre otros.

En muestreos en general se recomienda, cuando corresponda, que:

- El muestreo de agua se realice antes que el muestreo de sedimentos;
- El agua superficial sea muestreada antes del muestreo a profundidad;
- El orden en el que se llenan los frascos se defina en función de la sensibilidad del analito, o características de interés, contaminación y/o degradación, considerando siempre la diferente naturaleza de las muestras.

Es importante recordar que, en esta Guía, se consideran aguas superficiales los primeros 30 cm de la lámina de agua y aguas profundas las muestreadas en la columna de agua por debajo de los 30 cm de la superficie hasta 1 m por encima del fondo.

Para evitar problemas de contaminación cruzada, se sugiere utilizar diferentes materiales para cada punto de muestreo, como balde y cuerda. Si esto no es posible, estos materiales deben lavarse en campo con agua reactiva y aclimatarse, es decir, enjuagarse con agua del lugar a muestrear.

Se sugiere utilizar equipo de muestreo fabricado en acero inoxidable AISI 316L pulido, cuando corresponda, debido al menor riesgo de contaminación para la mayoría de los analitos de interés. Todos los equipos deben estar libres de contaminantes e interferencias, por lo que el laboratorio de muestreo debe establecer procedimiento(s) de lavado que garanticen una limpieza adecuada. La validación de estos procesos se puede realizar con base en blancos de equipos (véase el Capítulo 4).

A continuación, se considerarán los procedimientos de muestreo en agua bruta (capas superficiales y profundas), sedimentos y efluentes líquidos para los distintos ensayos. La conservación, tipo de recipiente, volumen requerido y fecha de caducidad de la muestra se describen en el Apéndice A.

6.1 Muestreo y conservación de Muestras para Ensayos en Agua Bruta Superficial

Los procedimientos para tomar y conservar muestras están estrechamente relacionados con la naturaleza de los analitos y/o características de interés y también con las metodologías de ensayos posteriores. En este tema se abordarán instrucciones y recomendaciones para el muestreo de los principales grupos de ensayos habitualmente utilizadas para el diagnóstico y monitoreo ambiental: ensayos químicos,

bioanalíticos, toxicológicos, microbiológicos, ensayos para determinar mutagenicidad y ensayos relacionadas con comunidades biológicas.

En la práctica, las campañas de muestreo suelen implicar la toma da de muestras para varios de estos ensayos en un mismo punto de muestreo, de modo que el volumen total de muestra requerido hace necesario tomar más de una muestra para llenar los diferentes frascos. Luego se deben desarrollar estrategias de muestreo para garantizar la homogeneidad de las muestras, con especial atención a aquellas muestras que contienen partículas no disueltas y determinar los analitos que puedan estar adheridos a estos materiales.

Por ejemplo, el muestreo debe realizarse con el equipo adecuado y, en cada toma de muestra, el volumen debe distribuirse entre los diferentes frascos en proporción a sus volúmenes (salvo que un ensayo específico recomiende lo contrario, como se comentará en algunos ítems de este capítulo). Durante este procedimiento, se debe homogeneizar la muestra contenida en el equipo de muestreo mediante movimientos suaves o utilizando varillas, las cuales deben estar limpias y secas para no contaminar la muestra. Además, se podrá realizar con prioridad el llenado de frascos destinados a ensayos en las que exista dependencia de materiales no disueltos (como metales totales y fósforo). Una de las formas de demostrar la eficiencia de la estrategia elegida en términos de homogeneidad de la muestra es mediante la evaluación de duplicados de campo (véase el Capítulo 4).

6.1.1 Productos químicos (Excepto Metales Disueltos y Carbono Orgánico Disuelto)

Procedimiento de muestreo para ensayos químicos en aguas superficiales

- Llenar el balde de acero inoxidable o botella de flujo horizontal y distribuir proporcionalmente su volumen entre los diferentes frascos, como forma de asegurar la homogeneidad de la muestra (Fig. 6,2);
- Repetir el procedimiento hasta que todos los frascos contengan el volumen de agua necesario para los ensayos, cuidando de mantener un espacio vacío en el frasco para su posterior homogeneización cuando sea necesario (véase el Apéndice A);
- En el caso de muestras que no pueden someterse a aireación (oxígeno disuelto, sulfuros y compuestos orgánicos volátiles), se debe utilizar preferentemente el batiscafo (Fig. 6.3). En el caso de muestreo de oxígeno disuelto, se puede utilizar la botella introduciendo la manguera estrangulada hasta el fondo del recipiente, soltando lentamente el regulador de flujo de la manguera y permitiendo que desborde dos veces, o más, del volumen del frasco, sin dejar espacios vacíos;
- Realizar la conservación requerida (Fig. 6.4);
- Acondicionar la muestra en una caja térmica, en refrigeración (cuando sea necesario), para su transporte.

NOTA: Una alternativa de muestreo para ensayos sensibles a la aireación, si no se dispone de un batiscafo, es transferir con cuidado la muestra del balde al frasco, pasándola por la pared del mismo.



Figura 6.2. Toma de muestras de agua superficial: (A) Disposición de frascos con identificación; (B) Distribución de la muestra en todos los frascos; (C) Frascos llenos de muestras.

Fotos: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.



Figura 6.3. Toma de muestras de agua superficial para análisis de OD: (A) Batiscafo; (B) Cierre del frasco de OD.

Fotos: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.



Figura 6.4. Procedimiento de conservación de muestras: (A) Adición de ácido nítrico 1+1 para preservar los metales; (B) Adición de acetato de zinc para la conservación del sulfuro.

Fotos: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

Procedimiento de muestreo para ensayos químicos en aguas profundas

- Muestrear con botella de profundidad en el estrato de interés. Es importante que el equipo no produzca la suspensión de sedimentos; Para ello se recomienda muestrear el agua hasta 1 m por encima del fondo, excepto cuando sea de interés el estrato por debajo de 1 m por encima del fondo (Fig. 6,5);
- Desechar el agua contenida en la manguera;
- Distribuir proporcionalmente su volumen en los diferentes frascos, como forma de garantizar la homogeneidad de la muestra;
- Repetir el procedimiento hasta que todos los frascos contengan el volumen de agua requerido, cuidando de mantener un espacio vacío para su posterior homogeneización cuando sea necesario (véase el Apéndice A). En el caso de muestreo de oxígeno disuelto, se puede utilizar la botella introduciendo la manguera, la cual se debe introducir estrangulada hasta el fondo del recipiente, soltando lentamente el regulador de caudal de la manguera y dejando que ésta desborde dos veces, o más, del volumen del frasco, sin dejar espacios vacíos;
- Realizar la conservación requerida (Fig. 6,4);
- Acondicionar la muestra en una caja térmica, en refrigeración (cuando sea necesario), para su transporte.

NOTA: Una alternativa de muestreo para los ensayos sensibles a la aireación y la contaminación consiste en estrangular la manguera de la botella para reducir el flujo de salida de la muestra y transferir el volumen de la muestra escurriéndola lentamente por la pared del frasco de muestreo.



Figura 6.5. Toma de muestras a profundidad con botella Niskin de flujo vertical.
Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

6.1.2 *Metales Disueltos y Carbono Orgánico Disuelto*

Para ensayos de metales disueltos y carbono orgánico disuelto, la muestra debe filtrarse en el campo. El agua filtrada es la que se enviará para el ensayo. En el caso de metales disueltos, la unidad filtrante debe someterse a un pre-acondicionamiento antes de filtrar, con el fin de prepararla para recibir la muestra (APHA; AWWA; WEF, 2023).

Se debe utilizar una jeringa estéril y una unidad de filtro desechable para cada punto de muestreo (Fig. 6.6). La filtración de muestras también se puede realizar mediante una bomba de vacío manual o mediante un generador de electricidad.

Procedimiento para el pre-acondicionamiento de la unidad de filtrado.

- Llenar una jeringa esterilizada con agua reactiva;
- Conectar una unidad de filtrado de 0,45 µm (filtro) a la jeringa;
- Pasar un volumen de 50 mL de agua reactiva a través del filtro.

Procedimiento de muestreo para ensayos de metales disueltos y carbono orgánico disuelto en aguas superficiales.

- Tomar la muestra de agua del lugar utilizando un balde de acero inoxidable o una botella de flujo horizontal;
- Llenar la jeringa con la muestra tomada, llenando todo su volumen;
- Conectar el filtro a la punta de la jeringa. En el caso de metales disueltos, es necesario preacondicionar el filtro;
- Presionar el émbolo de la jeringa y tomar la muestra filtrada en un frasco de muestreo apropiado (Apéndice A);
- Repetir el procedimiento hasta obtener el volumen necesario para el ensayo;
- Si el filtro se satura, reemplazarlo por otro y completar el volumen necesario para el ensayo;
- Realizar las conservaciones requeridas;
- Acondicionar la muestra en una caja térmica, en refrigeración (cuando sea necesario), para su transporte.

Procedimiento de muestreo para ensayos de metales disueltos y carbono orgánico disuelto en aguas profundas.

- Tomar la muestra referente al estrato de interés con una botella de profundidad;
- Desechar el agua contenida en la manguera;
- Transferir la muestra de la botella a un balde de acero inoxidable;
- Retirar una alícuota con la jeringa, llenando todo su volumen;
- Conectar el filtro a la punta de la jeringa. En el caso de metales disueltos, es necesario preacondicionar el filtro;
- Presionar el émbolo de la jeringa y tomar la muestra filtrada en un frasco de muestreo apropiado (Apéndice A);
- Repetir el procedimiento hasta obtener el volumen necesario para el ensayo;
- Si el filtro se satura, reemplazarlo por otro y completar el volumen necesario para el ensayo;
- Realizar las conservaciones requeridas;
- Acondicionar la muestra en una caja térmica, en refrigeración (cuando sea necesario), para su transporte.

NOTA: Alternativamente, la alícuota de muestra se puede tomar directamente de la botella de profundidad.

¡Esté atento!

Si no es posible realizar la filtración en campo, la muestra sin conservación debe enviarse sin demora al laboratorio para que pueda ser filtrada y conservada lo más rápido posible o según el plazo estipulado en una metodología validada.



Figura 6.6. Filtración de campo de muestra para metales disueltos.
Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

6.1.3 Ensayos Bioanalíticos

El bioanálisis se ha convertido en una rama de la ciencia ambiental en rápido desarrollo y se ha utilizado con éxito para monitorear y evaluar la calidad del medio ambiente. En los estudios bioanalíticos se puede utilizar una amplia gama de herramientas, siendo los bioensayos una de ellas.

Los bioensayos son procedimientos experimentales que se realizan para estimar los efectos biológicos producidos por una sustancia, o mezcla de sustancias, sobre organismos o ecosistemas y también pueden usarse para determinar la concentración de una constitución particular de una mezcla que puede causar efectos nocivos. Se pueden clasificar en *in vivo*, cuando se realizan en organismos vivos, o *in vitro* cuando se realizan en células, proteínas o enzimas.

Los ensayos bioanalíticos son bioensayos *in vitro* y se han aplicado y reconocido cada vez más como adecuados para detectar contaminantes químicos o grupos de contaminantes y para evaluar mezclas complejas en función de su acción biológica. Se consideran buenas herramientas debido a su fácil aplicación, rápida ejecución, costo relativamente bajo, respuestas sensibles y posibilidad de miniaturizarse.

Dos ejemplos de ensayos bioanalíticos ampliamente utilizados son las pruebas CALUX® (*Chemical Activated Luciferase Gene Expression*), con variaciones que permiten la detección de diferentes clases de compuestos, como glucocorticoides, PFAS (ácidos polifruoralquilos), compuestos *tipo dioxina*, entre otros, y BLYES (*Bioluminescent Yeast Estrogen Screen*) utilizado para detectar hormonas estrógenas.

Este tipo de ensayo se pueden utilizar para diferentes matrices ambientales, como agua y sedimentos, y los procedimientos de muestreo son los mismos que los utilizados para los análisis químicos. Los volúmenes, tipos de frascos y fechas de caducidad pueden variar según el tipo de ensayo y grupo de compuestos a evaluar. El Apéndice A presenta información sobre los ensayos CALUX® y BLYES.

6.1.4 Ecotoxicológicos

Los ensayos ecotoxicológicos son procedimientos en los que se exponen organismos acuáticos a muestras ambientales, efluentes líquidos o sustancias químicas (aisladas o en mezclas), durante un período de tiempo determinado, para observar efectos adversos sobre estos organismos. Los efectos observados pueden estar relacionados

con las sustancias/contaminantes biodisponibles presentes en las muestras analizadas.

En los ensayos de laboratorio, los organismos de prueba se obtienen de una población homogénea, con sensibilidad definida, cultivada en el laboratorio o muestreada en campo. En este ensayo se simulan las condiciones ambientales (con control de las condiciones de temperatura, pH y tiempo de exposición). En los ensayos de campo, los organismos cultivados o muestreados se someten a condiciones ambientales locales.

Los efectos adversos observados (agudos o crónicos) pueden expresarse cualitativamente (no tóxicos o tóxicos) o cuantitativamente (concentración del efecto).

En estos ensayos, los organismos de prueba se exponen a la muestra bruta (agua superficial o sedimento) o a diversas concentraciones de la muestra en solución (efluente) durante un período determinado. Luego del período de prueba, se verifican los efectos de la muestra en relación a algunos parámetros biológicos, como mortalidad, crecimiento y reproducción, entre otros. Los organismos de agua dulce y marinos más utilizados se enumeran en el Apéndice A.

La elección de los ensayos depende del objetivo del estudio. A la hora de cumplir con la legislación, se recomienda utilizar métodos estandarizados desarrollados por la ABNT (como ABNT, 2021) o un organismo de normalización internacional.

6.1.5 Toxicidad Aguda con Bacterias **Vibrio fischeri** *(Prueba Microtox®)*

La bacteria marina *Vibrio fischeri* emite luz de forma natural en ambientes acuáticos favorables. La prueba se basa en exponer la bacteria a una muestra durante 15 minutos. En presencia de sustancias tóxicas para las bacterias, la luminiscencia disminuye, siendo esta disminución de la intensidad luminosa proporcional a la toxicidad de la muestra.

Los resultados se expresan como concentración efectiva 20 (CE20) (15 minutos), que es la concentración de la muestra (en % o mg/L) que

provoca una reducción del 20% en la emisión de luz generada por el *V. fischeri* después de un tiempo de exposición de 15 minutos. Por tanto, cuanto menor sea el EC20, más tóxica será la muestra.

La prueba se puede realizar en muestras de agua, sedimentos (evaluando su agua intersticial), suelo y efluentes, entre otros.

El procedimiento adoptado para la toma de muestras de agua para el ensayo de toxicidad aguda con *Vibrio fischer* es el mismo adoptado para los ensayos ecotoxicológicos con organismos acuáticos.

Procedimiento de muestreo para ensayos ecotoxicológicos con organismos acuáticos y Microtox® en aguas superficiales brutas

- Llenar el balde de acero inoxidable o botella de muestreo de flujo horizontal y distribuir su volumen proporcionalmente entre los diferentes frascos destinados para los ensayos, como forma de asegurar la homogeneidad de la muestra;
- Repetir el procedimiento hasta que todos los frascos contengan el volumen de agua requerido para los ensayos (véase el Apéndice A);
- En el caso del (los) frasco(s) destinado(s) a ensayos ecotoxicológicos y Microtox®, llenar todo el volumen del frasco **sin dejar volumen muerto**, a fin de evitar la presencia de aire;
- Tapar el frasco, dejarlo reposar unos minutos y comprobar que no quedan burbujas de aire en su interior. Si hay burbujas, golpear ligeramente los lados del frasco para que las mismas se desprendan;
- Si es necesario, completar el volumen del frasco;
- Acondicionar la muestra en una caja térmica, en refrigeración (cuando sea necesario), para su transporte.

Procedimiento de muestreo para ensayos ecotoxicológicos con organismos acuáticos y Microtox® en aguas profundas

- Muestrear con botella de profundidad en el estrato de interés. Es importante que el equipo no produzca la suspensión de sedimentos; Para ello se recomienda muestrear el agua hasta 1 m por encima del fondo, excepto cuando sea de interés el estrato por debajo de 1 m por encima del fondo;
- Desechar el agua contenida en la manguera;
- Distribuir proporcionalmente su volumen en los diferentes frascos destinados a los ensayos, como forma de garantizar la homogeneidad de la muestra;
- Repetir el procedimiento hasta que todos los frascos contengan el volumen de agua requerido (véase el Apéndice A);
- En el caso del (los) frasco(s) destinado(s) a ensayos ecotoxicológicos, llenar todo el volumen del frasco **sin dejar volumen muerto**, a fin de evitar la presencia de aire;
- Tapar el frasco, dejarlo reposar unos minutos y comprobar que no quedan burbujas de aire en su interior. Si hay burbujas, golpear ligeramente los lados del frasco para que las mismas se desprendan;
- Si es necesario, completar el volumen del frasco;
- Acondicionar la muestra en una caja térmica, en refrigeración (cuando sea necesario), para su transporte.

6.1.6 Mutagenicidad con Salmonella/Microsoma (Prueba de Ames)

La prueba de *Salmonella*/Microsoma es una prueba de selección que se utiliza para detectar la presencia de sustancias genotóxicas en muestras. Las sustancias genotóxicas son aquellas capaces de interactuar con el material genético, produciendo cambios que, si se perpetúan en las células hijas, se denominan mutaciones. Una respuesta positiva a la prueba indica que, bajo las condiciones del ensayo, hay una o más sustancias en la muestra capaces de causar mutaciones en el organismo expuesto. En muestras ambientales, un efecto observado rara vez se debe a la acción de un solo compuesto. Estas muestras contienen mezclas complejas formadas por innumerables sustancias que interactúan o no entre sí, lo que puede modificar las respuestas esperadas para cada sustancia por sí sola. Así, al testear la mutagenicidad presente en muestras ambientales, se observa el efecto de la mezcla en su conjunto. Sin embargo, los resultados de las pruebas

individuales no son suficientes para estimar el riesgo para la salud de los organismos, pero pueden ayudar en la selección de análisis químicos específicos (APHA, AWWA. WEF, 2023).

El ensayo utiliza diferentes cepas de *Salmonella* Typhimurium en presencia y ausencia de activación metabólica, capaces de detectar compuestos causantes de mutaciones, que pueden ser inducidas a través de diferentes mecanismos de acción. La prueba fue desarrollada específicamente para la detección de mutagénesis inducida químicamente y puede realizarse tanto en muestras líquidas, después de la esterilización (ISO, 2005), como en extractos orgánicos (USEPA, 2018). Existen varios procedimientos de extracción orgánica; generalmente se utiliza la extracción por SPE (del inglés *solid phase extraction* – extracción en fase sólida), líquido-líquido o muestreadores pasivos.

La presencia de compuestos genotóxicos/mutágenos se puede evaluar en muestras de agua, efluentes, suelo, sedimentos, lodos y material en partículas. El procedimiento adoptado para el muestreo de aguas superficiales y profundas mediante balde y muestreadores específicos es el mismo que se utiliza para los análisis químicos de compuestos orgánicos, sin adición de ningún tipo de conservante (véase el Capítulo 6 ítem 6.1.1) (Fig. 6.7).

Las muestras de sedimento se toman con tomamuestras (véase el Capítulo 5), en cantidades aproximadas superiores a 100 g (generalmente 500 g). El acondicionamiento debe realizarse en frascos de plástico atóxicos, cuidando de llenar todo el frasco para minimizar los procesos de oxidación.

En el Apéndice A se detallan los tipos de frascos utilizados, almacenamiento y conservación de muestras.



Figura 6.7. Toma de muestras con balde de acero inoxidable para Prueba de Ames en aguas superficiales.

Foto: Alex Miranda Silva/Banco de imágenes de CETESB.

6.1.7 Microbiológicos

La contaminación del agua por excrementos de origen humano o animal puede convertirla en un vehículo de transmisión de agentes patógenos infecciosos. Por tanto, el seguimiento de la calidad microbiológica del agua es fundamental, es un aspecto exigido por la legislación aplicada a los más diversos usos del agua.

Aunque existen métodos para determinar los microorganismos patógenos responsables de las enfermedades transmitidas por el agua, estos análisis son complejos, requieren mucho tiempo y son costosos. Además, solo las personas y los animales infectados eliminan estos microorganismos, que pueden encontrarse en concentraciones extremadamente bajas en las muestras de agua y requieren métodos de concentración. Por esta razón, la investigación de patógenos solo se realiza en condiciones específicas, por ejemplo, en la ocurrencia de brotes, en estudios de vigilancia epidemiológica ambiental de patógenos, estudios de evaluación de riesgos microbiológicos, entre otras.

En la rutina de monitoreo del agua y cumplimiento de las normas de su calidad se realizan análisis de microorganismos que indican contaminación fecal, los cuales pueden evidenciar el riesgo de la presencia de microorganismos enteropatógenos.

El análisis de indicadores microbianos en el agua es un método muy sensible y conveniente para detectar la contaminación de origen fecal, y el análisis químico no es adecuado para este objetivo. Los análisis deben realizarse con regularidad y frecuencia, ya que la contaminación fecal es intermitente y unas pocas muestras pueden no ser suficientes para detectarla. Por tanto, se debe dar preferencia a un método simple, en lugar de varios métodos o un método complejo, aunque los resultados no siempre muestran una relación directa con patógenos más persistentes en el medio ambiente.

Además de proporcionar información sobre la presencia de contaminación fecal en el agua, los análisis microbiológicos son útiles para evaluar la eficacia de los métodos de tratamiento de determinados grupos de microorganismos. Por ejemplo, la presencia de bacteriófagos puede indicar que los virus no se han eliminado y la presencia de clostridios reductores de sulfito puede demostrar la presencia de microorganismos más persistentes. El recuento de bacterias heterótrofas aeróbicas puede proporcionar información sobre la disponibilidad de nutrientes en el agua que promueven el crecimiento bacteriano, lo que puede resultar en problemas estéticos, o la presencia de microorganismos patógenos oportunistas, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella* sp. y *Aeromonas* sp. Para estos, existen técnicas de detección específicas, que no se utilizan de forma rutinaria, sino solo cuando es necesario para resolver problemas relacionados con su presencia.

La toma de muestras de agua para examen microbiológico presenta una técnica diferente para agua bruta y tratada y siempre debe realizarse antes de muestrear cualquier otro tipo de ensayo o determinación de campo, para evitar el riesgo de contaminación en el lugar de muestreo con frascos o muestreadores no estériles.

El frasco debe estar previamente preparado en el laboratorio, esterilizado y contener (a) EDTA en la cantidad necesaria para formar complejos con los metales que puedan estar presentes en la muestra (por ejemplo, cobre), y (b) tiosulfato de sodio, si se sospecha de la presencia de cloro libre (véase el Capítulo 3 - Ensayos Microbiológicos). Este frasco no debe ser ambientado y el muestreo debe ser puntual a partir de una sola toma de muestra, es decir, **la muestra para ensayo microbiológico no debe ser compuesta.**

Procedimiento de muestreo para ensayos microbiológicos en aguas superficiales

- Las muestras para análisis microbiológicos deben tomarse de preferencia directamente en los frascos esterilizados que se enviarán para análisis;
- Retirar la tapa del frasco, junto con el papel de aluminio protector, teniendo cuidado de evitar su contaminación con los dedos de guantes u otro material (Fig.
- Mantener la tapa sobre el frasco al momento del muestreo a una distancia de aproximadamente 10 cm, para evitar contaminar la parte interna de la tapa o cualquier otro material que caiga dentro del frasco;
- Llenar el frasco con la muestra hasta aproximadamente ¾ (tres cuartos) de su volumen, para permitir la homogeneización durante el proceso de ensayo en el laboratorio (Fig. 6.8);
- Cerrar inmediatamente el frasco, fijando el papel aluminio protector alrededor de la tapa;
- Acondicionar la muestra en una caja térmica, en refrigeración (cuando sea necesario), para su transporte.



Figura 6.8. Toma de muestras de aguas superficiales para análisis microbiológicos: (A) Con balde de acero inoxidable; (B) Directamente del cuerpo de agua.

Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

Procedimiento de muestreo para ensayos microbiológicos en aguas profundas.

- Muestrear con botella de profundidad en el estrato de interés. Es importante que el equipo no produzca la suspensión de sedimentos; Para ello, se recomienda muestrear el agua hasta 1 m por encima del fondo, excepto cuando sea de interés el estrato por debajo de 1 m por encima del fondo;
- Desechar el agua contenida en la manguera;
- En el caso de muestreo para ensayos microbiológicos, retirar la tapa del frasco, junto con el papel de aluminio protector, cuidando de evitar su contaminación con los dedos de guantes u otro material;
- Llenar el frasco a través de la manguera de látex, hasta aproximadamente ¾ (tres cuartos) de su volumen, para permitir la homogeneización durante el proceso de ensayo en el laboratorio;
- Mantener la tapa sobre el frasco al momento del muestreo a una distancia de aproximadamente 10 cm, para evitar contaminar la parte interna de la tapa o cualquier otro material que caiga dentro del frasco;
- Cerrar inmediatamente el frasco, fijando el papel aluminio protector alrededor de la tapa;
- Distribuir el volumen restante en la botella, proporcionalmente, en los diferentes frascos destinados a los demás ensayos, como forma de garantizar la homogeneidad de la muestra;
- Repetir el procedimiento hasta que todos los frascos contengan el volumen de agua requerido (véase el Apéndice A);
- Acondicionar y transportar la muestra en una caja térmica, en refrigeración (Fig. 6.9).



Figura 6.9. Acondicionamiento y transporte de muestras para análisis microbiológicos en caja térmica bajo refrigeración.
Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

Las muestras para ensayos de bacterias patógenas se pueden obtener de dos formas diferentes: el muestreo de agua del lugar (observando la preparación del frasco en el muestreo para ensayos microbiológicos) o instalación de una mecha que, luego de ser retirada del lugar, debe ser conducida en medio de transporte Cary y Blair. Las pautas para fabricar la mecha y preparar el medio de transporte Cary y Blair se pueden encontrar en el Capítulo 3 (Ensayos Microbiológicos).

Procedimiento de muestreo con mechas (bacterias patógenas)

- Sumergir la mecha en el punto de muestreo, previamente atando su hilo de nylon en un lugar seguro;
- Dejar la mecha en el lugar por un período de 48 horas o más, según el propósito del estudio;
- Retirar la mecha y colocarla en una bolsa de plástico esterilizada que contenga medio de transporte Cary y Blair (Fig. 6.10);
- Acondicionar y transportar la muestra en una caja térmica, en refrigeración.



Figura 6.10. Acondicionamiento de muestras (mecha) en el medio de transporte Cary y Blair.
Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

6.1.8 Bañabilidad de Playas

La bañabilidad es la calidad del agua utilizada específicamente para recreación de contacto primario o baños de mar. En su evaluación se utilizan criterios microbiológicos de calidad del agua, los cuales se basan en las densidades de microorganismos que indican contaminación fecal a monitorear. Los valores obtenidos se comparan luego con estándares preestablecidos para verificar las condiciones de bañabilidad de un lugar determinado.

La selección de playas a monitorear y sus puntos de muestreo debe considerar los diversos factores que influyen en su bañabilidad. Estos puntos se seleccionan teniendo en cuenta la frecuencia de los bañistas, la fisiografía de la playa y los riesgos de contaminación fecal que puedan existir. Por lo tanto, las playas que forman parte de este tipo de monitoreo generalmente presentan una alta frecuencia de bañistas, además de la ocurrencia de densidad urbana cercana que representa una fuente potencial de contaminación. Playas muy extensas y con ocupación urbana desigualmente distribuida pueden requerir más de un punto de muestreo para evaluar tramos con distintos focos de contaminación.

Las muestras de agua para baño se toman en el lugar considerado más representativo, en la región de aproximadamente 1 m de profundidad, que representa la sección del cuerpo de agua más utilizada para recreación. También se deberá considerar una cierta distancia del área de influencia de cursos de agua posiblemente contaminados, para que las muestras sean representativas de las condiciones de bañabilidad de la playa en su conjunto.

Las condiciones de muestreo desempeñan un papel importante en los resultados del monitoreo de la bañabilidad y deberían ser las que se consideren más críticas. Los muestreos deberán realizarse los días de mayor afluencia de público en las playas, generalmente los domingos, y preferentemente durante la marea baja en el caso de aguas marinas, en las que, en principio, hay mayor aporte y menor dilución de efluentes.

Se recomienda que la frecuencia de muestreo de playas se establezca en función de la época del año, frecuencia de bañistas y tasa de ocupación urbana de las regiones cercanas a la costa. Por lo tanto, las playas más frecuentadas deben ser monitoreadas semanalmente de acuerdo con las normas recomendadas por la Resolución CONAMA n. 274 de 2000 (BRASIL, 2000). Las playas menos frecuentadas que ya estén en proceso de urbanización en sus proximidades podrán ser evaluadas mediante monitoreos mensuales sin, no obstante, clasificarse según los criterios establecidos por la misma resolución. El seguimiento de la evolución de la calidad de estas playas se puede realizar con carácter preventivo y, si se encuentran indicadores de contaminación fecal en cantidades significativas, se deberá realizar un monitoreo semanal.

Durante las temporadas altas (meses de verano y vacaciones escolares), se puede esperar una vigilancia intensificada en las playas con mayores niveles de contaminación.

Procedimiento de muestreo para ensayos microbiológicos en aguas superficiales, para evaluar la bañabilidad de playas interiores y costeras

- El muestreo deberá realizarse en un lugar con mayor frecuencia de bañistas;
- El técnico deberá introducirse en el agua hasta la cintura del bañista;
- Retirar la tapa del frasco, junto con el papel de aluminio protector, teniendo cuidado de evitar su contaminación con los dedos de guantes u otro material (Fig. 6.11);
- Mantener la tapa sobre el frasco al momento del muestreo a una distancia de aproximadamente 10 cm, para evitar contaminar la parte interna de la tapa o cualquier otro material que caiga dentro del frasco;
- Llenar el frasco con la muestra hasta aproximadamente ¾ (tres cuartos) de su volumen, para permitir la homogeneización durante el ensayo en el laboratorio;
- Cerrar inmediatamente el frasco, fijando el papel aluminio protector alrededor de la tapa;
- Acondicionar la muestra en una caja térmica, en refrigeración (cuando sea necesario), para su transporte.



Figura 6.11. Toma de muestras de aguas recreativas (mar) para análisis microbiológicos.
Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

6.1.9 Evaluación de la Calidad Microbiológica de las Arenas de Playas

Una de las dificultades que se enfrentan al evaluar la calidad de la arena es la variabilidad espacial y, en consecuencia, la representatividad espacial de las muestras. Al ser un medio que, a diferencia del agua, no sufre una homogeneización constante, la arena puede presentar mosaicos de contaminación, es decir, la presencia de indicadores de contaminación fecal puede concentrarse en un determinado lugar. Este hecho dificulta la extrapolación de los resultados obtenidos en un tramo de una determinada playa a otros. Además, la representatividad del muestreo depende de algunos factores como el tamaño del área establecida para el muestreo, profundidad, cantidad de muestra, distribución de las muestras a lo largo del tramo de playa, entre otros, por lo que todas estas variables necesitan ser estandarizadas.

En estudios realizados en la Costa de São Paulo, el verano mostró mayor contaminación que en el invierno (PINTO, 2010). Por tanto, para evaluar la situación más crítica se debe dar preferencia al muestreo durante el verano. Además, los estudios también han demostrado que la arena seca tiene concentraciones más altas de indicadores de contaminación fecal en comparación con la arena húmeda.

Para evaluar la calidad microbiológica de estas arenas se pueden utilizar indicadores de contaminación fecal como los coliformes termotolerantes, *E. coli*, enterococos y clostridios, así como otras bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio* spp., *Salmonella* spp., virus como Adenovirus, Enterovirus, entre otros, así como helmintos, protozoos y hongos.

Procedimiento de muestreo de arena para ensayos microbiológicos en arena de playas costeras

- Componer aproximadamente 500 g de muestra de arena en una bolsa esterilizada, utilizando una espátula esterilizada, como se describe a continuación.
- Recolectar 5 porciones de aproximadamente 100 g de arena, provenientes de la capa superficial del suelo (profundidad de hasta 5 cm), en puntos separados aproximadamente 100 m, como se ilustra en la figura 6.12;
- Cerrar la bolsa y colocar la muestra en una caja térmica, en refrigeración, para su transporte.

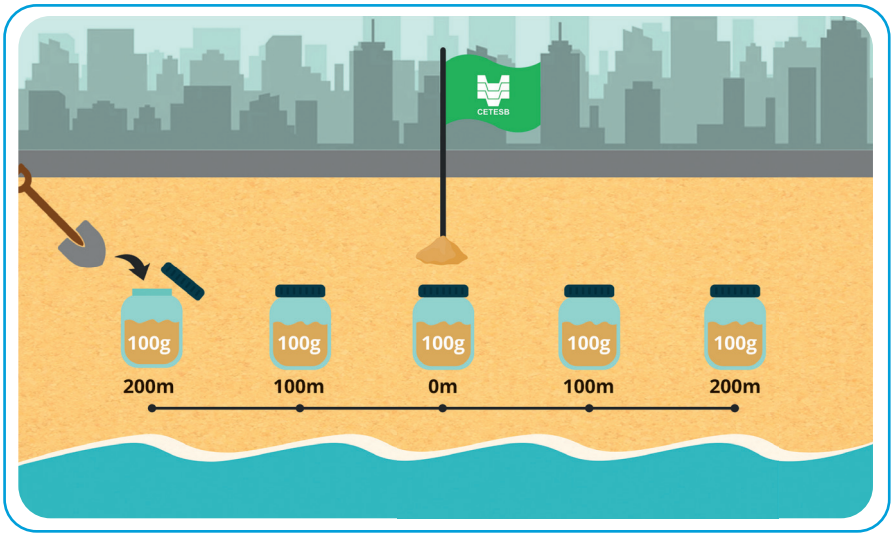


Figura 6.12. Diseño esquemático del procedimiento de muestreo de arena de playas costeras.
Fuente: CETESB, 2021 – Modificado/Banco de imágenes de CETESB.

6.1.10 Comunidades Biológicas

Las comunidades biológicas proporcionan la mejor base para evaluar la integridad ecológica de los ecosistemas acuáticos. Dado que los datos biológicos se generan a partir del muestreo de organismos vivos, que pueden escapar de la captura o presentar un comportamiento migratorio o una distribución espacial heterogénea en el lugar de investigación, el programa de muestreo biológico debe planificarse cuidadosamente para que los resultados tengan aplicabilidad y reflejen con precisión la calidad del hábitat. Cuando se trata de muestrear componentes de flora y/o fauna nativa, es necesario obtener una licencia/autorización para el muestreo de la agencia ambiental federal (IBAMA) o estatal (Secretarías Estatales de Medio Ambiente), dependiendo del propósito del estudio y si el medio ambiente está bajo la jurisdicción de la federación o del estado, o incluso del administrador de la Unidad de Conservación donde pueda ubicarse el lugar de muestreo.

Siempre que sea posible, los lugares de muestreo para el monitoreo biológico (biomonitoreo) o caracterización ecológica deben ser los mismos que los establecidos para estudios químicos, físicos, microbiológicos, etc., de manera que todos los muestreos sean concomitantes. Para efectos de comparar los resultados de los estudios de comunidades biológicas, los puntos de muestreo deben tener condiciones ecológicas similares dentro de un mismo proyecto o programa de monitoreo, tomando en cuenta la distribución espacial del componente biológico en el ecosistema (zonificación) bajo investigación; por ejemplo, deben estar ubicados en la misma región en lagos y embalses (costeros, limnéticos y profundos), o estar en ríos de órdenes similares (1.º, 2.º, 3.º, 4.º orden).

Es importante que se recopilen al mismo tiempo datos relacionados con el entorno físico, como la granulometría de los sedimentos, la transparencia y coloración del agua, la velocidad de la corriente y el caudal del río, el ancho y la profundidad del lecho, tipos de hábitats presentes en el lugar (por ejemplo, proximidad a rápidos, remansos, llanuras aluviales, presencia de macrófitos y cobertura vegetal en las orillas). También se deben observar las condiciones del lugar, como el uso y ocupación del suelo en la cuenca, presencia de desechos industriales y urbanos, piscicultura, actividad minera, entre otras.

Para comparar diferentes puntos de muestreo, también es esencial que se muestreen todos aproximadamente al mismo tiempo. La frecuencia de muestreo depende de la comunidad a analizar, pero si ocurre alguna situación inusual, como descarga o derrame de sustancias químicas, se deben realizar muestreos a intervalos más cortos, con el fin de monitorear la recuperación de las comunidades.

La selección del tamaño de la estación de muestreo está influenciada por los grupos taxonómicos a estudiar y la naturaleza del problema a investigar. Para fitoplancton y macroinvertebrados, un lugar de muestreo adecuado puede abarcar áreas o volúmenes pequeños, mientras que para peces una estación puede extenderse desde 100

m^2 hasta 1000 m^2, dependiendo de la densidad de poblaciones y del territorio habitual de la especie investigada.

El muestreo de comunidades biológicas se puede dividir básicamente en tres tipos, a seleccionar según el objetivo del trabajo o proyecto: cualitativo, semicuantitativo y cuantitativo. El tipo de muestreo define el equipo y el esfuerzo de muestreo necesarios.

El muestreo cualitativo sirve para estudios de comparación espacial y/o temporal, en función del número de grupos taxonómicos de las comunidades evaluadas. En este caso, no hay transformación de los datos en unidades de área o volumen, sino que se debe estandarizar el nivel de identificación taxonómica para fines de comparación.

Las muestras semicuantitativas se pueden obtener de dos formas: a) el esfuerzo de muestreo (estandarizado en el tiempo o el espacio) se mide cuando se utilizan métodos de muestreo cualitativos, o b) se utilizan muestreadores cuantitativos en muestreos no aleatorios y sin réplicas.

El muestreo cuantitativo requiere que las unidades de área o volumen muestreado estén bien definidas, realizándose generalmente réplicas (o unidades de muestreo), teniendo cuidado con el tamaño y distribución de las unidades de muestreo en el área de estudio. Los datos de muestreo cuantitativo se prestan a objetivos más amplios, brindando la posibilidad de estimar abundancias y/o biomasas de organismos, además de la información obtenida por los otros dos tipos de muestreo.

Existen varios estudios que definen el número de réplicas necesarias en relación con la confiabilidad estadística que se desea obtener en el muestreo cuantitativo. En general, las fórmulas se aplican cuando se utilizan datos (media, desviación o error estándar, varianza) de una campaña de muestreo preliminar. Los datos obtenidos son más confiables cuanto más cuidadosamente se define el lugar del muestreo y el número de réplicas (para obtener más información se recomienda consultar Bicudo y Bicudo, 2004 y Merritt et al., 2008).

El plan de muestreo depende de los objetivos del proyecto o programa de monitoreo. Cada caso requiere una metodología específica, tanto de muestreo, como de ensayos e interpretación de datos.

6.1.10.1 Pigmentos Fotosintetizantes (Clorofila a y Feofitina a)

Existen varios métodos para evaluar la biomasa vegetal de un ecosistema acuático. Además de estimar el *standing-stock* contando el número de organismos en un determinado volumen de agua (determinación del fitoplancton, ya sea de agua dulce o marino), la estimación se puede realizar determinando la concentración de pigmentos, especialmente de clorofila *a*. La clorofila *a* es común a todos los grupos de plantas y consiste aproximadamente del 1 al 2% del peso seco de material orgánico en todas las algas planctónicas y, por lo tanto, es un indicador preferido para estimar la biomasa de algas. También proporciona una evaluación del grado de trofia ambiental (grado de enriquecimiento de nutrientes) y de la producción primaria.

Las moléculas de clorofila no son estables y pueden sufrir degradación dependiendo de las condiciones ambientales, como cambios de pH, temperatura y exceso de luz, originando productos conocidos como feopigmentos. La feofitina *a* es producto de la degradación de la clorofila *a* y la relación entre ambas es de gran importancia para indicar el estado fisiológico de la comunidad de fitoplancton. Además, como la feoftina *a* absorbe luz en la misma región del espectro que la clorofila *a*, puede interferir significativamente en las determinaciones de este pigmento, por lo que es importante elegir un método analítico que permita discriminar la concentración de cada uno de estos pigmentos.

A continuación, se describe el procedimiento de muestreo para el ensayo de clorofila, incluidas las precauciones para minimizar estos efectos.

Procedimientos de muestreo

Como los resultados de clorofila *a* y feofitina *a* se obtienen de la misma muestra, es necesario tomar solo una muestra para ambas variables. Las muestras se toman en la superficie, hasta 30 cm de profundidad. Se recomienda enjuagar el frasco con agua del lugar antes de introducir la alícuota que servirá como muestra para análisis. El frasco no debe estar completamente lleno para facilitar la homogeneización de la muestra antes del filtrado.

Las muestras para determinar las concentraciones de clorofila *a* y feofitina *a* se pueden obtener en réplicas, por punto de muestreo, y la distancia entre las réplicas se determina aleatoriamente.

Los recipientes utilizados para almacenar muestras para la determinación de clorofila/ feofitina deben ser de vidrio neutro debido a la sensibilidad de algunas algas y cianobacterias a los ambientes alcalinos. Utilizar vidrios oscuros (frasco ámbar de 1 L) de boca ancha (4 cm aproximadamente), con tapa de rosca. Si se utiliza otro tipo de frasco de vidrio neutro, se debe proteger con una lámina de papel de aluminio para que no haya exposición a la luz, evitando el metabolismo fotosintético, así como la degradación de la molécula de clorofila por exceso de luz. Se deben evitar los frascos de plástico, ya que los organismos del fitoplancton tienden a adherirse a las paredes, provocando pérdidas en las determinaciones.

La muestra se puede filtrar en campo inmediatamente después de ser tomada; si esto no fuera posible, se deberá conservar refrigerada hasta su llegada al laboratorio en un plazo máximo de 48 horas (véase el Anexo 1). Cuando el pH de la muestra sea inferior a 6, o si se considera necesario, se puede conservar la muestra con 2 mL de solución de carbonato de magnesio al 1% (APHA; AWWA; WEF, 2023).

Procedimiento de muestreo para el ensayo de clorofila *a*/ feofitina *a* en aguas superficiales

- Realizar el muestreo aproximadamente a 30 cm por debajo de la lámina de agua. Este muestreo se puede realizar manualmente (sumergiendo el frasco de muestreo, si no se solicitan para otros ensayos), con un balde de acero inoxidable o botella de muestreo de flujo horizontal;
- Distribuir proporcionalmente el volumen en los diferentes frascos destinados para ensayos, especialmente cuando existen ensayos relacionados (nutrientes, fitoplancton y prueba de toxicidad) como forma de garantizar la homogeneidad de la muestra;
- Repetir el procedimiento hasta que todos los frascos contengan el volumen de agua requerido para los ensayos (véase el Apéndice A);
- En el caso del frasco destinado al ensayo de clorofila *a*/ feofitina *a*, llenarlo de manera que quede un espacio que permita homogeneizar la muestra;
- Si la filtración no se puede realizar en el lugar, la muestra debe almacenarse inmediatamente lejos de la luz y transportarse en una caja térmica en refrigeración, sin exceder nunca las 48 horas después del muestreo para la filtración.

Procedimiento de muestreo para ensayo de clorofila *a*/feofitina *a* a profundidad

- Muestrear con botella de profundidad en el estrato de interés. Es importante que el equipo no produzca la suspensión de sedimentos; Para ello, se recomienda muestrear el agua hasta 1 m por encima del fondo, excepto cuando sea de interés el estrato por debajo de 1 m por encima del fondo;
- Desechar el agua contenida en la manguera;
- Distribuir proporcionalmente el volumen en los diferentes frascos destinados para ensayos, especialmente cuando existen ensayos relacionados (nutrientes, fitoplancton y prueba de toxicidad) como forma de garantizar la homogeneidad de la muestra;
- Repetir el procedimiento hasta que todos los frascos contengan el volumen de agua requerido para los ensayos (véase el Apéndice A);
- En el caso de un frasco destinado al ensayo de clorofila *a*/ feofitina *a*, llenarlo de manera que quede un espacio que permita homogeneizar la muestra;
- Si la filtración no se puede realizar en el lugar, la muestra debe almacenarse inmediatamente lejos de la luz y transportarse en una caja térmica en refrigeración, sin exceder nunca las 48 horas después del muestreo para la filtración.

Procedimiento de filtración de muestras para ensayos de clorofila *a*/ feofitina *a* en campo

Materiales:

- Membrana filtrante de fibra de vidrio o celulosa hidrofílica (47 mm de diámetro) con porosidad entre 0,45 µm y 1,0 µm;
- Conjunto de filtración al vacío para membranas de 47 mm de diámetro (Figs. 6.13 y 6.14);
- Pinzas de punta recta, fabricadas en acero inoxidable y borde plano;
- Sobre de papel marrón tipo *kraft* para guardar el filtro con el contenido filtrado;
- Probeta graduada entre 500 mL y 1 L;
- Piseta con agua reactiva;
- Bomba de vacío para filtración a presión (Figs. 6.15 y 6.16);
- Frasco oscuro o envuelto en papel de aluminio que contenga gel de sílice.

Procedimiento:

- Homogeneizar suavemente la muestra unas diez veces antes de iniciar la filtración;
- Utilizar la probeta graduada para transferir la muestra al filtro. Filtrar lo máximo posible, preferiblemente todo el volumen muestreado, y anotar siempre esta información (volumen filtrado). El volumen de agua a filtrar generalmente varía de 0,05 L a 1 L, dependiendo de la concentración de organismos o partículas suspendidas en la muestra. Este proceso no debe exceder los 10 minutos y la muestra debe permanecer protegida de la luz;
- Después de completar la filtración, lavar internamente tanto la probeta utilizada como el portafiltro con agua reactiva;
- Con una pinza, doblar el filtro que contiene el material retenido en él, una sola vez por la mitad, sin que haya contacto manual;
- Guardar el filtro en un sobre que contenga indicaciones del volumen filtrado, identificación de la muestra, punto de muestreo, fecha y otra información necesaria;
- Colocar inmediatamente el sobre con el filtro en un frasco oscuro, o envuelto en papel de aluminio, que contenga gel de sílice;
- Debido a que, a temperatura ambiente y bajo la acción de la luz, las moléculas de clorofila se degradan muy rápidamente, el frasco que contiene las muestras filtradas debe colocarse, inmediatamente después del filtrado, en refrigeración, y mantenerse en estas condiciones hasta el momento de su llegada al laboratorio;
- Transportar el frasco que contiene los filtros al laboratorio de destino, en refrigeración, en una caja térmica con hielo. Si la muestra tarda más de 48 horas en llegar al laboratorio, este frasco deberá mantenerse congelado en un congelador hasta el momento de su transporte.



Figura 6.13. Sistema portafiltros para filtrar muestras para ensayo de Clorofila *a* y Feofitina *a* en el laboratorio.

Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

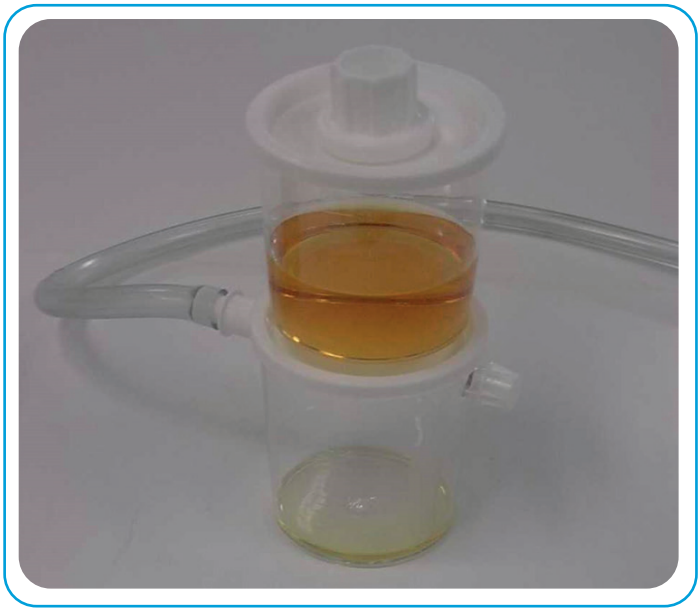


Figura 6.14. Sistema portafiltros para filtrar muestras para ensayo de Clorofila *a* y Feofitina *a* en campo.

Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

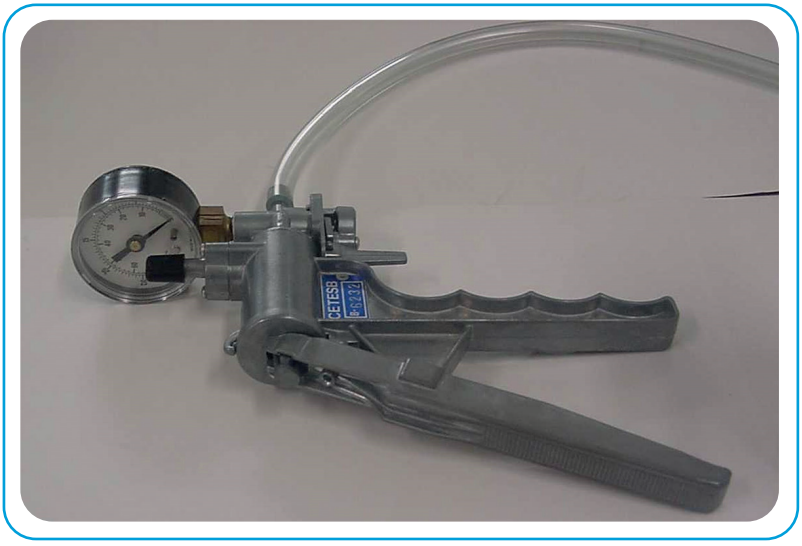


Figura 6.15. Bomba de vacío manual para campo.

Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.



Figura 6.16. Bomba de vacío eléctrica de mesón.
Foto: Renan Lourenço de O. Silva/Banco de imágenes de CETESB.

6.1.10.2 Comunidad Fitoplanctónica

El término fitoplancton se refiere a la comunidad de organismos fotosintéticos microscópicos que viven en suspensión en diferentes capas de agua.

La adopción de técnicas estandarizadas constituye uno de los requisitos básicos en los estudios cuantitativos y cualitativos de la comunidad fitoplanctónica. La planificación del muestreo dependerá de los objetivos a alcanzar, el esfuerzo requerido y las condiciones espaciales locales. Sin embargo, algunas recomendaciones son sumamente importantes y siempre deben tenerse en cuenta, como la variabilidad del sistema a estudiar, que refleja la distribución espacial, vertical y horizontal del fitoplancton, la frecuencia y aspectos temporales relacionados con las características ambientales en diferentes épocas del año.

Es fundamental obtener muestras representativas de la comunidad, ya sea utilizando dispositivos sofisticados o adaptando dispositivos más simplificados. El número de unidades de muestreo a tomar, según Huszar y Giani (2004), depende de los objetivos establecidos en cada investigación. Los procedimientos estadísticos para medir la variabilidad del muestreo se basan en mediciones de la variabilidad interna de las muestras en relación con la variabilidad entre unidades de muestreo. El muestreo de réplicas es el enfoque estadístico más apropiado, ya que proporciona una medición directa del error de muestreo, además de facilitar la mayoría de los análisis estadísticos. Sin embargo, el gran número de unidades de muestreo puede hacer que el trabajo sea inviable. Según lo informado por las autoras, una alternativa sería establecer la relación teórica entre la varianza y la media de los atributos medidos (densidad, biomasa, entre otros) entre las unidades de muestreo, utilizando el coeficiente de variación.

La comunidad de fitoplancton, en general, no es muy abundante en ambientes pobres en nutrientes (oligotróficos). Sin embargo, puede estar bien representada por organismos de varios grupos. En ambientes ricos en nutrientes (eutróficos), la comunidad es generalmente abundante con presencia de especies pertenecientes a un solo grupo. La principal consecuencia de la eutrofización es la proliferación excesiva de algas y cianobacterias, fenómeno conocido como floración o *bloom*, siendo las cianobacterias los organismos más frecuentes en floraciones en aguas continentales (Fig. 6.17). Estos microorganismos pueden producir toxinas muy potentes, conocidas como cianotoxinas, que pueden tener efectos neurotóxicos, hepatotóxicos o dermatotóxicos.



Figura 6.17. Floración (*bloom*) de cianobacterias en el Embalse Billings – São Paulo/SP: (A) Proliferación excesiva de cianobacterias; (B) Disco de Secchi cubierto por algas y cianobacterias.
Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

Otros factores influyen en la composición y distribución de la comunidad de fitoplancton , además de la cantidad de nutrientes en el agua, como por ejemplo: viento, corriente, estratificación, circulación, hora del día, profundidad de penetración de la luz, intensidad de la luz, estación del año, presencia de material tóxico, entre otros.

Procedimientos de Muestreo de Fitoplancton

El muestreo para ensayo de fitoplancton se puede realizar de varias maneras, según el objetivo del estudio. Por ejemplo, para evaluar la variabilidad espacial, es necesario realizar un muestreo en varios puntos de un cuerpo de agua. Para evaluar la variabilidad vertical se utilizan tomas de agua desde varias profundidades. El conocimiento de la variabilidad temporal se puede obtener a partir de muestreos realizados a lo largo de días, meses y años.

Cuando el muestreo se realiza en la superficie, es posible que las muestras sean del tipo simple, integrada o en réplica (véase el Capítulo 3). A lo largo de la columna de agua se pueden realizar muestreos simples a varias profundidades para ser analizados individualmente o se pueden realizar diferentes estrategias de integración de muestras.

Cuando hay poca luz, como, por ejemplo, a primeras horas de la mañana, las cianobacterias tienden a permanecer muy cerca de la superficie. Cuando hay mucha luz, también hay mucha radiación y, para proteger su aparato celular, ellas pueden regular su posición en la columna de agua. En este caso, un análisis integrado de la columna de agua puede ser una buena estrategia.

Se recomienda que en el muestreo rutinario para programas de monitoreo el muestreo se realice a una profundidad estandarizada y, si es posible, a la misma hora del día. Es importante resaltar que dentro del grupo de las cianobacterias existen especies que tienen aerótopos, las cuales pueden migrar en la columna de agua según la intensidad de la luz. Esta característica es importante especialmente en muestreos de agua recolectada para consumo humano, en las que se debe considerar la altura de la toma de agua, así como la integración de datos de toda la columna de agua.

El muestreo también debe considerar el tipo de análisis a realizar, para ello existen diferentes metodologías de muestreo para ensayos cualitativos y cuantitativos.

a) Muestreo para ensayos cuantitativos

Para los ensayos cuantitativos, en los que se realiza la identificación y cuantificación de organismos, es necesario muestrear volúmenes conocidos, que pueden realizarse en superficie, a profundidad o mediante muestras integradas.

Procedimiento de muestreo para ensayos de fitoplancton en aguas superficiales.

- Realizar el muestreo aproximadamente a 30 cm por debajo de la lámina de agua. Este muestreo se puede realizar manualmente (sumergiendo el frasco de muestreo, si no se solicitan para otros ensayos), con un balde de acero inoxidable o botella de muestreo de flujo horizontal;
- Distribuir proporcionalmente el volumen en los diferentes frascos destinados para ensayos, especialmente cuando existen ensayos relacionados (nutrientes, clorofila y prueba de toxicidad) como forma de garantizar la homogeneidad de la muestra;
- Repetir el procedimiento hasta que todos los frascos contengan el volumen de agua requerido para los ensayos (véase el Apéndice A);
- En el caso del frasco destinado al ensayo de clorofila *a*/ feofitina *a*, llenarlo de manera que quede un espacio que permita homogeneizar la muestra;
- Mantener la muestra refrigerada y protegida de la luz. Si la muestra no puede llegar al laboratorio en 24 horas, se debe conservar en campo (con Lugol o formol), procurando mantener una alícuota en un frasco más pequeño (100 mL) refrigerada, para observar el material vivo.

NOTA: **Procedimiento para la toma de muestras de floración de cianobacterias -** Cuando se forme "nata" superficial en el punto de muestreo, proceder como se describe más arriba, teniendo cuidado al colocar el balde o frasco en el agua, para no mover demasiado la masa flotante. Distribuir alícuotas de la misma toma de muestra en los diferentes frascos.

Procedimiento de muestreo para ensayos de fitoplancton a profundidad.

- Muestrear con botella de profundidad en el estrato de interés. Es importante que el equipo no produzca la suspensión de sedimentos; Para ello, se recomienda muestrear el agua hasta 1 m por encima del fondo, excepto cuando sea de interés el estrato por debajo de 1 m por encima del fondo (Fig.
- Desechar el agua contenida en la manguera;
- Distribuir proporcionalmente el volumen en los diferentes frascos destinados para ensayos, especialmente cuando existen ensayos relacionados (nutrientes, clorofila y prueba de toxicidad) como forma de garantizar la homogeneidad de la muestra;
- Repetir el procedimiento hasta que todos los frascos contengan el volumen de agua requerido para los ensayos (véase el Apéndice A);
- En el caso del frasco destinado al ensayo de fitoplancton, llenarlo de manera que quede un espacio que permita homogeneizar la muestra;
- Mantener la muestra refrigerada y protegida de la luz. Si la muestra no puede llegar al laboratorio en 24 horas, se debe conservar en campo (con Lugol o formol), procurando mantener una alícuota en un frasco más pequeño (100 mL) refrigerada, para observar el material vivo.

b) Muestreo para ensayos cualitativos

Para los ensayos cualitativos, en los que se identifican, pero no se cuantifican los organismos, generalmente se utilizan redes de plancton, utilizando redes de arrastre horizontales, verticales u oblicuos, como se ejemplifica en la Figura 6.18, siendo los dos primeros tipos de arrastre los más utilizados.

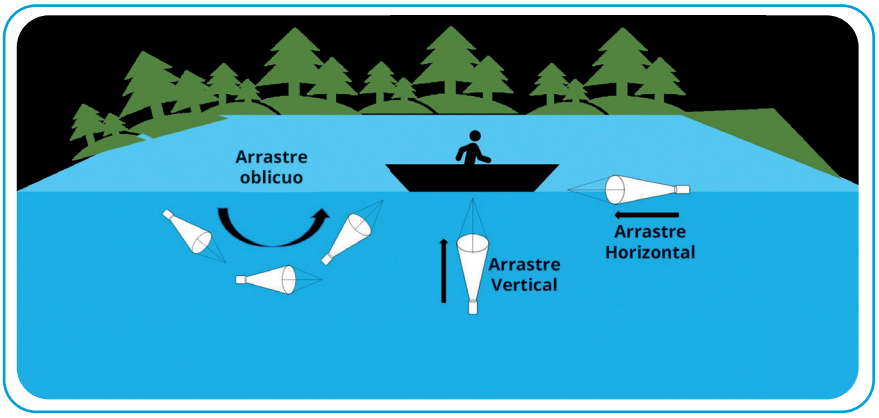


Figura 6.18. Ilustración de los tipos de muestreo de fitoplancton con red.
Fuente: BRASIL, 2015 – Modificado/Banco de imágenes de CETESB.

Existen varios tipos de redes disponibles, siendo la más adecuada para estudiar el fitoplancton la malla de nylon con una apertura de 20 a 45 µm. Se recomiendan redes largas y de boca ancha, que permiten una mayor área de filtración. Es importante resaltar que el muestreo con redes no permite una cuantificación precisa del fitoplancton. Además, algunas especies muy pequeñas (nanoplancton) no quedan retenidas en el vaso, por lo que es imposible conocer la comunidad total.

La principal ventaja del uso de redes de plancton es la posibilidad de filtrar grandes volúmenes de agua, con el fin de permitir el análisis e identificación de especies raras, que normalmente no se detectan en las muestras de fitoplancton total obtenidas con muestreadores puntuales.

Procedimiento de muestreo horizontal para ensayo de fitoplancton con red.

Atar una cuerda al extremo de la red;

- Luego, se sumerge la red en el agua hasta una profundidad de 30 cm;
- Con una embarcación, se realiza un arrastre en la superficie por un período de tiempo determinado, cuidando de evitar la zona de turbulencia provocada por el movimiento de la embarcación;
- La muestra retenida en el vaso de red se transfiere a un frasco (Apéndice A). Con una piseta de agua reactiva, lavar el vaso desde afuera hacia adentro para retirar el material adherido al mismo;
- Mantener la muestra refrigerada y protegida de la luz. Si la muestra no puede llegar al laboratorio en 24 horas, se debe conservar en campo (con Lugol o formol). Si es posible, mantener una alícuota en un frasco más pequeño (100 ml) refrigerada para observar el material vivo.

Procedimientos de muestreo vertical para el ensayo de fitoplancton con red.

- Atar una cuerda al extremo de la red;
- Sumergir la red en el agua a la profundidad deseada, evitando que la red golpee el fondo, lo que resuspendería el sedimento y contaminaría la muestra;
- Suspender la red lentamente hasta la superficie;
- La muestra retenida en el vaso de red se transfiere a un frasco (Apéndice A). Con una piseta de agua reactiva, lavar el vaso de afuera hacia adentro, como una forma de retirar el material adherido al mismo;
- Si se necesita una cantidad mayor de organismos fitoplanctónicos, repetir el procedimiento descrito en los ítems anteriores;
- Mantener la muestra refrigerada y protegida de la luz. Si la muestra no puede llegar al laboratorio en 24 horas, se debe conservar en campo (con Lugol o formol), procurando mantener una alícuota en un frasco más pequeño (100 mL) refrigerada, para observar el material vivo.

Para muestreos en lugares donde hay indicios de floraciones, por ejemplo, de cianobacterias y dinoflagelados, es importante tener en cuenta que estos organismos pueden tener la capacidad de ajustarse en la columna de agua conforme a sus necesidades fisiológicas, ya que poseen aerótopos (vesículas de aire) y flagelos, respectivamente (Figura 6.19).

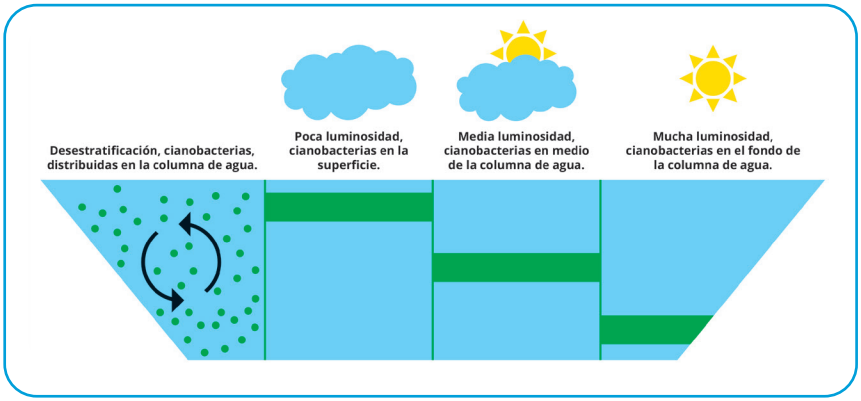


Figura 6.19. Ilustración de posibles escenarios en lugares con signos de floración de cianobacterias.

Fuente: CHORUS; WELKER, 2021 – Modificado /Banco de imágenes de CETESB.

Procedimiento de muestreo para ensayos de Cianotoxinas

- El muestreo para la determinación de cianotoxinas deberá realizarse, en general, con base en el procedimiento de toma de muestras para ensayos de fitoplancton en aguas superficiales;
- El frasco y la conservación dependerán del método de ensayo (véase el Apéndice A);
- Acondicionar y transportar la muestra en una caja térmica, en refrigeración.

NOTA 1: En situaciones de floración, se sugiere muestrear solo la "nata".

NOTA2: Cuando no hay presencia de "nata", se puede realizar el arrastre (vertical y/u horizontal) con red, tratando de concentrar la mayor cantidad de organismos.

c) Conservación de muestras

La elección y uso correcto de los conservantes es de fundamental importancia, ya que estos reactivos pueden interferir en el recuento y clasificación de organismos debido a cambios provocados en el medio ambiente.

Los dos reactivos que más se han utilizado en la conservación del fitoplancton (algas y cianobacterias) son las soluciones de Lugol y el formol neutralizado.

La solución de Lugol se utiliza en una concentración de 0,3 a 0,5 mL/100 mL de muestra para ambientes oligotróficos y de 0,5 a 1,0 mL/100 mL de muestra para ambientes eutróficos. El Lugol tiene la

ventaja de facilitar la sedimentación de los organismos en la cámara de recuento y permitir una mejor conservación de las células flageladas. Sin embargo, puede cambiar el color de los organismos, colapsar los aerótopos e impedir la detección de fluorescencia en el material fijado. La conservación de las muestras con formol se realiza utilizando una solución de formol neutralizado de modo que la concentración final en la muestra esté entre el 5 y el 10%. Por ejemplo, al agregar 50 mL de formol neutralizado a un litro de muestra, se obtiene una concentración final del 5% en la muestra. El formol tiene la ventaja de una mayor duración de su efecto (hasta 5 años) y no cambia el color de los organismos. Sin embargo, provoca la caída de los flagelos, dificultando la identificación taxonómica de algunas algas, y debe usarse con el debido cuidado, ya que puede resultar tóxico para el analista.

6.1.10.3 Comunidad Perifítica

El perifiton se define como una microbiota compleja formada por algas, bacterias, hongos y animales adheridos a sustratos orgánicos vivos o muertos o inorgánicos (WETZEL, 1983). El perifiton se clasifica, según el tipo de sustrato que coloniza, en epifiton (crece adherido a las plantas), epipelon (crece adherido a la superficie del sedimento), epiliton (crece adherido a piedras o superficies rocosas), episamon (crece adherido a granos de arena), epixilon (crece adherido a la madera) y epizoon (crece adherido a los animales) (FERNANDES; ESTEVES, 2011, SCHWARZBOLD; BURLIGA; TORGAN, 2013, WETZEL, 2001).

Las comunidades perifíticas desempeñan un papel importante en el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos, ya que actúan en el ciclo de nutrientes, el flujo de energía y la cadena alimentaria (BIGGS; KILROY, 2000, RODRIGUES; BICUDO; MOSCHINI-CARLOS, 2003, STEINMAN, 2002, VADEBONCOEUR et al., 2001). El perifiton es un importante productor primario en ambientes lénticos (VADEBONCOEUR; LODGE; CARPENTER, 2001) y lóticos (DAVIES; BUNN; HAMILTON, 2008, HILL; WEBSTER, 1982).

Los organismos perifíticos colonizan muchos hábitats fluviales y lacustres y se utilizan como indicadores biológicos para la caracterización y el monitoreo ambiental (BARBOUR, 1999, DENICOLA; KELLY, 2014), tanto en agua dulce como en el medio marino. La comunidad perifítica se puede utilizar para detectar signos tempranos de eutrofización, ya que proporciona una indicación sensible del enriquecimiento por nutrientes (GAISER et al., 2006), para establecer objetivos de recuperación (MCCORMICK; STEVENSON, 1998) y desarrollar índices multimétricos de integridad biótica (HILL et al., 2000). Además, los estudios han demostrado el potencial del perifiton para usarse como herramienta para eliminar fósforo de ambientes eutróficos (DODDS, 2003; WU et al., 2014).

Las características que hacen de la comunidad perifítica un buen indicador de la calidad del agua incluyen:

- Amplia ocurrencia y distribución;
- Hábito sésil que permite a la comunidad responder a los cambios ambientales (LOWE; PAN, 1996);
- Ciclo de vida corto y rápida tasa de reproducción de sus componentes, especialmente algas y bacterias, que responden rápidamente a los cambios ambientales (LOWE; PAN, 1996);
- Datos disponibles sobre autoecología y límites de tolerancia de algunos organismos perifíticos, como las diatomeas (LECOINTE; COSTE; PRYGIEL, 1993);
- Propiedades químicas de la matriz, principalmente la sustancia polimérica extracelular (EPS) producida por algas y bacterias, que favorecen la adsorción y acumulación de diversas sustancias, como agroquímicos (DDT, Dieldrín, atrazina), metales (Cd, Cu, Ni, Pb, Fe) y nutrientes (N y P) (LOCK et al., 1984, RIMET; BOUCHEZ 2011);
- Métodos de muestreo simples y relativamente estandarizados (APHA; AWWA; WEF, 2023, BARBOUR, 1999, SCHWARZBOLD; BURLIGA; TORGAN, 2013).

Los estudios de perifiton de aguas continentales pueden incluir toda la comunidad de algas (DUNCK; NOGUEIRA; FELISBERTO, 2013) o partes de esta, como las diatomeas (DELA-CRUZ et al., 2006, LOBO et al., 2015). Además, la estructura comunitaria se puede evaluar a través de grupos o rasgos funcionales (ALGARTE et al., 2014, FERRAGUT; BICUDO, 2011), que también responden a la variación ambiental.

Numerosos estudios han evaluado la comunidad perifítica utilizando métodos con diferentes sustratos artificiales y naturales, demostrando que esta puede ser representativa de las condiciones ambientales (RODRIGUES; BICUDO, 2001, SLÁDECKOVÁ, 1962, VADEBONCOEUR et al., 2006).

Los métodos de muestreo de perifiton se pueden clasificar en:

- Manual de sustratos naturales – muestrear parte o la totalidad del sustrato natural (hojas, ramas, piedras);
- Con delimitador de sustrato natural – muestrear el material de un área delimitada, raspando el sustrato natural, por ejemplo, utilizando un perifitómetro con un cepillo;
- Con sustrato artificial - muestrear raspando el material adherido al sustrato artificial, como las láminas de vidrio colocadas en posición vertical con respecto a la superficie del agua (lo que minimiza la sedimentación del material particulado) para la colonización, permite tomar muestras sin destruir ni perturbar el microambiente.

Cualquiera de estos métodos se puede utilizar para el muestreo cuantitativo, sin embargo, se debe conocer el área muestreada. Además, la comparación del perifiton entre puntos debe ser cuidadosa y tener en cuenta todos los factores que influyen en el crecimiento del perifiton en los ambientes a estudiar. El tipo de sustrato y su complejidad estructural deben ser considerados en estudios comparativos. Cuando se utilizan sustratos artificiales, es importante estandarizar el tiempo

de exposición, ya que la estructura de la comunidad cambia con el tiempo de colonización.

a) Cuidado y Preparación del Muestreo

Para prepararse para el muestreo, es necesario evaluar los sustratos naturales disponibles en el ambiente en estudio, comparando la facilidad de muestreo, la constancia de ocurrencia en todos los puntos de muestreo, así como evaluar la posibilidad de utilizar el mismo equipo para dicho muestreo.

Los sustratos naturales deben estar estandarizados, en la medida de lo posible, en cuanto al tamaño de las piedras, el tipo de hojas (forma, rugosidad y desarrollo – maduras, pero no senescentes) y ramas (en términos de grosor, forma y rugosidad).

En el caso de utilizar sustratos artificiales, se recomienda que los mismos se instalen en el lugar antes del muestreo en sí para la prueba del tiempo de colonización.

Un procedimiento común para cualquier metodología de muestreo de perifiton es el cálculo del área raspada/muestreada, que permite expresar los resultados como el número de individuos por área (por ejemplo, ind/cm2). La exactitud de los resultados depende de la precisión de las mediciones, que deben ser lo más precisas posible. Las medidas se pueden obtener manualmente con una regla o calibre o analizando imágenes del sustrato mediante un software específico. En el caso de sustratos con alta complejidad estructural, la densidad y biomasa de los organismos perifíticos se puede expresar por unidad de masa (ind/g).

Otra precaución que debe ser común a cualquier metodología es la limpieza de accesorios, dispositivos y equipos entre muestreos de réplicas y especialmente entre puntos, para evitar la contaminación de las muestras. Esta limpieza se debe realizar preferentemente con agua reactiva para evitar la recolección de otros organismos, como los planctónicos.

A continuación, se describen procedimientos de recolección de perifiton en sustratos naturales (hojas, ramas y piedras) y artificiales (flotador con láminas de vidrio). La elección de los sustratos depende de su disponibilidad en el lugar, del tiempo y presupuesto disponibles y, principalmente, del objetivo del estudio. Estas metodologías de recolección, así como la metodología de análisis, fueron descritas por varios autores (CETESB, 2002, 2005, OLIVEIRA; RIBEIRO DE SOUZA; BEYRUTH, 2003, RIBEIRO DE SOUZA; AGUJARO; OLIVEIRA, 2003).

b) Procedimientos de Muestreo

Procedimiento de muestreo para ensayos de perifiton en sustratos naturales (hojas, ramas, piedras pequeñas)

- Evaluar la disponibilidad de sustratos en el lugar de muestreo, considerando la inmersión (evitándose sustratos expuestos a la desecación) y estandarización de réplicas (optándose por los sustratos más semejantes en textura y tamaño). Para estudios ecológicos, se debe considerar la aleatoriedad del muestreo y la obtención de al menos tres réplicas de cada sustrato (Fig. 6.20 y 6.21);
- Cortar ramas y hojas seleccionadas con ayuda de tijeras, que se deben lavar con agua reactiva después de la recolección de cada réplica;
- Colocar el material recolectado en bandeja, con el lado a raspar hacia arriba para evitar la pérdida del material perifítico (Fig. 6.22 y 6.23);
- Raspar el sustrato con un pincel suave, "lavando" el material raspado con agua reactiva para el frasco de muestra con ayuda de una piseta. Registrar el volumen de agua utilizado. En el caso de las piedras y las hojas, raspar solo la parte superior y sumergida en el agua (Fig. 6,24);
- Homogeneizar la muestra y, si es necesario, el análisis de clorofila *a* conjunto, dividir en dos alícuotas, una para el análisis de clorofila *a* y la otra para el análisis de la comunidad;
- Preservar conforme al Apéndice A;
- Medir longitud y diámetro de las ramas, con ayuda de regla y calibrador (el área de las ramas se calcula mediante aproximación de la figura geométrica más próxima);
- Dibujar en papel vegetal, con lápiz, el contorno de las hojas y piedras raspadas. Los dibujos serán usados posteriormente para medir el área, con medidor de área foliar. Las mediciones de área permiten la expresión de los resultados en organismos/cm^2 (Figs. 6.25, 6.26 y 6.27).



Figura 6.20. Selección de sustrato.

Foto: Rita Cerqueira Ribeiro de Souza/Banco de imágenes de CETESB.



Figura 6.21. Detalle de la selección de hojas y ramas: (A) Pecíolo de ninfea colonizado por el perifiton; (B) Detalle de la selección y cuidadosa recolección de ramas y hojas.

Foto: (A) Carla Ferragut/IPA; (B) Laboratorio de Ecología Acuática/IPA /Banco de imágenes de CETESB.



Figura 6.22. Cortes de las ramas y hojas seleccionadas.
Foto: Marcia Janete Coelho Botelho/Banco de imágenes de CETESB.



Figura 6.23. Selección de ramas y hojas: (A) Material perifítico recolectado de macrófitos acuáticos (*Nymphaea* sp.); (B) Macrófitos en bandeja para posterior remoción del material perifítico y análisis.
Foto: Laboratorio de Ecología Acuática/IPA/Banco de imágenes de CETESB.



Figura 6.24. Raspado del sustrato natural con pincel suave.

Foto: Rita Cerqueira Ribeiro de Souza/Banco de imágenes de CETESB.



Figura 6.25. Dibujo manual de las hojas y ramas.

Foto: Rita Cerqueira Ribeiro de Souza/Banco de imágenes de CETESB.



Figura 6.26. Calibrador utilizado para medir la longitud y el diámetro de las ramas y tamaño de las hojas.

Foto: Rita Cerqueira Ribeiro de Souza/Banco de imágenes de CETESB.



Figura 6.27. Medición del diámetro de las ramas.

Foto: Helena Mitiko Watanabe/Banco de imágenes de CETESB.

En ríos y arroyos poco profundos donde hay piedras grandes que no se puedan mover, la recolección del perifiton puede ser realizada con diferentes tipos de perifitómetros (BIGGS; KILROY, 2000).

Procedimiento de recolección para el ensayo de perifiton en sustrato natural consolidado (piedras demasiado grandes para ser movidas) con perifitómetro de cepillo

- Seleccionar las piedras a ser muestreadas, considerando que para estudios ecológicos el muestreo aleatorio es fundamental;
- Colocar la goma de la parte inferior del equipo contra la piedra, en el lugar más plano posible, evitando que el agua entre o salga de dentro del tubo (Fig. 6.28a);
- Cepillar toda la superficie delimitada por el equipo, procurando retirar todo el perifiton sin usar demasiada fuerza para no dañar los organismos (Fig. 6.28b);
- Colocar el extremo con la manguera libre en el frasco de muestreo;
- Levantar la manguera con la pera en la extremidad y bombear hasta que toda el agua y el perifiton raspado hayan sido transferidos del interior del equipo al frasco de muestra;
- Preservar conforme al Apéndice A.



Figura 6.28. Toma de muestras del perifiton con perifitómetro de cepillo, modificado por VIS: (A) Introducción del muestreador en el lugar seleccionado; (B) Extracción del perifiton con el cepillo.
Fotos: Rita Cerqueira Ribeiro de Souza/Banco de imágenes de CETESB.

Los sustratos artificiales sobre flotadores o suportes sumergidos con láminas de vidrio se pueden utilizar en ríos, arroyos o embalses donde exista una protección razonable contra el vandalismo.

Las láminas de vidrio, como cualquier tipo de sustrato artificial, deben permanecer totalmente sumergidas en el agua para evitar la desecación y la fotoinhibición. Si es posible, el sustrato artificial se debe

colocar entre 10 y 15 cm de profundidad con las láminas encajadas en la posición vertical con respecto a la superficie del agua.

Existe un consenso mundial de que las láminas de vidrio (por ejemplo, láminas usadas en el microscopio) son excelentes sustratos artificiales para la colonización del perifiton, ya que tienen bajo costo, buena adherencia y colonización del perifiton, facilidad de remoción del biofilm adherido y fácil delimitación del área y volumen. Según Pompeo y Moschini-Carlos (2003), los tubos de vidrio cilíndricos también son excelentes sustratos para colonización del perifiton.

Procedimiento de recolección para ensayos de perifiton en sustrato artificial

- Seleccionar el lugar para instalación del sustrato artificial, evitando la exposición y acceso de extraños y determinar punto de fijación;
- Fijar o mantener la flotabilidad del sustrato artificial en un lugar georreferenciado;
- Dejar los sustratos artificiales para la colonización del perifiton en el lugar por el tiempo predeterminado, que depende del objetivo del estudio, usualmente de 15 a 30 días (Fig. 6.29a);
- Después del tiempo definido, retirar el equipo y colocarlo en bandeja u otro recipiente con tapa (Fig. 6.29b);
- Seleccionar aleatoriamente las láminas y extraer el perifiton del sustrato por medio de un raspado con pincel suave o cuchilla de acero, seguido de lavado con agua reactiva en el frasco de muestra;
- Preservar conforme al Apéndice A.

NOTA: La extracción del perifiton y preparación de las alícuotas para análisis pueden ser realizadas en laboratorio. En este caso, dependiendo del análisis, la lámina se debe colocar sin raspado directamente en el frasco de muestreo y debe ser preservada, o transportada protegida de la luz (en la oscuridad) y refrigerada sin preservación, hasta el laboratorio.



Figura 6.29. Recolección de muestras de perifiton: (A) Soporte que contiene láminas de vidrio colonizadas por el perifiton; (B) Ejemplo de cajas envueltas con papel aluminio y con tapa para proteger el material perifítico de la luz.
Fotos: Laboratorio de Ecología Acuática/IPA/Banco de imágenes de CETESB.

c) Fijación y Preservación de Muestras de Perifiton

Existen varios procesos y productos que pueden ser utilizados en la fijación y conservación del perifiton (APHA; AWWA; WEF, 2023, BICUDO; MENEZES, 2017):

- Congelación: es una forma de preservación utilizada para analizar la biomasa, la composición de diatomáceas y la abundancia semicuantitativa de taxones, como las clorofíceas y cianobacterias. Este es el único método práctico para la preservación de grandes muestras para el análisis de biomasa;
- Solución de formol del 4 al 10% neutralizado: usada para la preservación de muestras pequeñas o submuestras para análisis cuantitativo y composición taxonómica (cualitativa); la concentración de formaldehído depende del componente perifítico a analizar;
- Lugol acético al 5%: se utiliza para la preservación de muestras para análisis cuantitativo de algas perifíticas.

6.1.10.4 Comunidad Zooplanctónica

Los organismos zooplanctónicos son aquellos que viven en suspensión debido a su limitada capacidad de desplazamiento; pueden ocupar toda la columna de agua, desde la superficie hasta grandes profundidades. La mayoría de los invertebrados está representada en el zooplancton, ya sea como adultos, larvas, o ambos, así como el ictioplancton, en forma de huevos y larvas de peces (vertebrados), y pueden ocupar diferentes niveles tróficos. Algunos de los organismos permanecen en el ambiente planctónico durante todo su ciclo de vida (holoplancton), otros, solo una parte del mismo (meroplancton), como las larvas de diferentes grupos (poliquetos, crustáceos, insectos y peces). Se encuentran en prácticamente todos los ambientes acuáticos, como lagos, charcas, lagunas, desembocaduras, océanos y ríos.

Los organismos que componen el zooplancton presentan una distribución horizontal y vertical heterogénea, difiriendo los

movimientos verticales en respuesta a diversos estímulos, como el alimento, la reproducción, la luminosidad, las corrientes y la temperatura (estratificación térmica).

EL tamaño de los organismos zooplanctónicos generalmente varia desde unos pocos micrómetros hasta más de 20 mm e incluyen protozoos, rotíferos, copépodos, cladóceros y otros invertebrados (Tab. 6.1).

GRUPO	LÍMITES DE TAMAÑO	PRINCIPALES ORGANISMOS
ULTRANANOPLANCTON O PICOPLANCTON	<2 mm	Bacterias libres
NANOPLANCTON	2-20 mm	Pequeños flagelados, ciliados y algunos rotíferos
MICROPLANCTON	20-200 mm	Foraminíferos, ciliados, flagelados, rotíferos, cladóceros y copépodos
MESOPLANCTON	200 mm -2 mm	Cladóceros, copépodos, quetognatos y larváceos
MACROPLANCTON	2-20 mm	Pterópodos, copépodos, eufausiáceos y quetognatos
MICRONECTÓN	20-200 mm	Cefalópodos, eufausiáceos, sergéstidos y mictófidos
MEGALOPLANCTON	>200mm	Escifozoos, taliáceos

Tabla 6.1. Clasificación del zooplancton en función del tamaño de los organismos.
Fuente: OMORI; IKEDA (1984) - Cambiado.

La comunidad de zooplancton responde rápidamente a las alteraciones ambientales debido al corto ciclo de vida de los organismos, por lo que pueden ser utilizados como indicadores de la calidad del agua, y la interpretación de sus resultados debe ser realizada juntamente con otros datos biológicos, físicos y químicos, recolectados simultáneamente. Se han desarrollado muchos aparatos de toma de muestras esa comunidad en función, principalmente, de la variabilidad en la distribución del zooplancton, de la diversidad de ambientes y de la capacidad de fuga y escape de los organismos del zooplancton y, por lo tanto, no hay un método

que recolecte toda la variedad de grupos. En la tabla 6.2 se encuentran algunas recomendaciones para la elección del aparato de muestreo.

EQUIPOS	MUESTRAS PUNTUALES	MUESTRAS INTEGRADAS HORIZONTALMENTE	MUESTRAS INTEGRADAS VERTICALMENTE		MUESTRAS EN VEGETACIÓN ACUÁTICA
			AGUAS PELÁGICAS O PROFUNDAS	AGUAS COSTERAS O POCO PROFUNDAS	
BOTELLAS	+	-	-	+	++
TRAMPAS	++	+	-	++	++
BOMBAS	++	+	+	++	++
REDES	-	++	++	+	-

Tabla 6.2. Recomendaciones para la selección del equipo de muestreo de zooplancton en diferentes ambientes: (-) poco recomendado; (+) recomendado; (++) muy recomendado.

Como la distribución del zooplancton generalmente es agregada y durante la recolección ocurre fuga y escape de los organismos, es necesario aumentar el volumen recolectado por muestra o adicionar réplicas (o ambos). A pesar de no existir definición en cuanto al volumen mínimo a muestrear, ya que depende de la finalidad de la investigación, se sabe que, en ambientes oligotróficos, estuarinos y costeros, es necesario recolectar un volumen mucho mayor (generalmente cientos de litros) que en ambientes eutróficos donde la concentración de zooplancton frecuentemente es alta. Se recomienda recolectar un volumen mínimo, por réplica, de 100 L para el zooplancton de agua dulce (rotíferos, cladóceros y copépodos) y de 5 m^3 para el zooplancton costero/estuarino y la obtención de al menos dos réplicas en cada punto de recolección. En relación con los protozoarios de vida libre (protozooplancton), para la recolección de tecamebas (amebas testáceas) se recomienda la filtración de un volumen de 50 L, y para ciliados y flagelados heterotróficos la toma de 150 a 250 mL de agua con ayuda de una botella de profundidad, con la concentración de organismos realizada en laboratorio.

Una vez establecido el procedimiento y el equipo de recolección, es muy importante que estos no sean alterados a lo largo del estudio,

con el fin de posibilitar la comparación de los resultados. Ante la necesidad de información adicional, se debe complementar con otro tipo más de muestreo.

A continuación, serán descritos los procedimientos para los muestreos más rutinariamente empleados, sin mencionar técnicas bioacústicas y de observación *in situ*. Se pueden encontrar más detalles sobre el muestreo de zooplancton en APHA, AWWA y WEF (2023), Boltovskoy (1981), De Bernardi (1984), Omori y Ikeda (1984), Pinto-Coelho (2004) y UNESCO (1968).

a) Procedimientos de Muestreo con Botellas y Trampas

La botella tipo Van Dorn es la más utilizada, sin embargo, existen otros tipos de botellas que pueden ser empleadas en el muestreo de zooplancton. Este equipo es bastante eficiente para la captura de organismos pequeños, los que presentan baja capacidad de desplazamiento y fuga, como protozoarios y rotíferos (APHA; AWWA; WEF, 2023, DE BERNARDI, 1984, PINTO-COELHO, 2004). Debido a que recolectan un volumen pequeño (2 a 30 L), casi siempre requieren varios lanzamientos para capturar las formas raras o de mayor movilidad, como los cladóceros y copépodos. Por eso, no se recomiendan para ambientes oligotróficos o profundos. Para organismos mayores (cladóceros y copépodos), se prefieren bombas de succión, redes o trampas, siendo estas una asociación entre una botella de mayor capacidad y una red.

Las muestras obtenidas con botellas o con trampa tipo Schindler-Patalas son generalmente filtradas en redes de nylon de malla conocida. Se pueden utilizar para ensayos cualitativos o cuantitativos, en estudios para el conocimiento de la distribución vertical del zooplancton.

Las principales ventajas que las botellas y trampas muestran son la posibilidad de muestreo en cualquier profundidad y el conocimiento del volumen preciso de agua en el que fueron capturados los organismos. Ambas pueden ser empleadas satisfactoriamente en ambientes eutróficos, donde la abundancia de zooplancton y materia

orgánica en suspensión pueden reducir la eficiencia de otros equipos, en estudios de microdistribución y de zonas costeras. Se recomienda que la botella y la trampa sean transparentes y sin partes brillantes, con el fin de reducir la fuga de los organismos más veloces.

Estos equipos pueden ser empleados para obtener muestras puntuales o integradas.

Procedimiento de recolección para ensayos de zooplancton con botella de profundidad

- Lanzar la botella y recolectar a la profundidad deseada, tantas veces como sea necesario para obtener el volumen preestablecido;
- A cada lanzamiento efectuado, filtrar su contenido en una red de plancton (la selección de la malla depende de la clase de tamaño o grupo de organismos que se desea evaluar). Asegurarse de que todos los organismos adheridos a la red se transfieran al vaso de la red;
- Retirar el vaso de la red y transferir la muestra al frasco de muestreo;
- Lavar el vaso, con una piseta, tantas veces como sea necesario para eliminar por completo los organismos;
- Al final de todos los lanzamientos, adicionar formaldehído neutralizado en cantidad suficiente para obtener una concentración final del 10%. Ejemplo: en un frasco con capacidad de 250 mL, agregar 25 mL de formaldehído en la muestra y completar con agua reactiva (en el caso de zooplancton de agua dulce) o con agua del lugar (en el caso de zooplancton marino) hasta un volumen de 250 mL (véase el Apéndice A);
- En muestras de agua dulce, previo al formol, agregar agua carbonatada en proporción 1:20 (1 parte de agua carbonatada: 20 partes de muestra) y esperar aproximadamente 15 minutos;
- Cerrar bien el frasco y mantenerlo alejado de la luz.

NOTA1: La concentración de formol utilizada al 10% corresponde a la concentración de formalina al 10% y al 4% de formaldehído.

NOTA2: La adición de colorante (por ejemplo: Rosa de Bengala al 0,1%) es opcional y se recomienda para muestras con muchos residuos y se puede agregar inmediatamente después del muestreo o en el laboratorio. Ejemplo: Agregar de 1 a 5 mL (o más, según la cantidad de residuos) de la solución de colorante a 250 mL de muestra.

La recolección integrada de zooplancton a lo largo de la columna de agua con botella o trampa debe realizarse de forma homogénea (la misma cantidad de lanzamientos) en cada estrato, desde la superficie hasta cerca del fondo (generalmente de 0,5 a 1 m del fondo).

Procedimiento de muestreo para ensayos de zooplancton con trampa tipo Schindler-Patalas

- Lanzar la trampa y recolectar en la profundidad deseada;
- Retirar la trampa del agua, tomando cuidado de que todos los organismos adheridos a la red sean transferidos al vaso (lavado con ayuda de una piseta, desde fuera hacia adentro) (Figs. 6.30 A, B, C, D, E y F);
- Retirar el vaso, transfiriendo la muestra al frasco de muestreo;
- Lavar el vaso, con una piseta, tantas veces como sea necesario para eliminar por completo los organismos;
- Al final de todos los lanzamientos, conservar en formaldehído neutralizado a una concentración final del 10%. Ejemplo: en un frasco con capacidad de 250 mL, agregar 25 mL de formaldehído en la muestra y completar con agua reactiva (en el caso de zooplancton de agua dulce) o con agua del lugar (en el caso de zooplancton marino) hasta un volumen de 250 mL (véase el Apéndice A);
- En muestras de agua dulce, previo al formol, agregar agua carbonatada en proporción 1:20 (1 parte de agua carbonatada: 20 partes de muestra) y esperar aproximadamente 15 minutos;
- Cerrar bien el frasco y mantenerlo alejado de la luz.

NOTA 1: La concentración de formol utilizada al 10% corresponde a la concentración de formalina al 10% y al 4% de formaldehído.

NOTA 2: La adición de colorante (por ejemplo: Rosa de Bengala al 0,1%) es opcional y se recomienda para muestras con muchos residuos y se puede agregar inmediatamente después del muestreo o en el laboratorio. Ejemplo: Agregar de 1 a 5 mL (o más, según la cantidad de residuos) de la solución de colorante a 250 mL de muestra.



Figura 6.30. Toma de muestras de zooplancton con trampa tipo Schindler-Patalas: (A) Equipo posicionado para descenso, (B) Equipo izado después de la recolección, (C) Muestra siendo filtrada, (D) Desconexión del vaso recolector, (E) Transferencia de la muestra retenida en el vaso recolector al frasco, (F) Lavado externo e interno del vaso recolector para el retiro de material adherido en las paredes.
Fotos: José Jorge Neto/Banco de imágenes de CETESB.

b) Procedimientos de Recolección con Bombas

Las bombas de succión pueden ser usadas en estudios cualitativos y cuantitativos del zooplancton. Posibilitan rapidez en el muestreo, facilidad de manejo, precisión de la recolección a diferentes profundidades y del volumen de agua recolectada. Sin embargo, se debe seleccionar una bomba cuyos engranajes no fragmenten los organismos, que deben permanecer intactos para su identificación. El diámetro relativamente pequeño de la manguera de entrada dificulta la captura de organismos mayores y más activos que consiguen evitar la succión, lo que puede ser evitado colocando un embudo en el extremo de la manguera para aumentar el área de succión.

Los tipos de bombas de succión y los procedimientos para su uso pueden ser vistos en Calazans, Muelbert y Muxagata (2011) y Omori e Ikeda (1984).

c) Procedimientos de Muestreo con Redes de Plancton

Las redes de plancton son el equipo más utilizado en el estudio del zooplancton general. Pese a ello, hay un considerable número de errores asociados a recolección con redes, desde aquellos resultantes del arrastre propiamente dicho (volumen, fuga, escape, selectividad, estrato muestreado, contaminación, colmatación, distribución agrupada, eficiencia de filtración, etc.) hasta aquellos asociados a la pérdida de organismos que quedan adheridos a la malla durante la transferencia del material al frasco de muestreo. Sin embargo, las redes de plancton son preferibles a las botellas y trampas para muestreo en ambientes oligotróficos, donde el zooplancton es menos abundante o donde es necesaria una elevada cantidad de biomasa para los análisis.

De forma general, se debe utilizar redes cuyos poros sean al menos un 25% menores que el ancho de los organismos deseados (BOLTOVSKOY, 1981). Para el estudio del zooplancton, principalmente rotíferos, cladóceros y copépodos de agua dulce, se recomienda usar una malla con porosidad de 60 a 75 µm, y para el zooplancton marino entre 150 y 250 µm. Aunque las tecamebas (amebas testáceas) puedan

estar presentes en muestras recolectadas en una red con abertura de malla entre 60 y 75 µm, muchas especies no son retenidas en estas redes debido a sus pequeñas dimensiones. Por lo tanto, se recomienda utilizar una red con abertura de malla inferior a 60 µm (preferiblemente de 20 µm) cuando exista interés en el estudio de estos organismos.

La fuga de organismos, uno de los principales problemas relacionados con la recolección con red, se puede reducir mediante el uso de redes mayores, de colores discretos, sin partes brillantes, velocidades aumentadas (entre 0,5 y 1,0 m/s), y eliminando los accesorios frontales de la red.

Si el objetivo es un estudio cuantitativo, se debe equipar las redes con un caudalímetro calibrado entre el centro y el borde de la boca de la red, para estimar el volumen del agua filtrada por el arrastre. El procedimiento para la calibración del caudalímetro se describe en Hubold (1979). Cuando no se dispone de un caudalímetro, se puede estimar el volumen filtrado (m^3) durante el arrastre vertical por medio de la fórmula:

volumen de agua filtrada m^3) = área de la boca de la red (m^2) x profundidad del muestreo (m)

Este procedimiento, sin embargo, no es recomendado por conducir a una estimativa poco precisa del volumen filtrado, debido al error introducido por la colmatación.

Los arrastres más empleados en la recolección de zooplancton son el horizontal y el vertical.

Arrastre horizontal

Se da preferencia al muestreo por arrastres horizontales en determinados estratos, en lugares poco profundos, próximos a las orillas, o donde la influencia de factores físicos, como el viento y las corrientes sea grande. Este tipo de recolección tiene la finalidad de estimar la distribución y abundancia del zooplancton dentro de una capa de agua en particular. Se debe fijar un flotador junto a la boca de la red para mantenerla a la profundidad deseada.

Procedimiento de recolección para ensayos de zooplancton por medio de arrastre horizontal

- Lanzar la red al agua, tomando cuidado de anotar la lectura inicial del caudalímetro;
- Iniciar lentamente su desplazamiento de forma que la red quede lejos de la zona de turbulencia causada por el motor de la embarcación;
- La velocidad de arrastre no debe exceder 0,5 m/s;
- Después de transcurrido el tiempo determinado de arrastre, retirar la red del agua lentamente;
- Inmediatamente después de la salida de la boca de la red del agua, anotar la lectura final del caudalímetro;
- Si la red tiene mucho material adherido a la malla, se recomienda sumergirla parcialmente (dejando la boca de la red fuera del agua) para que el agua del lugar empuje los organismos que quedan adheridos desde afuera hacia adentro;
- Retirar el vaso de la red y transferir la muestra al frasco de muestreo;
- Lavar el vaso con una piseta tantas veces como sea necesario para la completa remoción de los organismos, especialmente los adheridos a las mallas laterales;
- Fijar y conservar en formaldehído neutralizado a una concentración final del 10%. Ejemplo: en un frasco con capacidad de 250 mL, agregar 25 mL de formaldehído en la muestra y completar con agua reactiva (en el caso de zooplancton de agua dulce) o con agua del lugar (en el caso de zooplancton marino) hasta un volumen de 250 mL (véase el Apéndice A);
- En muestras de agua dulce, previo al formol, agregar agua carbonatada en proporción 1:20 (1 parte de agua carbonatada: 20 partes de muestra) y esperar aproximadamente 15 minutos;
- Cerrar bien el frasco y mantenerlo alejado de la luz.

NOTA1: La concentración de formol utilizada al 10% corresponde a la concentración de formalina al 10% y al 4% de formaldehído.

NOTA2: La adición de colorante (por ejemplo: Rosa de Bengala al 0,1%) es opcional y se recomienda para muestras con muchos residuos y se puede agregar inmediatamente después del muestreo o en el laboratorio. Ejemplo: Agregar de 1 a 5 mL (o más, según la cantidad de residuos) de la solución de colorante a 250 mL de muestra.

Arrastre vertical

La recolección por medio del arrastre vertical es, en general, más adecuada que el arrastre horizontal porque el zooplancton puede presentarse verticalmente discontinuo, con tendencia a concentrarse en las capas más profundas durante el día, por ejemplo. Sin embargo, este tipo de recolección debe realizarse en regiones donde los factores físicos, como las corrientes, interfieren poco en la recolección de la muestra.

Procedimiento de muestreo para ensayos de zooplancton por medio de arrastre vertical

- Lanzar la red al agua lentamente, tomando cuidado de anotar la lectura inicial del caudalímetro. Ante la ausencia de caudalímetro, anotar la distancia recorrida por la red en la columna de agua, considerando que el cálculo de esta distancia se hace desde la abertura (bocal) de la red hasta la superficie;
- Bajar la red a 0,5-1,0 m por encima de la superficie del sedimento. Es importante que el extremo de la red (vaso) no toque el fondo, evitando la resuspensión del sedimento y la introducción de interferencias;
- Subir lentamente la red a una velocidad aproximada de 0,5 m/s e, inmediatamente después de la salida de la boca de la red del agua, anotar la lectura final del caudalímetro;
- Si la red tiene mucho material adherido a la malla, se recomienda sumergirla parcialmente (dejando la boca de la red fuera del agua) para que el agua del lugar empuje los organismos que quedan adheridos desde afuera hacia adentro;
- Retirar el vaso de la red y transferir la muestra al frasco de muestreo;
- Lavar el vaso con una piseta tantas veces como sea necesario para la completa remoción de los organismos, especialmente los adheridos a las mallas laterales;
- Agregar formol neutralizado en cantidad suficiente para obtener una concentración final del 10%. Ejemplo: en un frasco con capacidad de 250 mL, agregar 25 mL de formol en la muestra y completar con agua reactiva (en el caso de zooplancton de agua dulce) o con agua del lugar (en el caso de zooplancton marino) hasta un volumen de 250 mL (Véase el Apéndice A);
- En muestras de agua dulce, previo al formol, agregar agua carbonatada en proporción 1:20 (1 parte de agua carbonatada: 20 partes de muestra) y esperar aproximadamente 15 minutos;
- Cerrar bien el frasco y mantenerlo alejado de la luz.

NOTA1: La concentración de formol utilizada al 10% corresponde a la concentración de formalina al 10% y al 4% de formaldehído.

NOTA2: La adición de colorante (por ejemplo: Rosa de Bengala al 0,1%) es opcional y se recomienda para muestras con muchos residuos y se puede agregar inmediatamente después del muestreo o en el laboratorio. Ejemplo: Agregar de 1 a 5 mL (o más, según la cantidad de residuos) de la solución de colorante a 250 mL de muestra.

Diversas precauciones que se deben tomar al recolectar el zooplancton con redes

- la recolección con red debe ser realizada con el mayor cuidado posible, evitando sacudidas y golpes contra el casco de la embarcación para evitar la fuga de los organismos;
- los arrastres con redes finas (con un tamaño de malla reducido) deben ser lo suficientemente breves para no permitir la obstrucción de la malla (colmatación);
- las redes deben ser inspeccionadas entre una recolección y otra, con el fin de verificar la existencia de agujeros u otro tipo de daño a la malla, lo que exigiría una corrección inmediata;
- es importante limpiar la red entre dos puntos de recolección con agua del lugar; este procedimiento ayuda a desobstruir los poros del cono filtrante (si están parcialmente obstruidos) y evita la presencia de organismos de otro lugar.

d) Fijación y Preservación de Muestras de Zooplancton

Existen varios productos citados en la fijación y conservación del zooplancton, siendo el formol (10%) neutralizado y el etanol (70 a 95%) los más ampliamente utilizados. Se recomienda agregar formaldehído neutralizado de sacarosa (HANEY; HALL, 1973) para prevenir la distorsión del caparazón y la pérdida de huevos en cladóceros de agua dulce, y la adición de la solución de rosa de bengala al 0,1% (1 a 5 mL inmediatamente después de la recolección o en el laboratorio), tanto como forma de destacar los organismos en ambientes túrbidos, como para controlar la pérdida de organismos durante la manipulación para el ensayo.

La fijación del zooplancton debe realizarse inmediatamente después de la recolección para evitar la deterioración y reducir la depredación incluso en el frasco. Sin embargo, algunos grupos de zooplancton contraen su cuerpo cuando se aplica el fijador, como algunos rotíferos, lo que dificulta su posterior identificación. Para reducir esta contracción,

se puede refrigerar rápidamente la muestra viva, o agregar un poco de agua caliente, agua desgasificada (agua hervida y luego enfriada) o agua gasificada en la proporción de 1 parte de agua gasificada por 20 partes de muestra concentrada (GANNON; GANNON, 1975), poco después de la recolección. Esperar 15 minutos y agregar el formol.

Aunque el formol es el conservante más utilizado, debido a su toxicidad, se pueden utilizar otros, como el etanol 70 ºGL. Las muestras preservadas con formol en campo pueden ser transferidas a etanol al 70% en el laboratorio, siendo la condición ideal para su almacenamiento durante largos períodos (APHA; AWWA; WEF, 2023, REID, 1999). El etanol también está indicado para la preservación de muestras, inmediatamente después de la recolección, con fines de análisis molecular de los organismos. Cuando se use etanol en campo, utilizar etanol absoluto, ya que el etanol al 70% adicionado en una muestra se diluirá, lo que resultará en una concentración inadecuada para la conservación.

Las muestras de zooplancton se conservan durante largos períodos, siempre que estén almacenadas en lugares protegidos de la luz, con temperaturas entre 5 y 20 ºC, y el nivel de la solución conservante sea periódicamente verificado. No se recomienda mantener las muestras de zooplancton durante largos períodos en formaldehído, incluso neutralizado, ya que los organismos se vuelven quebradizos y puede ocurrir la pérdida de cerdas en los microcrustáceos, siendo indicado el mantenimiento en etanol al 70% con glicerina al 1% (APHA; AWWA; WEF, 2023, REID, 1999).

6.1.10.5 Macrófitos Acuáticos

El término macrófitos acuáticos se refiere a plantas superiores de tamaño macroscópico que habitan los ambientes acuáticos. Este grupo presenta una gran heterogeneidad filogenética y taxonómica, pudiendo incluir desde macroalgas, pteridófitas hasta angiospermas. Algunos de los géneros más conocidos son los jacintos de agua (*Eichhornia*), la lechuga de agua (*Pistia*), la victoria amazónica o nenúfar (*Victoria*) y la espadaña (*Typha*). Su presencia es más notoria en la región costera de los ambientes

acuáticos, incluso ambientes de agua dulce, estuarinos y marinos, siendo posible clasificarlas en grupos distintos, conforme a su biotipo. Pueden ser plantas enraizadas, emergidas, con hojas flotantes o sumergidas. Otros grupos son las plantas libres sumergidas o flotantes. Su distribución espacial en el ambiente depende del grupo al que pertenecen. Las plantas enraizadas con hojas emergidas o flotantes están condicionadas a la profundidad, ya que sus peciolos tienen un límite físico de longitud, especialmente en lo que respecta al intercambio de gases. Las plantas sumergidas enraizadas están limitadas por la transparencia del agua. Por otro lado, las plantas flotantes y las sumergidas libres tienen otras limitaciones como los nutrientes, el viento y las corrientes, por eso no son frecuentes en ambiente lóticos, pero sí en embalses, pudiendo incluso convertirse en un problema para el suministro, la generación de energía y la navegación. La contribución de los macrófitos acuáticos a la productividad de un ecosistema y a la creación de hábitats para el desarrollo de otras especies justifica su importancia.

Las metodologías de utilización de macrófitos acuáticos como instrumento de monitoreo de ambientes acuáticos pueden ser divididas en dos líneas básicas: la primera, que utiliza las alteraciones en la composición de las comunidades como indicadores de un impacto (estudios fitosociológicos) y la segunda, que utiliza ensayos químicos del material vegetal para determinar la eventual bioacumulación de contaminantes (estudios de bioacumulación). También pueden incluir estudios de las comunidades asociadas, como el perifiton, zooplancton, macroinvertebrados e ictiofauna.

Los macrófitos acuáticos son ampliamente utilizados como bioindicadores de la calidad del agua de ambientes lenticos y lóticos. Sin embargo, es necesario tener un conocimiento previo de sus características, así como de las condiciones que limitan su aparición y crecimiento, de la proliferación y manejo de la especie utilizada.

a) Estudios Fitosociológicos

Estos estudios presuponen un levantamiento detallado de la composición específica de los diferentes ecosistemas y tienen en cuenta

tanto las variaciones de hábitats como las variaciones estacionales. Algunos artículos presentan un listado de especies encontradas en diferentes regiones de Brasil (IRGANG; GASTAL JÚNIOR, 2003), pero muchas de éstas son consideradas semicosmopolitas. Para la identificación a nivel de especie, algunas veces es necesario recurrir a las partes reproductivas, a pesar de existir características más dirigidas a las partes vegetativas (COOK, 1996, HOEHNE, 1979).

Existen algunas metodologías para levantamientos cualitativos y cuantitativos, siendo más utilizados para ambientes acuáticos los métodos de parcelas, a través de muestreo aleatorio o en transectos. En Pott y Pott (2003) son presentados métodos de levantamiento en transectos con diagrama de distribución de especies en relación con la profundidad y distancia del borde. También es posible, a partir de estos levantamientos, calcular el porcentaje de cobertura o de abundancia/prevalencia de diferentes especies. En APHA, AWWA y WEF (2023), son presentados métodos de mapeo, incluida la detección remota, métodos de levantamiento de las poblaciones de macrófitos acuáticos, metodologías de recolección y abordajes cuantitativos, así como métodos para la evaluación de productividad. Para las evaluaciones de biomasa se debe considerar que la biomasa de plantas enraizadas está en gran parte enterrada. Para más información se recomienda consultar Bicudo y Bicudo (2004).

Técnicas de levantamiento de información utilizadas:

- Imágenes de satélite (por ejemplo, Landsat)
- Imágenes de satélite de alta resolución (por ejemplo, Ikonos)
- Fotografías aéreas georreferenciadas
- Levantamientos de campo (GPS y SIGs)
- Videografía digital
- Ecobatimetría tridimensional

b) Determinación de la Biomasa de Macrófitos

La biomasa de macrófitos es el peso del material vegetal contenido por encima y por debajo de la lámina de agua, incluido el material presente en el interior del sedimento, expresado por unidad de área.

Por medio de un muestreador de área conocida, un marco o parcela introducido en el lugar seleccionado del banco de macrófitos acuáticos, se recolecta en bolsas plásticas todo el material vegetal vivo y muerto contenido en su interior. Posteriormente, el material se seca y se pesa y el resultado final se expresa por unidad de área (más detalles son descritos en Pompeo y Moschini-Carlos, 2003).

c) Estudios de Bioacumulación

Los estudios de bioconcentración por macrófitos inicialmente tenían como objetivo la reducción de la concentración de nutrientes en el ambiente, por medio de las plantas. Sin embargo, un trabajo realizado por Seidel (1966) demostró que *Scirpus lacustre* también era capaz de absorber grandes cantidades de compuestos orgánicos, como pentaclorofenol, y Edwards (1975) demostró su utilidad en estudios con agroquímicos (DDT) y PCBs.

Mauri et al. (1988) realizaron estudios de absorción de mercurio con *Elodea densa* y determinaron que la absorción podía ocurrir tanto a través de las raíces como de las hojas de los macrófitos acuáticos. También estudiaron el proceso de descontaminación, que consiste en la eliminación de los contaminantes al agua, pudiendo también ocurrir la translocación de estos contaminantes del tejido viejo al tejido joven, o viceversa.

Los estudios pueden ser pasivos (Tab. 6.3) cuando se muestrea el material en un determinado ambiente para realizar el ensayo posteriormente, o activos, cuando se introduce material no contaminado en el medio, para ser recolectado y analizado posteriormente.

TIPO DE RECOLECCIÓN	DEFINICIONES	VENTAJAS:	DESVENTAJAS:
BIOACUMULACIÓN PASIVA	• Recolección de macrófitos acuáticos presentes en el ambiente	• Se utilizan especímenes que se presentan en los lugares a estudiar; • Tiene en cuenta un posible desarrollo de resistencia (genético) de las poblaciones de los diferentes lugares.	• En estudios estacionales, o con comparaciones temporales, algunas especies pueden "desaparecer" del ambiente.
ACTIVA (O MÉTODO DE TRASPLANTE) - BIOACUMULACIÓN ACTIVA	• Consiste en introducir material no contaminado, en el medio, que será posteriormente recogido y analizado.	• Estandarización de la edad y material vegetal trasplantado. • Se pueden realizar comparaciones en cualquier época del año, y para cualquier período de exposición.	• Se deben realizar ensayos preliminares de los contaminantes en las muestras. • Las muestras introducidas deben ser marcadas y fijadas para poder ser recogidas.
DETERMINACIÓN DE LA BIOMASA	• Recolección de macrófitos acuáticos presentes en el ambiente.	• Se utilizan especímenes que se presentan en los lugares a estudiar.	• Método destructivo que elimina material de un área a estudiar.

Tabla 6.3. Características principales de los estudios pasivos y activos y determinación de biomasa de macrófitos acuáticos.

6.1.10.6 Comunidad de Macroinvertebrados de Agua Dulce

Los macroinvertebrados acuáticos incluyen los invertebrados con tamaño superior a 0,2 mm, en consecuencia, visibles a simple vista. Son ampliamente utilizados como indicadores de la calidad ecológica de ecosistemas acuáticos y sus componentes pueden vivir asociados a macrófitos acuáticos o a la película de tensión superficial del agua, nadar activamente en la columna de agua o colonizar los sustratos de fondo de estos ambientes. En este último caso, son denominados bentos que, por su íntima relación con los sedimentos, son utilizados en la evaluación de la calidad de esta matriz.

En proyectos que integren ensayos químicos, físicos, biológicos y ecotoxicológicos de los sedimentos, la recolección de muestras para ensayos de la comunidad bentónica debe preceder a la de los demás parámetros, minimizando así el efecto de la perturbación del

sedimento por parte del equipo de muestreo, que puede provocar la fuga o el "lavado" de los organismos.

La elección del muestreador a utilizarse en la recolección de la fauna bentónica depende del objetivo del trabajo, tipo de ambiente a estudiar y del sustrato encontrado en el lugar de recolección.

Los muestreadores se pueden clasificar en:

- Tomamuestras – captura, en área, una porción del sedimento del ambiente en muestreo;
- *Corer* – captura, a profundidad, una porción del sedimento del ambiente en muestreo;
- Red y Delimitador – capturan, en área, mediante la perturbación manual del sustrato;
- Sustrato artificial – captura, como trampa de colonización, por un tiempo preestablecido, sin destruir o perturbar el ambiente de muestreo.

Los muestreos cualitativos y semicuantitativos de macroinvertebrados acuáticos se pueden realizar con el uso de cualquier tipo de muestreador. En muestreos semicuantitativos con redes, se debe estandarizar el esfuerzo de muestreo (tiempo, área de recolección o número de pasadas de redes). Cuando se utilizan delimitadores, tomamuestras o *corers*, ya que el área de estos equipos está determinada, se estandariza el número de unidades muestrales, valiendo lo mismo para sustratos artificiales.

En general, los muestreos con la estandarización del número de pasadas de red se destinan a un levantamiento faunístico completo (exhaustivo), en el que todos los tipos de hábitat del punto de recolección deben ser investigados (estrategia multihábitat), incluso si para eso es necesario el uso de otros métodos y /o equipos. Aunque este tipo de recolección consuma menos tiempo, la experiencia y habilidad del operador son fundamentales, pues es necesario que se defina, en campo, todos los diferentes tipos de hábitat a muestrear.

En el ensayo de bentos, generalmente, cada contenido recolectado en cada uso del equipo es considerado, inclusive el agua que acompaña la muestra, pero, cuando el objetivo se centra solo en la infauna, se debe sifonar y desechar el agua sobrenadante.

No todo tipo de muestreador se presta para los muestreos cuantitativos, ya que es necesaria la existencia de un área muestral definida, como en tomamuestras, *corers* y delimitadores. Aunque el número necesario de réplicas para tales muestreos sea calculable a partir de datos obtenidos en estudios piloto, frecuentemente, en los programas de monitoreo se establece como tres la cantidad mínima de unidades muestrales, considerándose el tiempo de procesamiento de los análisis y la necesidad de proporcionar rápidamente los resultados. Sin embargo, la obtención de cinco réplicas aumentaría la precisión y la exactitud estadística de los datos y, por lo tanto, sería ideal.

Al realizar el muestreo de organismos bentónicos o de sedimento para ensayo fisicoquímico no es aconsejable la recolección sobre puentes, ya que el sedimento bajo un puente no es el natural del curso del río.

Muchos tomamuestras, al descender, forman olas de choque en la columna de agua que promueven un lavado en la superficie a recolectar y, en consecuencia, subestiman las poblaciones bentónicas muestreadas. El control de la velocidad de descenso reduce ese problema, pero lo ideal es adoptar aparatos que presenten mecanismos o estructuras que minimicen esa perturbación del sustrato.

El tomamuestras tipo Ekman-Birge solucionó satisfactoriamente este problema presentando puertas dobles en su cara superior, que se abren al descender y se cierran al ascender. Su eficiencia en la recolección de muestras de la zona profunda de lagos y embalses, donde predominan los sedimentos finos, ha sido demostrada en una serie de trabajos comparativos y, de hecho, es el equipo más empleado en estudios de bentos de estos lugares. El *corer* múltiple también puede ser una buena opción, principalmente en el muestreo de poblaciones de

menor tamaño y que se entierran profundamente, como los gusanos Oligochaeta y las larvas de Chironomidae. Por otro lado, el *corer* simple, que tiene un área de muestreo restringida, requiere un mayor número de réplicas para obtener estimativas poblacionales confiables. En ambos casos, el muestreo de organismos de mayor tamaño, como los grandes bivalvos sudamericanos, se ve comprometido por la pequeña área de captura de este tipo de equipo. La Ekman modificada por Lenz y los equipos tipo *corer* permiten el fraccionamiento de la muestra de sedimento y, en consecuencia, estudios de la distribución vertical de las poblaciones bentónicas.

En la zona marginal de lagos y embalses y en ríos, donde el sustrato tiende a ser más grueso y duro, el tomamuestras tipo Ponar es el que se ha considerado el mejor equipo para muestreos cuantitativos de bentos, siendo, por esta razón, el más frecuentemente usado. Su versión de mayor tamaño (523 cm^2) ha sido recomendado para ambientes preservados, mientras que, para ambientes contaminados, se ha considerado suficiente el área de recolección de la versión menor (232 cm^2). También se han utilizado los tomamuestras tipo Petersen y van Veen, así como el modelo modificado que fusiona estos dos aparatos, aunque no presenten soluciones eficientes al problema de la formación de olas de choque.

Las redes manuales sirven para la recolección de macroinvertebrados en ambientes poco profundos, como arroyos, riberas, márgenes pedregosos y tramos de cascadas de ríos de mediano caudal y región costera de lagos y embalses, y también para el muestreo de la fauna asociada a los macrófitos acuáticos. En arroyos poco profundos (profundidad inferior a 30 cm), la red *D* para la recolección con el método *kick sampling*, en la que el recolector perturba el fondo con los pies (trasladando los organismos hacia dentro de la red) o por arrastre, y los delimitadores, que presentan áreas de muestreo definida, son ideales para la recolección de macroinvertebrados acuáticos. En el primer caso, es interesante estandarizar y anotar el tiempo o el área de muestreo para obtener datos semicuantitativos que permitan

evaluar potenciales prevalencias por algún grupo de organismos y comparar resultados. La abertura de malla de las redes puede variar (de 0,35 a 0,6 mm) y, aunque las mallas más finas retengan poblaciones de menor tamaño e individuos en etapas iniciales de desarrollo, estas promueven una mayor pérdida de material por reflujo. En la recolección con equipos tipo Surber o Hess, en la que el sustrato es perturbado con las manos, es recomendable el uso de guantes gruesos como protección contra objetos cortantes. En las recolecciones con redes y delimitadores, los organismos de mayor tamaño, visualizados en el momento de la recolección, pueden ser retirados manualmente del área de recolección y colocados en frascos, sin ser arrojados a la red. Con este cuidado se preserva su integridad estructural y se facilita su identificación.

El muestreo con sustrato artificial tiene como mayores ventajas no ser destructivo y estandarizar el sustrato del muestreo. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que las comunidades que colonizan los sustratos muchas veces difieren de las que se encuentran en el sustrato natural. En la instalación de estos equipos es necesario tener cuidado en minimizar las pérdidas por vandalismo e inundaciones. La recuperación debe realizarse al mismo tiempo, de forma que todos los sustratos artificiales hayan sido teóricamente sometidos al mismo proceso de colonización. La definición del período entre instalación y la recolección en cada lugar bajo investigación se realiza mediante un estudio previo, en el que se evalúa el tiempo necesario para la colonización y estabilidad de la biota del sustrato.

En ambientes profundos, turbulentos y de fondo heterogéneo, donde los tomamuestras y *corers* pueden no ser eficaces y las corrientes del lugar no permitan el uso de sustratos artificiales, el muestreador por succión puede ser la única opción de muestreo de las comunidades bentónicas. Aunque sea necesaria la adaptación del barco de apoyo y un equipo especializado para su desarrollo, un proyecto de este equipo fue probado y está descrito en Kikuchi, Fonseca-Gesner y Shimizu (2006).



Figura 6.31. Bomba de succión para muestreo de las comunidades bentónicas: (A) Colocación del delimitador en el agua con la bomba encendida; (B) Pasaje del sedimento a través de la red.
Foto: Regina N. Kikuchi/IFB/Banco de imágenes de CETESB.

Al igual que el método, el lugar de muestreo también varía según el objetivo del trabajo. Por ejemplo, en estudios destinados a la evaluación de la calidad de sedimento, la recolección de la fauna bentónica se debe realizar en la zona de deposición de sedimentos finos, donde se espera una mayor concentración de contaminantes, es decir, en el margen de deposición o remansos de los ríos y en la región profunda de embalses y lagos. En este caso, es adecuado el uso de tomamuestras o *corers*. Por otro lado, los muestreos de bentos de la zona sublitoral sirven para estudiar los gradientes ambientales dentro de un embalse. Asimismo, la aplicación de índices bióticos en arroyos requiere un muestreo exhaustivo, es decir, de todos los tipos de hábitat existentes en el punto de muestreo, debiendo, según el índice a aplicar, ser cualitativo o semicuantitativo.

Algunos datos físicos y químicos deben acompañar el muestreo de macroinvertebrados acuáticos para facilitar la discusión posterior de los resultados. La lista completa de variables dependerá del lugar y del objetivo del proyecto, pero se pueden considerar como medidas mínimas a tomar las siguientes: profundidad, área del muestreador o tiempo de colonización, esfuerzo de muestreo, granulometría, contenido de materia orgánica y de humedad en el sedimento, transparencia del agua, velocidad de la corriente, tipo de ambiente recolectado (canal u orilla/rápido o remanso para ríos y arroyos;

costero, sublitoral o profundo para embalses y lagos) y contenido de oxígeno disuelto y temperatura del agua del fondo.

Las muestras pueden ser acondicionadas en bolsas de plástico reforzado o en tarros de plástico, siempre debidamente etiquetados con las informaciones: identificación del proyecto, nombre del ambiente, hábitat(s) muestreado(s), fecha y hora de la recolección. Cuando se fijan en campo, con formol a una concentración final del 4 al 10% o etanol 70 °GL, las muestras no requieren enfriamiento. Las muestras recolectadas en bolsas deben ser acondicionadas de tal forma que se evite el derrame durante el transporte (se recomienda no apilar las bolsas). En el caso de imposibilidad de fijación en campo, es aconsejable almacenar la muestra en hielo y enviarla al laboratorio lo más rápido posible.

Cuando la recolección es realizada en un lugar muy distante, implicando un período de muestreo prolongado, es recomendable que el lavado de las muestras recolectadas con tomamuestras o *corer* sea efectuado en campo para facilitar el transporte, ya que esto reduce el volumen de material. Para ello, es necesario llevar al campo la red o el tamiz de lavado, cuya malla es definida de acuerdo con el objetivo del estudio.

a) Bioacumulación

Por el hecho de que viven en los sedimentos, que es el destino final de muchos contaminantes que entran en los ecosistemas acuáticos, diversos grupos de la macrofauna bentónica son utilizados en estudios de bioacumulación, basados en el análisis de las concentraciones corpóreas de determinado compuesto o elemento químico. Los moluscos, crustáceos, anélidos y larvas de insectos son muestreados mediante las técnicas ya mencionadas. En campo, los organismos son separados vivos de la muestra de sustrato con la ayuda de una red para retirar sedimentos finos, bandeja blanca y pinzas de acero inoxidable u otro material inerte. Después de separados, los organismos deben ser almacenados en frascos llenos con agua del lugar y conservados en hielo hasta el laboratorio, donde serán identificados, separados en frascos individuales y congelados hasta su análisis químico. Si el estudio a realizar

requiere la eliminación del contenido estomacal, los organismos deberán mantenerse vivos durante 24 horas en agua del lugar.

b) Cuidados en la Recolección

Durante la recolección se deben tomar algunos cuidados para evitar errores de muestreo o la contaminación de la muestra por organismos que no pertenecen al lugar. Estas acciones dependen del tipo de muestreador utilizado y se describen a continuación.

Cuidados en la recolección para ensayos de macroinvertebrados de agua dulce con tomamuestras y *corers*

- Descartar las muestras cuando el tomamuestras o *corer* no haya cerrado correctamente;
- Las muestras ideales deben tener un volumen correspondiente a aproximadamente 2/3 de la capacidad total del muestreador;
- Lavar el muestreador entre dos puntos de recolección;
- Cada muestra corresponde a cada contenido recolectado al usar el equipo.

Cuidados en la recolección para ensayos de macroinvertebrados de agua dulce con sustrato artificial (cesta con piedras)

- Tratar de subir rápidamente el muestreador, con el fin de minimizar la fuga de organismos con mayor movilidad;
- Introducir la cesta en bolsas plásticas etiquetadas, antes de pasar por la película de tensión superficial, o red, también para evitar la pérdida de organismos.
- Cada muestra corresponde al contenido de una cesta.

Cuidados en la recolección para ensayos de macroinvertebrados de agua dulce con redes y delimitadores

- Muestrear todo tipo de hábitat (por ejemplo, el canal, la margen, la vegetación y remansos) existente en el punto de muestreo;
- No perturbar el ambiente aguas arriba del muestreador, es decir, procesar el muestreo desde aguas abajo hasta aguas arriba;
- Evitar el escape de material por los lados de la red y por la cara inferior de los delimitadores;
- Concentrar el contenido atrapado en el fondo de la red, lavándola con agua del lugar, y verter el concentrado en un frasco de muestreo etiquetado;
- Cada muestra corresponderá al contenido de un esfuerzo de muestreo (tiempo o área para la red y unidad de área para los delimitadores).

6.1.10.7 Comunidad Bentónica Marina

Esta comunidad incluye organismos sésiles, excavadores o que se mueven o se arrastran sobre el sustrato. Sus representantes ocupan toda el área desde el nivel de la marea alta hasta profundidades abisales, comprendiendo diversos tipos:

- Formas sésiles: animales tales como, corales, esponjas, lapas, almejas, gusanos de arena, algas macroscópicas y muchas diatomáceas;
- Formas que se mueven o se arrastran, como, por ejemplo: crustáceos (camarones, cangrejos, langostas, copépodos, anfípodos e isópodos), equinodermos, cnidarios, protozoarios, moluscos (bivalvos y gasterópodos) y algunos peces;
- Formas cavadoras: La mayoría de los bivalvos y gusanos de arena, algunos crustáceos y equinodermos.
- De acuerdo con el tamaño, los organismos de la comunidad bentónica generalmente se clasifican en:
- Macrofauna o macrobentos: incluye los organismos retenidos por el tamiz con malla de 0,5 mm (equivalente al ABNT nº 35). Se incluyen en esta categoría la mayoría de los organismos cavadores o perforadores de sedimentos no consolidados, y los organismos que se mueven sobre sustrato consolidado, incluidos los más activos;
- Meiofauna o meiobentos: incluye la mayoría de los menores metazoarios, que pasan a través de la malla de 0,5 mm (ABNT n.º 35), y se subdivide en:
- Meiofauna temporal: compuesta por los representantes jóvenes, pertenecientes a cualquier grupo de la macrofauna que tengan estadios juveniles bentónicos; pueden ser muy abundantes en ciertos lugares de muestreo;
- Meiofauna permanente: compuesta por animales adultos de pequeñas dimensiones, tales como: rotíferos, gastrotricos, tardígrados, ostracoides, nematodos y algunos gasterópodos;

- Microfauna: organismos que requieren de técnicas microscópicas especiales para ser examinados. Incluyen protozoarios y otros seres de tamaño similar.

Cabe señalar que una determinada comunidad bentónica vive en un tipo de sustrato, el cual, a su vez, representa un cierto conjunto de condiciones físicas y químicas del lugar de la recolección.

Otros aspectos generales influyen en la distribución de la comunidad bentónica:

- Profundidad: la densidad y la diversidad de los organismos tienden a disminuir con el aumento de la profundidad de las estaciones de muestreo; a mayor profundidad, más superficialmente se encontrarán los organismos excavadores;
- Latitud: la densidad y la variedad de organismos aumentan desde la región polar hacia el ecuador;
- Sedimento: el número y la diversidad de organismos disminuyen con el sustrato más grueso y aumentan con el más fino; en general, los lugares con sedimentos más finos no están tan sujetos a las acciones del oleaje o corrientes y están localizados cerca de estuarios o desembocadura de ríos, donde existe una mayor tasa de sedimentación de partículas orgánicas y cierta oscilación en la salinidad. En sedimentos arenosos, hay una gran cantidad de organismos excavadores, y en fondos más finos y blandos la fauna excavadora es menos abundante.

a) Formación Rocosa de las márgenes

En la superficie de la formación rocosa de las márgenes se desarrolla una comunidad biológica adaptada tanto a fijarse sobre este tipo de sustrato, como a resistir el embate y la oscilación de las mareas (zona intermareal), sujeta a niveles variables de desecación, variación de la temperatura, salinidad, luminosidad, etc. Por esta razón, la comunidad biológica de estos ambientes presenta una distribución espacial en

estratos (zonificación) a lo largo del gradiente vertical del sustrato, que también presentan variación durante las estaciones del año.

Tomando en cuenta estas particularidades, para el estudio de estas comunidades es fundamental establecer un protocolo de recolección y muestreo que atienda los objetivos del investigador, cuyos principales abordajes están contemplados a continuación.

Procurando considerar el gradiente espacial propio de estos ambientes, a menos que el objetivo de la investigación se centre en un único estrato, el protocolo debe incluir el establecimiento de transectos verticales. Cabe destacar que este tipo de recolección se debe realizar durante las mareas bajas de primavera, previa consulta de la tabla de mareas publicada por la DHN (Dirección de Hidrografía y Navegación), disponible en https://www.marinha.mil.br/chm/tabuas-de-mare, referente al puerto más cerca del lugar de muestreo. Para las recolecciones que tienen como objetivo el monitoreo y requieran de visitas periódicas, es importante que los transectos sean marcados de forma visible y permanente, con pintura epoxi o con pines de acero.

En general, los estudios son realizados por medio de muestreos no destructivos, siendo que las estimativas de densidad y de cobertura pueden efectuarse tanto *in situ* como por fotografía.

Determinación del porcentaje de cobertura por grupos taxonómicos sésiles dominantes (muestreo semicuantitativo)

La determinación del porcentaje de cobertura por organismos sésiles dominantes puede ser realizada por medio de conteo directo o por el método fotográfico en el mismo lugar.

El método fotográfico consiste en la utilización de una cámara fotográfica subacuática, con accesorio auxiliar denominado *close-up* para garantizar que las fotos sean tomas siempre en el mismo ángulo (perpendicular al sustrato) y distancia estandarizada. El accesorio *close-up* (presentado en detalle en el Capítulo 5) es un marco acoplado a una lente específica, el cual es acoplado a la cámara fotográfica. El

uso de *flashes* estroboscópicos mejora la calidad de la imagen en áreas sombreadas o de inclinación negativa y permite la toma de imágenes nocturnas, importante en los períodos en que las mareas más amplias ocurren durante la noche. Coutinho y colaboradores (2015) sugieren una máquina fotográfica digital con una resolución mínima de 3 megapíxeles, y 300 puntos por pulgada – dpi.

Procedimiento para el conteo *in situ* de organismos sésiles dominantes en el bentos marino de la formación rocosa de las márgenes

- Seleccionar un área en la formación rocosa, cuyo ancho debe estar relacionado con el grado de homogeneidad de la superficie. Las superficies más heterogéneas deben tener mayor ancho;
- En el caso de localidades formadas por grandes rocas, establecer subáreas similares en cuanto a la pendiente, la orientación geográfica y la hidrodinámica;
- Delimitar el ancho del área de muestreo por medio de dos pasadores de acero clavados en la roca, por encima de la zona ocupada por la comunidad biológica. Los pasadores, además de marcar la zona, sirven como encaje para los tornillos que se utilizan para atar las cuerdas y como soporte para el investigador;
- Unir los dos pasadores por medio de una cuerda graduada a intervalos regulares, compatible con la altura del delimitador de campo utilizado;
- Sortear, previamente en laboratorio, las marcas de la cuerda que guiarán la colocación del delimitador sobre el área de ocupación a muestrear;
- En campo, posicionar el delimitador (véase el Capítulo 5) en la dirección de la marcación sorteada, sobre la población a muestrear, y contar las intersecciones bajo las cuales se encuentran los individuos de esa población;
- Anotar el resultado en una ficha de campo con lugar, fecha, horario del registro, especie, denominación del punto de muestreo y del número de la réplica. Debido a las salpicaduras de las olas y a las condiciones de trabajo en los días de lluvia, y como es difícil conseguir papel o bolígrafo especial, las anotaciones de campo se pueden tomar a lápiz sobre tableros de PVC o poliestireno.

NOTA: Los organismos de identificación dudosa deben recolectarse, colocarse en frascos proporcionales al tamaño de los individuos y preservarse (véase el Apéndice A) para su confirmación taxonómica en el laboratorio o para su envío a especialistas.

Procedimiento para el conteo por método fotográfico de organismos sésiles dominantes del bentos marino de la formación rocosa de las márgenes

- Seleccionar un área en la formación rocosa de la margen, cuyo ancho debe estar relacionado con el grado de homogeneidad de la superficie. Las superficies más heterogéneas deben tener mayor ancho;
- En el caso de localidades formadas por grandes rocas, establecer subáreas similares en cuanto a la pendiente, la orientación geográfica y la hidrodinámica;
- Demarcar el ancho del área de muestreo por medio de dos pasadores de acero clavados en la roca, por encima de la zona ocupada por la comunidad biológica;
- Unir los dos pasadores por medio de una cuerda graduada a intervalos regulares del mismo ancho del área estandarizada por el delimitador de la máquina;
- En campo, posicionar el delimitador de la cámara fotográfica en la dirección de la marcación sorteada, sobre la población a muestrear, y obtener la fotografía. El recurso de flash permite la obtención de fotos durante la noche;
- En laboratorio, las fotos son procesadas en computadoras, por medio de editores de fotos. Es posible realizar un análisis visual con un proyector multimedia, proyectando las fotografías en una superficie blanca subdividida en 100 puntos de intersección distribuidos homogéneamente, contando los puntos de intersección en los cuales se encuentran los individuos de la población;
- Para el procesamiento en la computadora es también posible utilizar software específico para aplicaciones ecológicas, como por ejemplo el programa utilizado por Coutinho et al. (2015) *photoCuad*, que analiza muestras fotográficas 2D (TRYGONIS; SINI, 2012), disponible en: https://www.mar.aegean.gr/sonarlab/photocuad/ o el *Coral Point Count with Excel extensions* utilizado por Koutsoukos (2012, apud KOHLER; GILL, 2006).

Determinación de la estructura espacial (zonificación)

Procedimiento para recuento *in situ* para determinar la estructura espacial de organismos del bentos marino de la formación rocosa de la margen

- Establecer un transecto vertical en la formación rocosa de la margen, con 50 cm de ancho (en caso de optar por el uso de un delimitador de 50 cm de lado). La delimitación del transecto se realiza con la utilización de dos pasadores de acero clavados en la roca por encima de la comunidad biológica, separados por 50 cm. También se pueden clavar dos pasadores en la roca en el límite inferior de la zona intermareal, para que así el área de muestreo quede delimitada;
- Unir los pasadores superior e inferior con una cuerda en ambos lados del transecto, formando un carril que dirigirá el delimitador (véase el Capítulo 5) a lo largo del transecto. La cuerda se marca previamente (con lápiz dermatográfico o tinta indeleble, por ejemplo) a intervalos de 10 cm (en caso de optar opte por el uso de un delimitador de 10 cm de altura), para ayudar a posicionar el delimitador en los diferentes niveles de la formación rocosa;
- Inicialmente posicionar el delimitador cerca de la línea de flotación o base de la roca, según sea el caso.
- Para estudios semicuantitativos (donde se evalúa porcentaje de cobertura), contar el total de cuadrículas en el interior de las cuales cada especie se encuentra presente. Para estudios cuantitativos el delimitador se utiliza como marcador para el recuento de los organismos relativo al área en cuestión;
- Recolectar los organismos **(animales y vegetales) con identificación dudosa para su confirmación taxonómica en laboratorio o para su envío a especialistas.**
- Recolectar los organismos vivos y acondicionarlos en frascos con tamaño acorde al tamaño de los individuos y con tapa de buena calidad. Preservar conforme al Apéndice A.
- Etiquetar los frascos con identificación del lugar y fecha de muestreo, nivel del transecto, cuando corresponda. Es importante que, además de las etiquetas externas, se elaboren etiquetas internas en papel vegetal, escritas a lápiz o bolígrafo con tinta resistente al agua, ya que las externas pueden dañarse o perderse.
- Repetir el procedimiento paulatinamente, nivel por nivel en la formación rocosa de la margen, obedeciendo las marcaciones de la cuerda, hasta el límite superior de distribución de la comunidad.

Procedimiento para conteo por el método fotográfico de organismos del bentos marinos de la formación rocosa de la margen para la determinación de la estructura espacial

- Establecer un transecto vertical en la formación rocosa de la margen. La delimitación del transecto es realizada con la utilización de dos pasadores de acero clavados en la roca, uno encima de los límites de la comunidad biológica, y otro cerca de la línea de flotación o base de la roca;
- Unir los pasadores mediante una cuerda con marcas realizadas a intervalos compatibles con el delimitador acoplado a la cámara, constituyendo un transecto perpendicular a la línea de flotación;
- Tomar fotografías digitales contiguas, desde el nivel superior hasta el nivel cercano a la base de la roca o línea de flotación;
- En laboratorio, procesar las fotos en una computadora, por medio de editores de fotos. Es posible realizar un análisis visual con un proyector multimedia, proyectando las fotografías en una superficie blanca subdividida en 100 puntos de intersección distribuidos homogéneamente, contando los puntos de intersección en los cuales se encuentran los individuos de la población;
- Para el procesamiento en computadora es también posible utilizar software específico para aplicaciones ecológicas, como, por ejemplo, el programa utilizado por Coutinho et al. (2015) *photoCuad*, que analiza muestras fotográficas 2D (Trygonis; Sini, 2012), disponible en: https://www.mar.aegean.gr/sonarlab/photocuad/) o el *Coral Point Count with Excel extensions* utilizado por Koutsoukos (2012, apud Gill, 2006).

Muestreo cualitativo

Procedimiento para toma de muestras para ensayos cualitativos del bentos marino de la formación rocosa de la margen

- Establecer un área muestreo estándar, representativa de la formación rocosa de la margen, que incluya la estructura fisiográfica dominante del área de interés;
- Estandarizar, en la medida de lo posible, el tamaño del área de muestreo, el tiempo de recolección (esfuerzo de muestreo) y el nivel de detalle en recolecciones sucesivas y entre puntos de muestreo;
- Registrar las ocurrencias de organismos en ficha de campo;
- Recolectar los organismos (animales y vegetales) con identificación dudosa para su confirmación taxonómica en laboratorio o para su envío a especialistas;
- Recolectar los organismos vivos y acondicionarlos en frascos con tamaño acorde con el tamaño de los individuos y con tapa de buena calidad;
- Etiquetar los frascos con identificación del lugar y fecha de muestreo, nivel del transecto, cuando corresponda. Es importante que además de las etiquetas externas, se elaboren etiquetas internas en papel vegetal, escritas a lápiz o bolígrafo con tinta resistente al agua, ya que las externas pueden dañarse o perderse;
- Fijar los invertebrados y las algas en formol neutralizado; Los animales pequeños pueden ser preservados alternativamente con etanol 70 ºGL;
- Guardar las muestras en lugar oscuro hasta su procesamiento para la confirmación de la identificación.

b) Playas

Las playas son ambientes costeros compuestos básicamente de material no consolidado mineral, con mayor frecuencia arena, pudiendo contener también lodo (limo, arcilla), grava, piedras laminadas, cantos rodados, guijarros, conchas de moluscos, restos de corales, algas calcáreas, etc.

Estos ambientes se extienden perpendicularmente al litoral costero, desde la marea baja hasta la zona de vegetación permanente, restingas, dunas y acantilados, dividiéndose en porciones denominadas de anteplaya y postplaya. La anteplaya representa la zona intermareal propiamente dicha, la cual recibe los efectos de las olas, mientras que a la postplaya sólo se llega mediante el rocío de las olas u, ocasionalmente, en mareas vivas excepcionales.

Comúnmente, para el muestreo de comunidades en playas, se utilizan muestreadores o delimitadores (cilíndricos o en forma de caja) con tamaños variables, aplicados en transectos continuos o no, perpendiculares a la línea de flotación, también con ancho y número de réplicas definidas por el investigador.

Para la recolección, los delimitadores son introducidos en el sedimento hasta la profundidad objetivo del estudio (10 cm o más), siendo el material recolectado con el propio delimitador o con el empleo de una pala pequeña.

Las muestras deben ser lavadas preferentemente con agua del propio lugar, inmediatamente después del muestreo, para evitar un choque osmótico.

Considerando que durante la preservación muchos organismos se contraen, dificultando la observación de estructuras importantes para su identificación, algunos taxónomos solicitan que los organismos sean "anestesiados" antes de la fijación con formol o con etanol. De este modo, es importante contactar a los especialistas, para la recomendación, o no, del anestésico a utilizar.

Los procedimientos detallados respecto de estas metodologías se pueden encontrar en Amaral et al. (1994a, 1994b, 1988, 1995a, 1995b, 1991, 1990), Belúcio et al. (1989, 1995), Caramaschi (1987), Leite y Ferreira (1988), Leite, Ramas y Soto-Espinoza (1992), Lopes (1993); Lopes, Amaral y Morgado (1989); Monteiro (1980), Morgado et al. (1994), Pardo y Morgado (1993), Pardo et al. (1994), Reis et al. (1994), Rodrigues et al. (1986), Salvador, Amaral y Morgado (1995), Rosa Filho et al. (2015) y Shimizu (1990, 1992, 1994).

En lo que respecta a las playas, las principales variables ambientales a determinar en estudios de las comunidades biológicas son la pendiente y la topografía (perfil), las características granulométricas del sedimento y el hidrodinamismo, ya que son determinantes de su estructura. La metodología de muestreo de pendiente y perfil de playas se encuentra en la Tabla 6.4.

EQUIPOS	Inclinómetro, nivel de burbuja, medidores plegables (descritos de forma simplificada en Rosa Filho et al. 2015).
FORMA DE MUESTREO	A lo largo del transecto, perpendicular a la línea de flotación, en medidas lineales contiguas.
ÁREA DE MUESTREO	Limitada por las franjas del infralitoral y supralitoral.
RÉPLICAS	Depende del objetivo del trabajo. Las recolecciones en los rincones de las playas posibilitan una mejor caracterización. Si solo es viable una réplica en cada punto, se deberán estandarizar las recolecciones en medio de las playas.

Tabla 6.4. Metodología de muestreo de pendiente y perfil de playas.

c) Infralitoral

El infralitoral es el ambiente marino o estuarino, por debajo de la zona intermareal, que está permanentemente sumergido.

Recolección cuantitativa

En regiones estuarinas o costeras, de un modo general, las recolecciones se realizan con la ayuda de una pinza de fondo, tipo van Veen o Petersen. A mayores profundidades, es preferible utilizar

un tomamuestras de mayor capacidad y más pesado, para favorecer la recolección del sedimento y que no sea arrastrado por la corriente.

Procedimiento de recolección para ensayos cuantitativos de bento marino en el infralitoral

- Tirar del tomamuestras hacia arriba (con la ayuda de un guinche eléctrico o manualmente, preferiblemente con la ayuda de un "palo de carga") después de que el equipo haya alcanzado el fondo y abrirlo en el interior de una cuba de polietileno de tamaño compatible con las dimensiones del equipo y volumen recolectado;
- Desechar el material y repetir el procedimiento en el caso de que el volumen del sedimento muestreado no sea representativo (al menos dos tercios del volumen del muestreador). En el caso de recolección de una comunidad de invertebrados bentónicos, es aconsejable mover la embarcación con el fin de no muestrear en un área que ya sufrió interferencias. Para un muestreo representativo de la comunidad bentónica en un determinado lugar, en virtud de su distribución comúnmente agregada, se sugiere realizar muestreos en réplica, cuyo número dependerá de los objetivos del proyecto y de la capacidad analítica del laboratorio de destino de las muestras;
- Es importante que se considere cada lugar de muestreo no como un punto, sino como un área, y que las réplicas sean obtenidas en esa área y no exactamente en el mismo lugar, de modo que se explore la variabilidad natural. Este aspecto es de fundamental importancia para minimizar conclusiones erróneas sobre el ambiente. Por lo tanto, se recomienda que se alterne las recolecciones en los bordes de la embarcación y que se derive un poco entre las diferentes tomas de muestras;
- Acondicionar las muestras en bolsas de plástico reforzado o lavar en campo, en tamices de malla de 0,5 mm, en el caso de cribado de macrobentos (o malla a definir según el objetivo del proyecto) y agua del lugar;
- Muchos organismos se contraen durante la preservación dificultando la observación de estructuras importantes para su identificación, con la recomendación de algunos taxónomos para que los organismos sean "anestesiados" antes de la fijación con formaldehído o con etanol (CARAMASCHI, 1987);
- Etiquetar por dentro las bolsas plásticas de muestra y los frascos de material lavado (con etiqueta en papel vegetal, escritas a lápiz) y por fuera (con etiqueta a bolígrafo, o lápiz dermatográfico), conteniendo informaciones, tales como el número de la muestra, el número del punto de recolección y de la réplica, nombre del proyecto, fecha de la recolección.

Recolección cualitativa

Como una gran área es muestreada, ese tipo de recolección permite evaluar de modo eficiente la riqueza en especies de la comunidad de macroinvertebrados de una determinada área, principalmente si el tiempo de arrastre es elevado.

Procedimiento de recolección para ensayos cualitativos del bentos marino en el infralitoral

- Recolectar los organismos con un tomamuestras tipo draga provisto de una red con malla compatible con el tamaño de los organismos objetivo (véase el Capítulo 5). Este equipo opera por arrastre horizontal en regiones estuarinas y áreas marinas a una profundidad de hasta 3 m;
- Después de recolectado el sedimento, lavar y almacenar de acuerdo con lo descrito en el ítem anterior (véase también el Apéndice A).

6.1.10.8 Comunidad Nectónica

El necton está constituido por los organismos capaces de nadar activamente contra las corrientes, como la gran mayoría de los peces, diversos crustáceos (como el camarón) y una variedad de moluscos cefalópodos (como los calamares), por ejemplo.

La recolección de necton ejercida únicamente con fines de investigación por instituciones o personas debidamente habilitadas se denomina "pesca científica". Antes de realizar un procedimiento de muestreo de necton es fundamental consultar la legislación de acuicultura y pesca vigente y obtener las autorizaciones necesarias para la actividad.

De acuerdo con el Código de Pesca (*Decreto Ley nº 221, del 28 de febrero de 1967 - Código de Pesca – Establece disposiciones sobre la Protección y Estímulos a la Pesca y dicta otras medidas*), se requiere autorización de los órganos competentes para las expediciones científicas cuyo programa se extienda a la pesca, la cual depende del consentimiento previo. El Instituto Chico Mendes (ICMBio) mantiene en su sitio web una sección destinada a servicios en línea, donde es posible acceder al SISBIO (Sistema de Autorización e Información sobre Biodiversidad), inclusive para obtener *Autorizaciones y Licencias para Fines Científicos y Didácticos*. El SISBIO es un servicio de atención a distancia que permite a los investigadores, por medio del llenado y envío de formularios electrónicos a través de Internet, solicitar autorizaciones, licencias e incluir colecciones científicas, didácticas y particulares en el Registro Nacional de Colecciones Científicas.

Distintos Estados tienen legislaciones específicas de pesca que deben ser consultadas. En el caso del Estado de São Paulo, el Código de Pesca Estatal (*Ley Estadual (São Paulo) nº 11.165, del 27 de junio de 2002 - Código de Acuicultura y Pesca del Estado de São Paulo*) establece que, en las investigaciones relacionadas con la pesca, con recolección de seres vivos, las instituciones y personas debidamente habilitadas deben ser autorizadas por el órgano estatal competente, que decide sobre el mantenimiento de la realización de los proyectos y evalúa los informes que le son obligatoriamente remitidos.

Los tipos de estudio con la comunidad nectónica más frecuentemente realizados son:

- Ensayo de contaminación de organismos;
- Ensayo de metales en sangre de peces;
- Ensayo de episodios de mortalidades de peces y/u otros organismos nectónicos;
- Ensayo de la estructura de la comunidad de peces.

En 2008, la Ley 11.794 (*Ley Arouca*) estableció algunos procedimientos para el uso humanitario de animales con finalidad de enseñanza e investigación científica y propuso que la muerte de un individuo ocurra con el mínimo sufrimiento físico o mental. De esta forma, para que no ocurra sufrimiento o daños a los organismos durante su manipulación, se recomienda el uso de anestésicos para la recolección de organismos de la ictiofauna. El método más empleado para el proceso de anestesia es el uso de aceite de clavo, cuya composición contiene 80% de la sustancia eugenol (INOUE; MORAES, 2007).

El aceite de clavo es poco soluble en agua y la solución de eugenol se prepara de la siguiente forma: agregar 5 mL de aceite de clavo a una probeta y completar con etanol absoluto (anhidro) hasta el volumen de 20 mL, manteniendo esta solución en frasco oscuro bien cerrado y protegido de la luz. La concentración de eugenol en esta solución alcohólica es de aproximadamente 50 mg/mL (1 mL contiene 50 mg

de eugenol). A partir de este punto es posible calcular la cantidad de eugenol a utilizar en un baño anestésico, sabiendo que la concentración de 30 mg/L de eugenol es satisfactoria para anestesiar la mayoría de los peces entre 1-2 minutos (INOUE; MORAES, 2007).

Procedimiento para el baño anestésico con eugenol en recolección de peces

- Llenar un balde de acero inoxidable con 10 L de agua del lugar;
- Agregar 6 mL de la solución alcohólica conteniendo eugenol;
- Sumergir a los individuos en el balde para anestesiarlos (1-2 minutos) y realizar las observaciones necesarias;
- Acondicionar los ejemplares destinados a los ensayos de laboratorio en bolsas plásticas precintadas, o tambores, refrigerados con hielo.

NOTA 1: Es necesario preparar el baño con la concentración final de 30 mg/L de eugenol (o 300 mg de eugenol en 10 L de agua). Como cada 1 mL de la solución alcohólica contiene 50 mg de eugenol, será necesario adicional 6 mL de la solución alcohólica a los 10 L de agua.

NOTA 2: Se recomienda siempre combinar eugenol con hielo para asegurar la mayor eficacia de la anestesia/eutanasia.

a) Contaminación de Organismos

Los organismos para ensayo de contaminantes se pueden recolectar de cualquiera de las formas descritas en el ítem "estructura de la comunidad de peces", e incluso se pueden adquirir de los pescadores locales, siempre y cuando estén en buenas condiciones (no puedan estar en descomposición). Cuando el material (peces, cangrejos, etc.) es adquirido de los pescadores, se debe tener la seguridad del lugar donde fueron recolectados.

Debido a los bajos límites de detección de varias sustancias, los procedimientos de laboratorio y de campo para ensayo de contaminantes en organismos acuáticos son especialmente importantes, ya que puede ocurrir una contaminación cruzada de las muestras durante cualquier etapa de la recolección, manipulación, almacenamiento o ensayo. Se pueden obtener más detalles sobre la recolección y el análisis de contaminantes en el pescado en una publicación específica de la *United States Protection Agency* (USEPA, 2000).

Procedimiento de recolección para ensayos de contaminación de organismos nectónicos

Lavar los organismos recolectados en el agua del ambiente inmediatamente después de la recolección para retirar cualquier material extraño de la superficie externa;

- Reducir al máximo la manipulación de las muestras en campo y evitar el contacto con fuentes de contaminación (humo del motor del barco, grasas, polvo);
- Evitar la contaminación por el hielo utilizado para refrigerar las muestras. Los organismos completos deben ser envueltos individualmente en papel aluminio, o al menos por especie, y colocados en bolsas plásticas limpias que eviten la entrada del agua;
- Etiquetar las bolsas plásticas con la fecha, punto de recolección y especie;
- Agregar hielo a las muestras lo más rápido posible después de la recolección. Si el tiempo de tránsito de las muestras hasta el laboratorio es superior a 24 horas, es preferible el uso de hielo seco (véase el Apéndice A);

NOTA: En el caso de muestras para ensayos microbiológicos, enviarlas al laboratorio en un plazo máximo de 24 h y **NO** congelar, solo refrigerar.

b) Determinación de Metales

Para complementar los estudios ambientales, el biomonitoreo se ha utilizado ampliamente para evaluar la exposición de un sistema biológico a sustancias xenobióticas y la determinación de metales en la sangre de los peces puede usarse para reflejar la exposición reciente de los organismos a estas sustancias químicas.

Procedimiento de recolección para ensayos de metales en peces

- Realizar punción caudal, u otra técnica adecuada a la especie en estudio, con jeringas previamente heparinizadas o con EDTA;
- Transferir las muestras de sangre a microtubos conteniendo aproximadamente 50 µL de heparina o EDTA, con el fin de evitar su coagulación;
- Homogeneizar los microtubos inmediatamente por inversión, de ocho a diez veces;
- Mantener los microtubos bajo refrigeración y protegidos de la luz para su posterior procesamiento en laboratorio (véase el Apéndice A).

c) Mortalidad de Peces y/u Otros Organismos Nectónicos

Para que se consiga determinar la(s) causa(s) de la mortalidad de peces, la principal preocupación es que se proporcione asistencia lo más rápido posible.

Las tomas de muestras de agua (y sedimento, si es necesario), deben ser definidas según las sospechas de las posibles causas y preservadas

conforme a las metodologías descritas en esta guía. Es esencial que sea recolectada una muestra de agua aguas arriba y en el mismo lugar en el que está ocurriendo la mortalidad y, si se considera necesario, una muestra aguas abajo (MEYER; BARCLAY, 1990).

La elección de las variables físicas y químicas a determinar depende de varios factores, tales como: las características de ocupación del suelo en la región, la presencia de residuos industriales o cloacales domésticos, etc. Se recomienda incluir, como mínimo, pruebas de oxígeno disuelto, temperatura, pH y conductividad.

Los ensayos biológicos incluyen el fitoplancton (en casos de floraciones de algas), coliformes o *Escherichia coli* (en casos de contaminación por descarga de aguas residuales) y ensayos de toxicidad.

Procedimiento de recolección para atender a casos de mortalidad

- Recolectar agua y/o sedimento para los ensayos considerados necesarios, conforme a las orientaciones descritas en esta guía;
- Recolectar al menos 5 peces moribundos, o que acabaron de morir, de cada especie;
- Utilizar anestésico, como eugenol, combinado con hielo para la eutanasia de los organismos recolectados;
- Envolver los peces en papel aluminio y colocarlos en un saco plástico;
- Almacenar en caja térmica con hielo y enviarlos al laboratorio para ensayo.

¡Atención!

- No congelar los ejemplares recolectados;
- No recolectar peces muertos hace algún tiempo o en descomposición;
- Observar el comportamiento de los peces que están muriendo (si salen a la superficie para coger aire, si muestran movimientos descoordinados, etc.);
- Observar los cambios en el aspecto externo de los peces, como presencia de hongos, manchas, coloración de las branquias, etc.;
- Todos los datos observados en campo deben ser sistemáticamente anotados en una ficha específica, ya que tales informaciones determinan, inclusive, la elección de los ensayos posteriores a realizar;
- Siempre que sea posible, se deben fotografiar los peces y el lugar de recolección.

d) Estructura de la Comunidad de Peces

En estudios cuantitativos, los equipos de captura deben ser utilizados por un tiempo estandarizado. En el caso de las redes de espera, el tiempo de colocación será el mismo en todos los puntos y las campañas y atarrayas tendrán un número fijo de lanzamientos, por ejemplo. Los estudios cualitativos no implican recolecciones estandarizadas, sino la utilización de varios tipos de equipos, ya que todas son selectivas.

La elección de aparatos de recolección (redes de espera de diversos tamaños de malla, redes de cerco, etc.), depende de las características físicas del medio acuático, como presencia o no de rochas, piedras, aguas paradas, vegetación acuática, entre otras.

Se debe recolectar en los lugares más adecuados para la obtención de la mayor diversidad de especies posible. Estos lugares deben ser elegidos tomándose en cuenta principalmente las informaciones de los pescadores de la región a estudiar. Se debe considerar también la época del año, tomando en cuenta que algunas especies son migratorias, lo que significa que solo es posible capturarlas en períodos muy específicos.

Procedimiento de recolección de peces para determinación de la estructura de la comunidad

- Capturar algunos ejemplares de las especies presentes en el lugar;
- Utilizar anestésico, como eugenol asociado con hielo, para la eutanasia de los organismos recolectados y colocar los ejemplares en bolsas plásticas etiquetadas con fecha y lugar de muestreo;
- Refrigerar y enviar al laboratorio, donde se podrán congelar;
- Adicionalmente, almacenar algunos ejemplares de cada especie en frascos o bolsas de plástico reforzado, conteniendo una solución neutra de formol (10% a 20%) para su identificación taxonómica. Estos ejemplares deben permanecer en esta solución durante al menos 1 a 2 semanas, ya que la fijación puede tardar desde unos días (para especímenes pequeños) hasta una semana (para los especímenes mayores). Se puede inclusive aplicar la solución con ayuda de una jeringa.

NOTA 1: Se recomienda fotografiar un ejemplar de cada especie en campo (principalmente la aleta caudal), seleccionando un ejemplar entero recién sacado del agua, cuando aún presenta todas las tonalidades de color.

NOTA 2: Es importante colocar al ejemplar fotografiado una etiqueta numerada, para la confirmación posterior de la identificación, y de una regla, para que se tenga noción del tamaño del ejemplar.

6.2 Muestreo y Preservación de Muestras para Ensayos de Contaminantes y Nutrientes en Sedimentos

Sedimento es cualquier material originado por la destrucción (descomposición) de cualquier tipo de roca o material de origen biológico, transportado y depositado (alóctono) o solo depositado (autóctono) sobre la superficie terrestre. Los sedimentos están formados por partículas de diferentes tamaños, formas y composición química.

Un diagnóstico ambiental amplio de un cuerpo de agua debe incluir información de los compartimentos de agua y sedimentos. Las concentraciones de contaminantes en el agua indican la carga que el ambiente recibe en el momento de la recolección, mientras el

sedimento refleja la contaminación ocurrida y acumulada en el sistema a lo largo de un período de tiempo.

Los contaminantes y nutrientes absorbidos en los sedimentos pueden quedar a disposición de la columna de agua y la biota por medio de procesos físicos, químicos y biológicos, sirviendo como fuente interna y continua de contaminantes.

Por estas razones, el uso del sedimento como instrumento de evaluación de la calidad de los ecosistemas acuáticos captó la atención de la comunidad científica mundial a partir de la década de 1080.

Debe ser destacado que la evaluación de la calidad del sedimento ayuda a la toma de decisiones sobre las medidas que deben ser adoptadas en el establecimiento de programas de control, mitigación y recuperación del ambiente como, por ejemplo, en procesos de dragado y disposición de sedimentos en canales de navegación. La gestión ambiental debe ser subsidiada por una clasificación de la calidad del sedimento, que integre preferentemente las características físicas, químicas, biológicas y ecotoxicológicas de este compartimento.

El sedimento también se puede clasificar según, por ejemplo, su granulometría, contenido de materia orgánica, contenido de agua, textura, color y origen geológico.

Debido a la complejidad de los ensayos con sedimento, su recolección debe realizarse de acuerdo con procedimientos específicos, establecidos en función del objetivo del estudio.

Como procedimiento general, el agua que cubre el sedimento contenido en el muestreador debe ser retirado mediante sifón o vertiendo el equipo de muestreo. Antes de la homogeneización, los materiales gruesos y no representativos pueden ser retirados por selección manual antes de la transferencia de la muestra a los frascos. La necesidad de retirar este tipo de material depende de ensayos posteriores.

Se debe tener cuidado para garantizar que se mantengan las condiciones de oxidación-reducción del sedimento recolectado, ya que los sedimentos se oxidan rápidamente al entrar en contacto con el

aire, alterando la disponibilidad de contaminantes. Para ello, se debe prestar atención a si es necesario o no llenar el recipiente hasta el tope, dependiendo del ensayo de interés (véase el Apéndice A).

Para la obtención de una muestra compuesta es necesario que de cada réplica se tome el mismo volumen y que se realice bien la homogeneización. Para evitar la oxidación, los volúmenes de las réplicas a mezclar deben mantenerse hasta el momento de la homogeneización en un recipiente inerte y cerrado, de material a definir según el conjunto de ensayos de interés, para la posterior composición de la muestra en una bandeja de acero inoxidable.

Durante la recolección se deben evitar algunos efectos negativos, tales como: olas de presión durante el descenso del equipo, resistencia e inclinación en la penetración del sedimento, lavado durante la remoción y desbordamiento. Un descenso muy rápido, por ejemplo, puede provocar olas de choque y mal funcionamiento del equipo.

Todos los procedimientos de recolección acarrean un cierto grado de disturbio en la integridad de la columna de sedimentos. En estudios geocronológicos, paleolimnológicos, de biorrevolución y de intercambio químico en la interfaz sedimento-agua, por ejemplo, es necesario obtener muestras lo más intactas posible. En estos casos es indicado el uso de muestreadores en tubo (*corer* o testigo) que también permiten el fraccionamiento vertical de la muestra, fundamental para realizar estudios del perfil del sedimento. En el muestreo del depósito reciente (solo la capa superficial de sedimento de 2 a 6 cm) deben ser usados tomamuestras que posibilitan el fraccionamiento de la muestra (*corer* o Ekman-Birge modificada por Lenz).

Muchas veces no es posible obtener suficiente volumen con apenas una toma usando el equipo, por lo que es necesario tomar varias muestras de una misma réplica.

Ya sea una muestra simple, replicada o compuesta, se deben tomar submuestras del mismo volumen para todos los ensayos físicos y químicos que se realizarán y cuyos resultados serán correlacionados.

El volumen de la recolección para los ensayos ecotoxicológicos con sedimento depende del tipo y número de pruebas que se realizarán y de la distribución a los diferentes laboratorios, recomendándose usar recipientes separados para cada tipo de prueba.

Las muestras efectuadas con *corer* y destinadas a ensayos químicos del perfil vertical del sedimento deben ser manipuladas cuidadosamente, con el fin de evitar la mezcla de los estratos, y pueden ser cortadas en el lugar o congeladas en campo, con nitrógeno líquido, para fraccionamiento posterior.

Conforme a los ensayos a realizar en el sedimento, se deben utilizar frascos y equipos adecuados para las actividades de toma de muestras, así como materiales de apoyo como, por ejemplo, cucharas de acero inoxidable o polietileno inerte, bandejas de acero inoxidable o polietileno inerte, cajas térmicas, etc. Podemos citar, como ejemplo, algunos compuestos orgánicos que pueden absorberse en plásticos (excepto el teflón) o degradarse en vidrio alcalino.

Es importante destacar algunos cuidados generales que deben ser tomados para la recolección de sedimento:

- En el mismo punto a muestrear, la recolección de sedimento siempre debe realizarse después de la recolección de agua.
- Si los lugares de muestreo de sedimento están cerca unos de otros, se recomienda recolectar primero la muestra más aguas abajo para evitar la contaminación por perturbación y resuspensión de sedimento debido a las actividades de recolección.
- Deben evitarse las áreas con vegetación acuática donde se puedan recolectar raíces de macrófitos u otro tipo de material.
- Con excepción de la recolección para comunidad bentónica, la mayor cantidad posible de agua que cubre el sedimento debe descartarse del muestreador mediante sifón o vertiendo el equipo de recolección.
- En cuerpos de agua poco profundos donde es necesario que la recolección sea realizada sin embarcación, el técnico de la

recolección debe estar aguas abajo del punto de muestreo. Se debe tomar cuidado de crear la menor perturbación posible en el punto de muestreo, especialmente perturbaciones causadas por caminar en el curso de agua. en estos casos se pueden utilizar cucharas como equipos de muestreo tomando los cuidados indicados en los próximos ítems.

Procedimiento de recolección simple para ensayos en sedimento

- Recolectar el sedimento con un equipo seleccionado y depositar el sedimento recogido dentro de una bandeja de acero inoxidable;
- Repetir la operación hasta la obtención de una cantidad suficiente de sedimento para todos los ensayos requeridos;
- Homogeneizar el sedimento;
- Llenar los frascos para cada ensayo o grupo de ensayos (véase el Apéndice A) usando una cuchara de acero u otro accesorio adecuado;
- Acondicionar la muestra en una caja térmica, en refrigeración (cuando sea necesario), para su transporte.

NOTA: Se debe tener cuidado durante la mezcla para evitar derrames de partículas finas y agua intersticial.

Cuidados para la recolección de sedimentos destinada a ensayos microbiológicos

- La recolección del material se debe realizar conforme al ítem anterior y el llenado de los frascos destinados a los ensayos microbiológicos, y se debe dar prioridad en relación con los otros ensayos, debido al riesgo de contaminación;
- Retirar la tapa del frasco, junto con el papel de aluminio protector, teniendo cuidado de evitar su contaminación con los dedos de guantes u otro material (Fig.
- Cerrar el frasco y seguir el procedimiento de acondicionamiento de las muestras de acuerdo con el ítem anterior.

Cuidados para la recolección de sedimentos destinada a los ensayos de compuestos volátiles

- La muestra destinada al ensayo de compuestos volátiles no debe ser homogeneizada y se debe recolectar con lo mínimo de perturbación, evitando la pérdida de analitos de interés.
- La muestra debe, entonces, retirarse directamente del equipo de recolección, cuando sea posible, antes de ser depositada en la bandeja.
- Cuando esta práctica no sea posible, la porción de muestra para llenar el frasco se debe recolectar inmediatamente después de que la muestra haya sido colocada en la bandeja.
- Cerrar el frasco y seguir el procedimiento de acondicionamiento de las muestras de acuerdo con el ítem anterior.

Procedimiento de recolección compuesta para ensayos en sedimento

- Recolectar réplicas con volúmenes equivalentes, almacenarlas y mezclarlas en una bandeja de acero inoxidable;
- Homogeneizar cuidadosamente (una muestra es considerada bien homogeneizada cuando se presenta uniforme en relación con el color, la consistencia y el contenido de agua);
- Llenar los frascos para cada ensayo o grupo de ensayos (véase el Apéndice A) usando una cuchara de acero u otro accesorio adecuado;
- Acondicionar la muestra en una caja térmica, en refrigeración (cuando sea necesario), para su transporte.

NOTA: Se debe tener cuidado durante la mezcla para evitar derrames de partículas finas y agua intersticial.

¡Atención!

Las muestras de sedimento para análisis de compuestos volátiles y ensayos microbiológicos no deben ser compuestas.

6.3 Recolección y Preservación de Muestras para Ensayos en Efluentes Líquidos

Después de la selección de los puntos de muestreo, de los ensayos a realizar, definición del tipo, frecuencia y período de la recolección (véase el Capítulo 2) se deben organizar los trabajos de campo con base en las estrategias de recolección a utilizar.

Los muestreos de efluentes líquidos se pueden realizar manualmente o con la ayuda de muestreadores automáticos (véase el Capítulo 5) y, conforme a lo descrito en el Capítulo 3, las muestras pueden ser simples o compuestas.

La muestra simple es indicada para los casos en que el caudal y la composición del líquido no presentan variaciones (cualitativas y cuantitativas) significativas y toda la información deseada se puede obtener a través de una única muestra.

La muestra compuesta se adopta para posibilitar la minimización del número de muestras a analizar y, principalmente, cuando se desea obtener un valor medio de una determinada variable.

La composición de las muestras se puede definir en función del tiempo o del caudal. La estrategia de composición basada en el tiempo se recomienda para los casos en los que no hay una gran variación en el caudal del efluente a lo largo del período seleccionado. En los casos en los que se verifica una gran variación del caudal, se recomienda la composición en función de la misma.

Cuando el tiempo es la base de la composición, se toma un volumen fijo de muestra del flujo de efluentes, a intervalos de tiempo fijos. En estos casos, para calcular el volumen de cada alícuota a recolectar, se utiliza la fórmula:

$$V_{al} = \frac{V_{am}}{n}$$

DÓNDE:

V_{al} = volumen de cada alícuota

V_{am} = volumen total de la muestra

n = número de alícuotas

Ejemplo:

En una determinada industria con un proceso de producción continuo, el caudal de lanzamiento del efluente final tratado es prácticamente constante en el tiempo. Considerando una solicitud que involucra efectuar la recolección para los ensayos DBO, aniones, serie de sólidos y sólidos sedimentables con muestra tomada cada 1 hora, por un período de 24 horas, los cálculos necesarios para la determinación de los volúmenes de recolección son:

Observación: Los volúmenes necesarios para cada uno de los ensayos se basan en el Apéndice A.

Datos:

- Volumen total de muestra necesario: 2600 mL
- N° de Alícuotas: 24
- Cálculo del volumen mínimo para cada alícuota:

$$V_{al} = 2600/\ 24 = 108{,}33\ mL$$

Entonces, utilizando la estrategia de recolección compuesta en función del tiempo, se debe recomendar 24 porciones de muestras de mismo volumen (mínimo de 108,33 mL) que quedarán almacenadas conforme a las instrucciones de preservación (véase el Apéndice A) hasta el final del período de muestreo. En este caso, al final, se deben mezclar las 24 porciones, homogeneizar y distribuir la muestra compuesta en los frascos destinados a cada ensayo o conjunto de ensayos conforme a las orientaciones del laboratorio responsable.

Cuando el caudal sea la base de la composición de la muestra, los volúmenes de las alícuotas serán proporcionales a las variaciones de los caudales instantáneos del efluente. Para el cálculo del volumen de cada alícuota, la fórmula utilizada es:

$$V_{al} = \frac{Q_i}{Q_m} \times \frac{V_{am}}{n}$$

DÓNDE:

V_{al} = volumen de la alícuota

Q_i = caudal instantáneo

Q_m = caudal medio

V_{am} = volumen total de la muestra

n = número total de alícuotas

Como el caudal instantáneo Qi varía en cada momento, el volumen de cada alícuota también variará proporcionalmente. El volumen de la muestra V_{am} es función del volumen necesario para la realización de los ensayos a analizar en el laboratorio y el caudal medio Q_m corresponde a la media obtenida durante el período de la composición de la referida muestra.

Ejemplo:

En una determinada Estación de Tratamiento de Aguas Residuales, se sabe que el caudal del efluente tratado final varía considerablemente en algunos momentos del día, de manera que se tiene una solicitud para recolección compuesta en función del caudal por un período de 24 horas para los ensayos DBO (por duplicado), color, turbidez, aniones, serie de sólidos y sólidos sedimentables con toma de muestras cada 1 hora.

Para la realización de este tipo de recolección, como el volumen de cada alícuota solo se calcula al final del intervalo de recolección, es necesario garantizar que el volumen tomado en cada horario sea suficiente para alcanzar este volumen calculado. Esto es, se debe extrapolar el volumen de cada muestra toma. En el ejemplo de este ejercicio, podemos considerar recolecciones de 500 mL cada hora.

Datos:

La tabla 6.5 presenta los valores de caudal registrados en campo, cada hora, dentro del intervalo de recolección.

Horário	08h	09h	10h	11h	12h	13h	14h	15h	16h	17h	18h	19h	20h	21h	22h	23h	24h	01h	02h	03h	04h	05h	06h	07h
Caudal (L/s)	910	750	600	550	600	580	610	620	600	590	600	930	990	700	650	500	450	430	450	470	460	460	780	900

Tabla 6.5. Valores de caudal obtenidos en campo.

Volumen mínimo total necesario de la muestra: 3300 mL*

* Como puede haber pérdidas en los procesos de transferencia, se recomienda trabajar con un volumen extra de muestra. En este ejemplo, consideraremos un volumen de 4000 mL (Vam).

N° de Alícuotas: 24

Caudal medio: 632,5 L/s

Cálculo del volumen mínimo para cada alícuota:

$$V_{al} = \frac{Q_i}{Q_m} \; x \; \frac{V_{am}}{n}$$

$V_{al\,1}$	$V_{al\,2}$	$V_{al\,3}$	$V_{al\,4}$	$V_{al\,5}$	$V_{al\,6}$	$V_{al\,7}$	$V_{al\,8}$	$V_{al\,9}$	$V_{al\,10}$	$V_{al\,11}$	$V_{al\,12}$	Val 13	$V_{al\,14}$	$V_{al\,15}$	$V_{al\,16}$	$V_{al\,17}$	$V_{al\,18}$	$V_{al\,19}$	$V_{al\,20}$	$V_{al\,21}$	$V_{al\,22}$	$V_{al\,23}$	$V_{al\,24}$
240	198	158	145	158	153	161	163	158	155	158	245	261	184	171	132	119	113	119	124	121	121	206	237

Tabla 6.6. Volúmenes de las alícuotas (Val), obtenidos en campo a partir del caudal medio en 24 h.

Entonces, utilizando la estrategia de recolección compuesta en función del caudal, se debe recolectar 24 porciones de muestras de 500 mL que quedarán almacenadas conforme instrucciones de preservación (véase el Apéndice A) hasta el final del período de recolección. Al final, serán retiradas alícuotas de cada una de estas porciones (tomando cuidado de homogeneizar cada frasco antes de retirarlas), conforme a los volúmenes obtenidos por medio de la fórmula y presentados en la Tabla 6.6 (Va1, Val2, ...,Val24), que deben ser mezcladas, homogeneizadas y la muestra compuesta distribuida en los frascos destinados a cada ensayo o conjunto de ensayos conforme a las orientaciones del laboratorio responsable.

Se sugiere que, dependiendo de los ensayos de interés y, considerando un proceso productivo continuo (24 h/día), el período mínimo de muestreo sea de una jornada diaria de trabajo, con el fin de obtener una correlación con las características de la producción. Por ejemplo, se puede realizar una campaña constituida de 4 muestras, cada una de ellas recolectadas en un período de 6 horas, con alícuotas recolectadas cada 30 o 60 minutos. Algunos detalles y limitaciones para la composición de muestras se encuentran descritos en el Capítulo 3.

De modo general, los procedimientos de recolección para efluentes líquidos siguen los mismos criterios definidos para toma de muestras de agua bruta de superficie conforme se presenta en el ítem 6.1. y se pueden utilizar los equipos para recolección de superficie presentados en el Capítulo 5.

Muchas veces las muestras de efluentes, especialmente las de efluentes brutos, presentan un elevado contenido de material en suspensión y/o sedimentable, de manera que se debe tomar mucho cuidado en la distribución de las muestras en los frascos, ya que este tipo de material se puede ir acumulando en el fondo del muestreador después de tomar la muestra. En caso de observar ese tipo de ocurrencia, se sugiere el uso de algún tipo de agitación para homogeneizar el material recolectado, tomando siempre cuidado de no contaminar o degradar la muestra.

Algunos ensayos, como aceites y grasas y sólidos, se incluyen con frecuencia en los programas de muestreo de efluentes líquidos (Apéndice B) y requieren de cuidados especiales en sus recolecciones, no descritos en el Capítulo 6.

Procedimiento de recolección de efluentes para ensayos de aceites y grasas

- Realizar la recolección con la ayuda de un balde de acero inoxidable y llenar prioritariamente el frasco destinado a este ensayo (alternativamente se puede realizar una toma de muestra específica para ese ensayo, inclusive de forma manual con el propio frasco de recolección cuando sea posible);
- No llenar demasiado el frasco de la muestra y conservarlo conforme lo requiera el método (véase el Apéndice A);
- Acondicionar la muestra en una caja térmica, en refrigeración (cuando sea necesario), para su transporte.

NOTA 1: Para recolectar muestras en réplicas, realizar las tomas de muestra secuencialmente en el menor intervalo de tiempo posible, en paralelo o en un gran recipiente con agitación mecánica (en este último caso, sifonear las porciones individuales en los frascos de muestra);

NOTA 2: Cuando se requiere información sobre las concentraciones medias de aceites y grasas durante un período prolongado, se deben recolectar muestras simples a intervalos de tiempo predeterminados, ya que los procedimientos de muestreo compuesto conducen a pérdidas del analito.

Procedimiento de recolección de efluentes para ensayos de sólidos

- Hacer la toma de muestras conforme al procedimiento general de recolección para ensayos químicos en agua bruta de superficie, sin embargo, se refuerza la preocupación en relación con la necesidad de mantener la homogeneidad de la muestra durante la transferencia al frasco de muestreo, ya que se trata de una significativa fuente de error y variabilidad para estos ensayos, en especial para fracciones no disueltas;
- Acondicionar la muestra en una caja térmica, en refrigeración (cuando sea necesario), para su transporte.

NOTA: Consultar el Apéndice A para sugerencias de frascos y volúmenes de muestras. La mayor parte de las metodologías de ensayo recomienda frascos de vidrio borosilicato, plástico o fluoropolímero [por ejemplo, politetrafluoretileno (PTFE)], siempre que los sólidos suspendidos en la muestra no se adhieran a las paredes del recipiente.

6.4 Recolección y Preservación de Muestras en Emergencias Químicas

Es muy importante que el equipo entrenado para atender accidentes químicos esté preparado para obtener muestras que contienen productos

o residuos inflamables, explosivos, reactivos, tóxicos, asfixiantes, corrosivos, oxidantes o con elevada carga orgánica enriquecida con minerales y nutrientes. A diferencia de las recolecciones que involucran muestras conteniendo contaminación ordinaria, la atención a accidentes químicos se caracteriza por la ocurrencia de contaminación aguda y normalmente con mayor número o concentración de productos, lo que puede ocasionar, directa o indirectamente, serios daños al medio ambiente, a los seres vivos, a la salud y a la seguridad de la población, así como perjuicios materiales, sociales y económicos. También se recomienda que el equipo cuente con los recursos adecuados para investigar las características del ambiente en el que se está realizando la recolección en el momento en que se realiza, utilizando equipos de detección portátiles que estén debidamente calibrados, ajustados y chequeados. Por ejemplo, para accidentes que involucran líquidos inflamables, es importante tener a la mano una alarma de gas combustible con indicador de oxígeno; los accidentes que involucren productos o residuos que tengan una fracción no miscible con agua podrán ser monitoreados con un medidor de interfaz electrónica o, en el caso de aguas subterráneas, con un tubo extractor desechable tipo Bailer; para accidentes que involucren compuestos orgánicos volátiles, es imprescindible contar con un fotoionizador; los productos corrosivos deberán ser monitoreados mediante el uso de un medidor de pH o papeles indicadores de pH; los analizadores de gases pueden ser útiles para una amplia gama de productos y hay detectores portátiles específicos para productos como cloro, mercurio, ácido cianhídrico, amoniaco, etc.

Con relación al material de recolección, es necesario que este sea adecuado para las actividades a desarrollar potencialmente (BONN AGREEMENT, 2021), como por ejemplo equipos específicos para diferentes matrices y/o ambientes (véase el Capítulo 5). Diferentes equipos pueden concluir que necesitan tener diferentes recursos, considerando, por ejemplo, las características de los productos y los residuos producidos, procesados, transformados, manipulados, transportados o almacenados localmente.

En el Estado de São Paulo, las estadísticas de accidentes relacionados con la atención de emergencia desde 1978, muestran un universo de casi 12.800 emergencias atendidas hasta abril de 2023 (CETESB, 2023), de las cuales el 35,32% fueron por líquidos inflamables; 17,06% por productos no identificados; 16,93% por productos no clasificados como peligrosos para el transporte; 10,27% por sustancias corrosivas; 5,95% por gases inflamables; 5,24% por sustancias y artículos peligrosos diversos; 2,64% por gases tóxicos; 1,77% por sustancias tóxicas; 1,67% por sustancias oxidantes; 1,11% por sólidos inflamables; sustancias que reaccionan espontáneamente y explosivos sólidos insensibilizados; 1,09% por gases no inflamables y no tóxicos; 0,47% por sustancias sujetas a combustión espontánea; 0,22% por sustancias que, en contacto con el agua, desprenden gases inflamables; 0,14% por peróxidos orgánicos; 0,07% por sustancias y artículos con riesgo de explosión masiva; 0,03% por sustancias infecciosas; 0,01% por sustancias radioactivas y un 0,01% por sustancias y artículos que no representan riesgo significativo.

Considerando la diversidad de sustancias potencialmente involucradas, se recomienda mantener *kits* de recolección en los vehículos de respuesta a, conteniendo, por ejemplo, 3 frascos para recolección de aceites y grasas, 3 frascos para recolección de pesticidas, 6 frascos para determinación de compuestos orgánicos volátiles, 3 frascos para la recolección de sedimentos, 3 frascos para la recolección de hidrocarburos aromáticos policíclicos y 3 frascos para el ensayo de ecotoxicidad (Figura 6.32).

Además de los frascos, es importante tener disponible en el *kit* otros accesorios como, por ejemplo: 1 pala de acero inoxidable (para la recolección de sedimentos), 1 beaker de 100 mL, 1 varilla de vidrio (para homogeneización o dilución de muestras), preservantes químicos para muestras (véase el Apéndice A), papel aluminio (para su uso en los frascos de muestreo destinados a algunos ensayos orgánicos), bolsas plásticas diversas (para el acondicionamiento de algunas de las muestras) y papel indicador de pH.



Figura 6.32. *Kit* para recolección de muestras en situaciones de emergencias químicas.
Fuente: Sector de Emergencias/Banco de imágenes de CETESB.

Es necesario tener un lugar para la refrigeración de las muestras, como cajas térmicas con hielo o minibar, y mantener junto al material de recolección instrucciones operativas de trabajo referentes a estrategias para la preservación de muestras, a los tipos de prueba de toxicidad y a la recepción de muestras, para posibles consultas.

La determinación de ciertas variables fisicoquímicas es de gran importancia durante la respuesta a las emergencias químicas, tomando en cuenta que las mismas pueden alterarse en función del escenario accidental y del tipo y características del producto involucrado en la emergencia. Se recomienda contar con equipos portátiles para la realización de ensayos de campo (pH, oxígeno disuelto, conductividad, turbidez, temperatura del agua, etc.), como las sondas multiparamétricas.



CAPÍTULO 7

MUESTREO DE AGUAS PARA CONSUMO HUMANO Y AGUAS SUBTERRÁNEAS

7. MUESTREO DE AGUAS PARA CONSUMO HUMANO Y AGUAS SUBTERRÁNEAS

El monitoreo de la calidad del agua para suministro público puede ser entendido como una actividad de vigilancia o de investigación y consiste en evaluar continuamente la calidad del agua consumida por la población, que permite la identificación de factores de riesgo y la definición de estrategias de mejora de la situación existente, además del seguimiento de los impactos resultantes de las medidas implementadas. Las fuentes de agua para el suministro público están representadas por los manantiales de agua superficial y subterránea.

Las aguas subterráneas representan cerca del 98% del agua dulce del planeta y se almacenan en los poros y fracturas de las rocas, dando origen a los acuíferos, en general con buena calidad de agua, que conforman las reservas estratégicas de agua potable. De esta forma, las aguas subterráneas son generalmente muestreadas para la determinación de sus características químicas para el consumo humano (CETESB, 2019).

EL monitoreo de las aguas subterráneas contribuye a la identificación de contaminaciones causadas por actividades industriales y, también, al establecimiento de valores de referencia, verificar tendencias de las concentraciones de los analitos a lo largo del tiempo, identificar áreas con alteraciones de calidad y ayudar en las acciones de prevención y control de la contaminación del suelo y de las aguas subterráneas (CETESB, 2021).

En este capítulo se abordarán estrategias de muestreo y recolección de aguas para consumo humano y de aguas subterráneas.

7.1. Muestreo de Aguas para Consumo Humano

El agua tratada se debe recolectar en lugares en los que las aguas se sometieron a algún tipo de tratamiento (convencional o simplificado), como sistemas de producción (Estación de Tratamiento de Agua -

ETA), de reservación, red de distribución y soluciones alternativas colectivas de suministro de agua.

A la hora de establecer la frecuencia de muestreo para un monitoreo más global del agua para consumo humano, surge la necesidad de realizar un balance de los beneficios y costos de obtener un volumen mayor de información. El número de muestras y la frecuencia de la recolección se basan generalmente en la población suministrada o en el volumen de agua distribuido, con el fin de reflejar el riesgo para la población y también se definen de acuerdo con la legislación vigente, así como los lugares, los ensayos y los valores máximos permitidos. La frecuencia de los análisis para cada ensayo también dependerá de la variabilidad de la calidad del agua. Se requiere una mayor frecuencia de análisis de ensayos microbiológicos y cloro residual libre que de fisicoquímicos en general, esto porque episodios breves de contaminación microbiológica pueden provocar fácilmente brotes de enfermedades gastrointestinales en los consumidores, mientras que episodios de contaminación química, que podrían constituir un riesgo agudo para la salud, son raros (WHO, 2006).

Para la definición de los lugares de recolección y de los ensayos a realizar en un sistema de tratamiento de agua para consumo humano es necesario el conocimiento de todas las etapas del proceso, desde la calidad del agua del manantial, sistema de aducción, etapas del tratamiento en la ETA, reservación y puntos de distribución hasta la entrega al consumidor final. Se deben tener en cuenta las características específicas de cada unidad de producción (Fig. 7.1), trabajando en consonancia con el Plan de Seguridad del Agua (PSA), de acuerdo con las orientaciones de la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2022) y con la legislación vigente en materia de agua para el consumo humano.

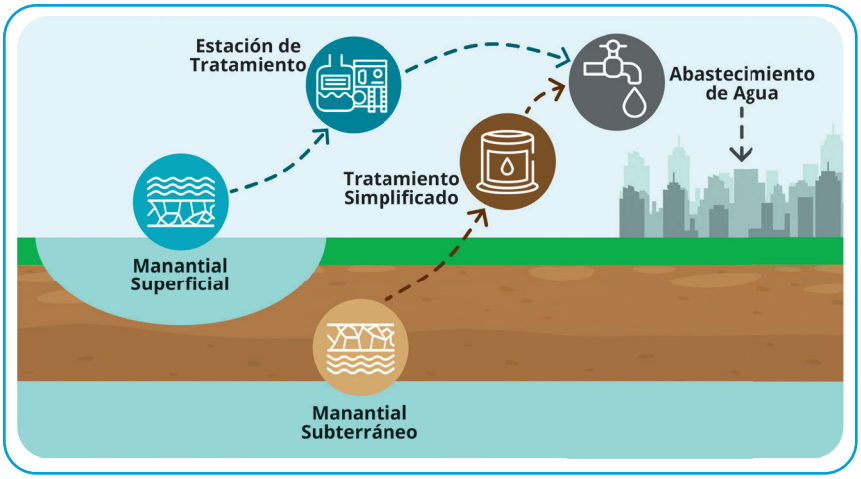


Figura 7.1. Diagrama con ejemplo de sistemas de captación y distribución de agua.
Fuente: Renan Lourenço de O. Silva/Banco de imágenes de CETESB

Los procedimientos operativos que se deben adoptar en este contexto dependen de factores como: tipo de manantial de suministro (río, lago, represa, subterráneo, lluvia, etc.); calidad inicial del agua (composición química y biológica); distancias recorridas; factores climáticos, topográficos y ambientales; aplicación de productos químicos durante el proceso y tiempo de contacto necesario para las respectivas reacciones químicas y biológicas; tipo de tratamiento requerido, etc.

Los responsables del suministro de agua deben mantener una evaluación del sistema o solución alternativa colectiva de suministro de agua bajo la perspectiva de los riesgos para la salud, con base en la ocupación de la cuenca contribuyente al manantial, en el histórico de las características de sus aguas, en las características físicas del sistema, en las prácticas operativas y en la cantidad del agua distribuida, conforme a los principios de los Planes de Seguridad del Agua (PSA) recomendados por la Organización Mundial de Salud o definidos en directrices vigentes.

Considerando que el objetivo del control de calidad es comprobar la potabilidad del agua, verificar los puntos críticos del sistema y proporcionar subsidios al área operacional, corrigiendo de inmediato

las posibles anomalías detectadas, es natural que su plan de muestreo sea el más amplio posible.

Los puntos de toma de muestras se pueden seleccionar con base en puntos críticos y no críticos, direcciones fijas y variables. La elección debe tener como objetivo la obtención de información sobre el suministro y consumo de agua en el área de evaluación. La representatividad deseada puede estar compuesta por los siguientes criterios:

- **Distribución geográfica:** salida del tratamiento o entrada en el sistema de distribución; salida de embalses de distribución; puntos de la red de distribución; áreas más densamente pobladas; puntos no monitoreados por el control (soluciones alternativas, fuentes individuales en el medio urbano, escuelas en la zona rural, etc.);
- **Situaciones de riesgo:** áreas con poblaciones en situación sanitaria precaria; consumidores más vulnerables (hospitales, escuelas, guarderías, etc.); áreas cercanas a fuentes de contaminación (industrias, vertedores, puntos de descarga de aguas residuales, cementerios, etc.); áreas sujetas a la presión negativa en la red de distribución; puntos en que los resultados del control indiquen problemas recurrentes; soluciones alternativas desprovistas de tratamiento o de red de distribución; vehículos de transporte y áreas que, desde el punto de vista epidemiológico, justifiquen atención.

7.1.1 Muestreo en Estación de Tratamiento de Agua (ETA)

Los lugares de recolección para el control de las condiciones de operatividad de la estación y consecuente caracterización de la calidad del agua producida deben ser elegidos en el transcurso del proceso (entrada de la ETA, floculación, decantación, filtración, desinfección/fluoración/salida de la ETA), cuyos puntos de toma de muestras generalmente están disponibles en el laboratorio de la estación (Fig. 7.2). Cuando la toma de muestras se realiza en los grifos de control de calidad de funcionamiento de la estación, se recomienda no alterar el caudal de los mismos, ya que habrá alteración significativa en las características del agua.

Los detalles del muestreo se incluyen en el procedimiento resaltado al final del subítem 7.1.



Figura 7.2. Grifos localizados en el laboratorio de una ETA para el control de las etapas del proceso de tratamiento.

Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

7.1.2 Muestreo en Sistemas de Distribución

La protección del sistema de distribución es esencial para asegurar la calidad del agua de consumo humano. Los sistemas de distribución, debido a que incluyen grandes tramos de tuberías, reservorios de almacenamiento, interconexiones y por estar sujetos a adulteración y vandalismo, son vulnerables a la contaminación química y microbiológica.

Cuando el suministro de agua es intermitente, la baja presión de agua resultante posibilita el ingreso de contaminantes en el sistema a través de fracturas, grietas, juntas y agujeros presentes en las tuberías. Aunque no es deseable, la intermitencia en el suministro de agua es muy común y el control de agua en esa situación es un desafío, ya que los riesgos de infiltración y reflujo aumentan significativamente.

Los microrganismos naturalmente presentes en el agua (amebas de vida libre, bacterias heterotróficas, hongos), bajo condiciones favorables, pueden colonizar el sistema de distribución formando biopelículas. Normalmente, los microrganismos presentes en las biopelículas no constituyen un riesgo para la salud de la población en general, con algunas excepciones, como es el caso de la *Legionella* y *Klebsiella*, que pueden colonizar el sistema de distribución de agua (WHO, 2022).

El agua que entra en el sistema de distribución debe ser microbiológicamente segura y biológicamente estable. El sistema de distribución, por sí solo, debe proporcionar una barrera segura para evitar la contaminación del agua durante el transporte hasta el consumidor. Es importante mantener un residual de agente desinfectante en el sistema de distribución para protegerlo contra la contaminación microbiológica y limitar problemas de crecimiento bacteriano (WHO, 2022).

Los fenómenos naturales, como inundaciones, sequías y movimientos sismológicos, y actividades antrópicas, como el tráfico pesado y obras civiles, pueden afectar significativamente las tuberías de agua de los sistemas de distribución y provocar la aparición de epidemias. Se deben tomar medidas específicas e inmediatas para garantizar la salud de la población, incluido el aumento de la frecuencia de muestreo.

El monitoreo operacional de los sistemas de distribución canalizados frecuentemente incluye ensayos como: cloro residual, indicadores bacterianos de contaminación fecal (*E. coli*, coliformes termotolerantes), coliformes totales, bacterias heterotróficas, pH, fluoruro, color y turbidez. La elección de los puntos de recolección depende de cada sistema de suministro. Las recolecciones para análisis microbiológicos y ensayos asociados, como de cloro residual, se realizan con mayor frecuencia y en puntos de recolección dispersos. También se debe prestar especial atención a los puntos de recolección y frecuencia de muestreo de los componentes químicos, provenientes de tuberías y soldaduras, que no son controlados directamente por la legislación y a los componentes que pueden formarse en el sistema de distribución, como los trihalometanos (THMs).

Procedimientos de recolección en la red de distribución

La toma de muestra para ensayo del agua contenida en la red de distribución generalmente es realizada en un grifo específico para ese fin u otro grifo que recibe agua directamente de la red de suministro público. (Figs. 7.3 y 7.4).

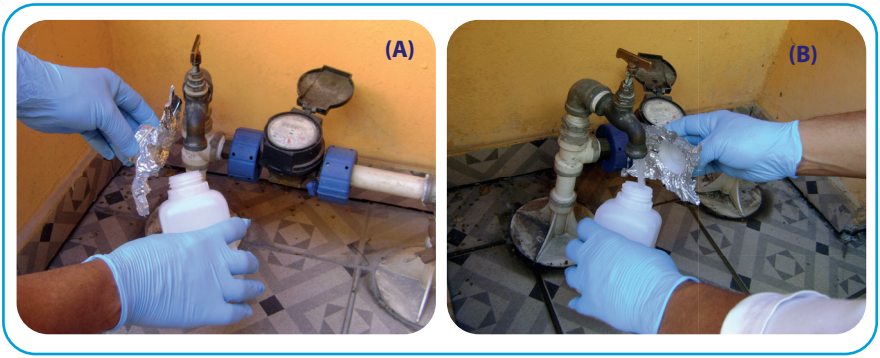


Figura 7.3. Toma de muestra en el grifo, después del hidrómetro.
Foto: Venício Pedro Ribeiro/Banco de imágenes de CETESB.



Figura 7.4. Toma de muestra en el grifo del jardín, después del hidrómetro.
Foto: Venício Pedro Ribeiro/Banco de imágenes de CETESB.

Es necesario asegurarse de que el agua sea proveniente de la red de distribución y no de tanques o reservorios internos, por medio de la **prueba de caballete**. Esta prueba consiste en cerrar la llave de entrada de agua de la red de distribución y abrir el grifo indicado para la recolección; Si no fluye agua por el grifo, se concluye que el agua realmente proviene de la red de distribución.

No tomar muestras de grifos que gotean y evitar, siempre que sea posible, recolectar de grifos sujetos a contaminación externa por estar muy cerca al suelo, por ejemplo, y en grifos con accesorios como filtros, aireadores, guías de flujo o rejillas, ya que pueden ser fuente de contaminación, especialmente microbiológica, lo que no refleja la calidad del agua de distribución. Si la limpieza del grifo es cuestionable, elegir otro grifo siempre que sea posible, pero si un grifo cuestionable es necesario para propósitos especiales de muestreo, se le debe desinfectar (interna y externamente), aplicando una solución de hipoclorito de sodio (100 mg/L), y dejar que el agua corra con un flujo consistente por más 2 a 3 minutos después de ese procedimiento (APHA; AWWA; WEF, 2023).

Abrir el grifo y dejar que el agua corra de dos a tres minutos o el tiempo suficiente para eliminar el agua estancada en la tubería y después ajustar la abertura del grifo a media sección, para que el flujo de agua sea pequeño y no haya salpicaduras. Tomar las muestras para los ensayos requeridos, llenando secuencialmente cada frasco de muestreo necesario y cuidando de que no haya contacto con el grifo, evitando posibles contaminaciones.

Al final del subítem 7.1 se destaca un procedimiento paso a paso para la recolección.

Procedimientos de muestreo en embalses

La toma de muestra puede ser realizada en el grifo de salida de agua del embalse, en la salida del registro de control o directamente del embalse con la ayuda de un balde de acero inoxidable y cuerdas, que solo deben ser desempaquetados en el momento de la recolección.

Para la recolección destinada a ensayos microbiológicos, los equipos deben ser esterilizados (Fig. 7.5).



Figura 7.5. Toma de muestras en embalse con balde y cuerda estériles: (A) Balde estéril, (B) Balde y cuerda estéril en procedimiento de muestreo.
Foto: Venício Pedro Ribeiro/Banco de imágenes de CETESB.

Los detalles del muestreo se incluyen en el procedimiento resaltado al final del subítem 7.1.

7.1.3 Muestreo en Soluciones Alternativas de Suministro de Agua

Una solución alternativa de suministro de agua para consumo humano es todo tipo de suministro destinado a proporcionar agua potable, con captación subterránea o superficial, con o sin canalización, y sin red de distribución, incluyendo industrias, fuentes, pozos comunitarios, distribución mediante vehículo de transporte, entre otros.

Los procedimientos para la toma de muestra deben tener en cuenta las características individuales de cada unidad y, en este capítulo, se describen algunos detalles para recolecciones en pozos freáticos y profundos.

Pozos Freáticos y Profundos Equipados con Bomba

El agua del pozo se debe bombear durante el tiempo suficiente para eliminar el agua estancada en la tubería. La recolección se debe realizar en un grifo cercano a la salida del pozo o en la entrada del embalse. Si es necesario, el grifo se puede desinfectar con la aplicación de una solución de hipoclorito de sodio 100 mg/L. En este caso, el exceso de hipoclorito de sodio se debe remover antes de la recolección.

Los detalles del muestreo se incluyen en el procedimiento resaltado al final del subítem 7.1.

Pozos Freáticos Sin Bomba

La toma de muestra puede ser realizada con la ayuda de un balde de acero inoxidable y cuerda que solo deben ser desempaquetados en el momento de la recolección. Para la toma de muestra destinada a ensayos microbiológicos, los equipos se deben esterilizar.

Sumergir el balde y en este proceso se debe tomar cuidado de evitar el contacto de los equipos (balde y cuerda) con las paredes del pozo y de la cuerda con el agua. Después de llenado, retirarlo con los mismos cuidados.

Para la recolección de muestras en vehículo de transporte de agua, se puede adoptar ese mismo procedimiento.

Procedimiento de toma de muestra en ETA, red de distribución, embalses o soluciones alternativas de suministro público

- Llenar el frasco destinado a los ensayos microbiológicos directamente del grifo o con ayuda de equipos;
- Retirar la tapa del frasco juntamente con el papel aluminio protector, manteniéndola a una distancia de aproximadamente 10 cm, para evitar contaminación;
- Llenar el frasco con la muestra hasta aproximadamente ¾ (tres cuartos) de su volumen, para posibilitar su homogeneización;
- Cerrar inmediatamente el frasco, fijando el papel aluminio protector alrededor de la tapa;
- Llenar los frascos destinados a otros ensayos;
- Conservar y acondicionar las muestras conforme al Apéndice A.

NOTA: Para cuidados específicos referentes a otros ensayos, consultar el Capítulo 6.

7.2 Muestreo de Aguas Subterráneas

Al igual que las aguas superficiales, también es necesario proteger las aguas subterráneas, ya que pueden verse afectadas por contaminantes resultantes de la disposición inadecuada de residuos sólidos y efluentes líquidos, domiciliarios y urbanos, impactando las reservas de agua dulce disponibles.

En las áreas rurales y periurbanas las aguas subterráneas se utilizan ampliamente para uso doméstico, en la irrigación y en la agroindustria. También son importantes para el mantenimiento de los sistemas acuáticos superficiales y, por lo tanto, de los ecosistemas terrestres. Algunos acuíferos son más vulnerables, pero todos requieren de vigilancia de la calidad del agua y medidas preventivas y de control aplicadas a las fuentes potencialmente contaminantes (CETESB, 2019).

Los datos proporcionados por los programas de monitoreo de las aguas subterráneas son necesarios para la conducción de acciones de remediación ambiental, de manera que los procedimientos y métodos para la obtención de estas muestras deben ser tratados con la máxima atención, de manera que las muestras recolectadas reflejen la calidad del agua en un área de interés (NEGRÃO, 1997).

7.2.1 Pozos Freáticos y Profundos

Muchas veces el monitoreo de la calidad del agua subterránea se realiza por medio de muestreos en pozos freáticos, con y sin bomba, y también en pozos profundos.

Los procedimientos de muestreo para estos casos son los mismos descritos en el ítem 7.1.3. Sin embargo, para la evaluación del agua subterránea bruta se debe recolectar en pozos sin la interferencia de procesos de tratamiento, como la desinfección (cloración, por ejemplo).

7.2.2 Pozos de Monitoreo

Los pozos de monitoreo son instrumentos de construcción duradera que permiten el acceso directo al agua subterránea procurando la obtención de muestras representativas para ensayos de laboratorio diversos y el monitoreo de las condicionantes hidrogeológicas e hidrogeoquímicas locales (Fig.7.6).



Figura 7.6. Pozo de monitoreo de agua subterránea.
Foto: Paulo Sérgio G. Rocha/Banco de imágenes de CETESB

La calidad de las muestras recolectadas depende de la construcción y el mantenimiento adecuado de los pozos, de las diferentes estrategias de purga utilizadas en el muestreo, de los equipos utilizados en la recolección y de los diversos procedimientos de manipulación, preparación y análisis.

Debido a la preocupación por obtener una muestra que represente la calidad del agua subterránea de formación, los métodos de purga fueron históricamente empleados con el objetivo de retirar porciones de agua estancada de los pozos de monitoreo y la selección de estos métodos debe considerar, principalmente, las características hidráulicas del pozo.

Independientemente del método utilizado, es importante tener cuidado al ejecutar los procedimientos, ya que los errores pueden provocar posibles efectos negativos derivados de los procesos de purga, y la consecuente obtención de muestras no representativas, como el aumento de la turbidez causado por un posible aumento en la velocidad de flujo del agua subterránea.

Entre los métodos de purga, podemos citar los métodos de volumen determinado, purga mínima y purga de bajo caudal.

La **purga de volumen determinado**, conocida también como método convencional, consiste en purgar un volumen conocido de agua, normalmente de 3 a 5 veces el volumen de agua del pozo, con el fin de garantizar que se elimine toda el agua que pueda estar estancada en el pozo. Para la realización de este método, la purga debe ser realizada de forma uniforme, no turbulenta y a caudales compatibles con la capacidad hidráulica del pozo, con una caída mínima del nivel del agua para que no haya efecto cascada en la sección filtrante y arrastre de sedimento hacia el interior del pozo.

La **purga mínima** es un método empleado para la toma de muestras en pozos de monitoreo con baja capacidad hidráulica, normalmente instalados en formaciones con conductividad hidráulica muy baja, en los cuales el uso de otros procedimientos de purga conduce al agotamiento de los pozos. Se trata del método de muestreo que permite la recolección sin perturbaciones significativas en la columna de agua y sin caída de nivel del agua que pueda alterar las características de las muestras recolectadas. Entonces se supone que el agua ya existente en la región de la **sección filtrante del pozo** es representativa del agua de formación.

En resumen, el muestreo de purga mínima requiere la extracción del menor volumen de agua posible, antes del inicio de la recolección, con caudales de bombeo que no deben exceder los 100 mL/minuto. El volumen a recolectar generalmente se limita al volumen del sistema de muestreo (cámara de la bomba y tubo de descarga, por ejemplo) y después de la eliminación de este volumen de agua se procede a la recolección.

El **método de bajo caudal**, actualmente uno de los más empleados, toma en cuenta las características geoquímicas del agua de formación para definir la finalización de la purga, que es realizada con caudales entre 50 mL/minuto y 1000 mL/minuto, de acuerdo con la capacidad hidráulica de cada pozo que es acompañada por medio de mediciones del nivel del agua durante todo el procedimiento. Los parámetros fisicoquímicos indicadores (pH, conductividad, oxígeno disuelto, temperatura y potencial redox) son monitoreados hasta que se estilicen, momento en el que se completa la purga y se puede iniciar la recolección de las muestras (Fig.7.7).

> ***¡Consulte!***
>
> Los requisitos y detalles para la realización de los diferentes métodos de purga están establecidos en la ABNT NBR 15847:2010 – Muestreo de agua subterránea en pozos de monitoreo – Método de Purga.



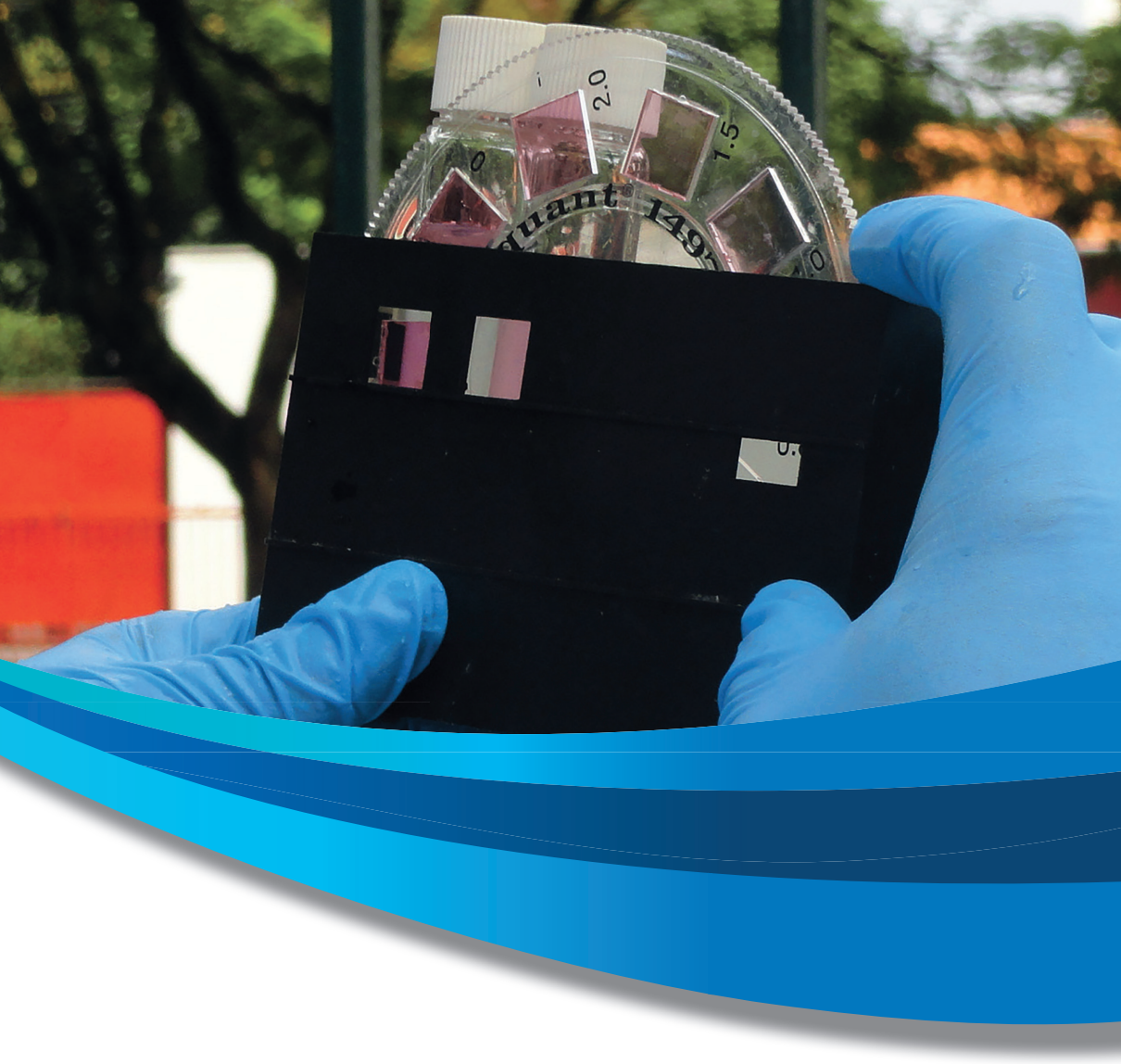
Figura 7.7. Muestreo de agua subterránea en pozo de monitoreo mediante el método de bajo caudal: (A) Introducción de la bomba al pozo; (B) Recolección de Muestra.

Foto: Renan Lourenço de O. Silva/Banco de imágenes de CETESB.

Aunque el ensayo de turbidez no esté previsto como parámetro indicador en la actual edición de la norma "Muestreo de agua subterránea en pozos de monitoreo - Métodos de purga" (ABNT, 2010), se trata de un excelente indicador de la calidad del proceso de purga, ya que, normalmente, el aumento de los valores de turbidez está relacionado a caudales inadecuados de purga. Por lo tanto, se recomienda que este ensayo se realice, al menos al inicio y al final de la purga (NEGRÃO; KAMINSKI, 2007).

Si bien la norma describe detalles de los procedimientos de purga, no presenta información específica sobre la etapa de recolección. De esta forma, los cuidados y requisitos relacionados a cada tipo de ensayo de interés deben consultarse en el Capítulo 6 y en el Apéndice A.

La elección del equipo de recolección, como por ejemplo el tipo de bomba a utilizar, depende del método de muestreo, tipo y localización del pozo, del nivel de agua, de las características físicas del pozo, de la química del agua subterránea y de los analitos de interés. Siempre que sea posible, se debe evitar el uso de métodos y equipos que causen agitación o perturbación del agua contenida en el pozo.



CAPÍTULO 8

ENSAYOS DE CAMPO

8. ENSAYOS DE CAMPO

Debido a la preocupación sobre la representatividad de los resultados obtenidos, a la inestabilidad de algunos analitos y también a las nuevas tecnologías disponibles, algunos ensayos se realizan frecuentemente en el lugar de la recolección y, por ello, son denominados **ensayos de campo.** Las mediciones deben ser realizadas en porciones de muestras recolectadas específicamente para esta finalidad y, cuando corresponda, los ensayos pueden ser realizados directamente en el cuerpo de agua por medio del uso de equipos específicos (como sondas multiparámetro), inclusive con cables con longitudes que alcancen cualquier punto de la columna de agua que se desea analizar.

Este capítulo aborda aspectos prácticos generales para la realización de los principales ensayos realizados en campo, sin embargo, es necesario que los mismos sean efectivamente implementados y tengan su desempeño evaluado con base en métodos nacional o internacionalmente validados y que los técnicos estén debidamente capacitados para conocer las limitaciones, posibles interferencias y otras informaciones para la garantía de la confiabilidad de los resultados obtenidos.

Es fundamental que los equipos estén actualizados en cuanto a las principales políticas y recomendaciones relacionadas a la calidad de laboratorio, ya que estas establecen orientaciones y requisitos para la calibración y ajustes de los equipos, utilización de materiales de referencia certificados (MRCs), chequeos, ensayos en réplicas, participación en actividades de ensayos de aptitud y otros controles, cuando corresponda.

> ***¡Atención!***
>
> Cuando se utilizan equipos de ensayos de campo, se debe prestar atención a la necesidad de limpieza durante los procedimientos de ajuste y medición. En la práctica, las partes que entran en contacto con las muestras (como cubetas, sensores y electrodos) deben lavarse con agua reactiva y secarse con papel suave siempre que entren en contacto con muestras, estándares o reactivos.

8.1 Cloro Residual - Método DPD

El cloro es un reactivo altamente oxidante y es utilizado en los sistemas de tratamiento y distribución de agua para suministro público, principalmente, para eliminar o inhibir la acción de los microorganismos patógenos y garantizar su calidad en términos microbiológicos, siendo su concentración un estándar en la legislación con fines de potabilidad. Para ampliar la eficacia de la desinfección y garantizar la potabilidad, es conveniente mantener niveles mínimos de cloro residual en la red de distribución, cuyas concentraciones se encuentran establecidas en directrices reglamentadas por las Ordenanzas del Ministerio de Salud.

El cloro, en su forma gaseosa, puede provocar la irritación del tracto respiratorio y de los tejidos oculares. Su forma elemental, sin embargo, no se encuentra en la naturaleza, estando asociada a otros elementos químicos, principalmente el cloruro de sodio. La adición de cloro (cloración) promueve una mejora en la calidad del agua para suministro en términos químicos, ya que promueve la reacción del cloro con amoniaco, hierro, manganeso, sulfuros, además de sustancias orgánicas presentes en el agua. Sin embargo, pueden ocurrir algunos efectos adversos, como la formación de compuestos organoclorados, conocidos como trihalometanos (THMs), que son potencialmente cancerígenos.

El cloro se aplica comúnmente al agua, tanto en su forma molecular como en forma de ion hipoclorito, y puede sufrir hidrólisis formando cloro residual (libre o combinado). El cloro residual libre puede presentarse en forma de cloro molecular disuelto (Cl_2), ácido hipocloroso (HClO) o ion hipoclorito (ClO-) y también reaccionar con otras sustancias presentes en el agua, como el amoniaco (NH_3) y ciertos compuestos orgánicos nitrogenados, dando origen al cloro residual combinado (APHA; AWWA; WEF, 2023). El ácido hipocloroso, por ser una molécula pequeña, atraviesa la membrana celular y, por sus propiedades oxidativas, altera la estructura de proteínas (enzimas) esenciales para el metabolismo celular, provocando la muerte de los microrganismos (BRANCO, 1978).

¡Esté atento!

Debido a la inestabilidad y rápida degradación del cloro residual, no se recomienda el almacenamiento de muestra en frascos y su determinación debe realizarse inmediatamente después de la recolección.

El cloro residual total es la suma del cloro residual libre con el cloro residual combinado. Por lo tanto, el cloro residual combinado se puede calcular restando la concentración de cloro residual total de la del cloro residual libre.

El ensayo en campo se puede realizar por medio del método DPD (N, N-dietil-p-fenilenediamina) con el uso de un comparador colorimétrico (método semicuantitativo) (Fig. 8.1) o utilizando un equipo digital específico para este fin (clorímetros o fotómetros portátiles, que pueden ser de medición continua). En este método, el DPD es oxidado por el cloro residual presente en la muestra, dando como resultado una solución de coloración rosa que tiene la intensidad directamente proporcional a la concentración, en mg/L, de cloro residual. La elección del reactivo adecuado permite la obtención de resultados de cloro residual libre o cloro residual total.



Figura 8.1. Determinación de cloro residual: (A) Método semicuantitativo (comparador visual); (B) Método cuantitativo utilizando clorímetro digital.

Foto: José Jorge Neto/Banco de imágenes de CETESB.

Las altas concentraciones de cloro combinado pueden provocar interferencias en las determinaciones de cloro residual libre de manera que, para este último, se debe realizar la lectura colorimétrica dentro del intervalo de 1 minuto después de agregar el reactivo. Las características de color y turbidez de la muestra también pueden representar interferencias en los ensayos colorimétricos, por lo tanto, es necesario realizar una compensación mediante el uso de blancos.

Procedimiento para ensayo de cloro residual

- Lavar la cubeta con agua reactiva y secarla;
- Recolectar la muestra conforme a las recomendaciones para cada matriz de interés y transferir, inmediatamente, una alícuota de la muestra a la cubeta hasta la marcación indicada por el fabricante del equipo;
- Utilizar esta primera alícuota como referencia (blanco) para el equipo;
- Desechar adecuadamente la muestra, lavar y secar la cubeta;
- Transferir una nueva porción de muestra a la cubeta;
- Agregar los reactivos, homogeneizar y realizar la lectura en hasta 1 minuto en el caso de cloro residual libre, o esperar cerca de 2 minutos en el caso de cloro residual total.

¡Atención!

Se deben utilizar cubetas separadas para ensayos de cloro residual libre y cloro residual total para evitar posibles interferencias debido a residuos de reactivos.

8.2 Oxígeno Disuelto

La concentración de oxígeno disuelto (OD) tiene una importancia fundamental para el mantenimiento de la vida y de los procesos de autodepuración en el ambiente acuático y está relacionada con las características físicas, químicas y biológicas del cuerpo de agua. El oxígeno disuelto en los cuerpos de agua puede tener origen en la fotosíntesis (cianobacterias, algas y plantas) y/o en el proceso de difusión en la interfaz aire-agua. Su concentración varia con la presión, salinidad/conductividad y temperatura, además de la turbulencia (velocidad y vientos). De una forma general, aumenta con la disminución de la temperatura y salinidad/conductividad, y aumenta con el aumento de la presión y turbulencia. Puede ser expresado en mg/L o como porcentaje de la cantidad máxima en relación con una determinada temperatura, presión y salinidad/conductividad (% de saturación). En general, valores superiores a 5 mg/L son encontrados en ambientes limpios.

A lo largo de la columna de agua hay variaciones del oxígeno disuelto (así como de la temperatura y salinidad/conductividad) que pueden resultar en una estratificación, especialmente durante el verano (o días muy calientes), cuando la superficie del agua es más cálida que el agua cerca del fondo. Eso es especialmente importante para los procesos biológicos y químicos que ocurren en las profundidades de los ambientes, ya que las bajas concentraciones de oxígeno disuelto (o incluso su ausencia) pueden interferir en la productividad biológica y en los procesos bioquímicos. Otro aspecto importante es la disminución de

la solubilidad del oxígeno (O_2) en el agua resultante de contaminación térmica, cuando el aumento de la temperatura permite que el gas se difunda más fácilmente a la atmósfera, disminuyendo su disponibilidad.

La interferencia de un curso de agua natural, la entrada de exceso de nutrientes (eutrofización) y las condiciones de estancamiento pueden desencadenar un gran crecimiento de plantas acuáticas y/o de fitoplancton. Altas densidades de estos organismos pueden provocar una sobresaturación (más del 100%) de OD durante el día, pudiendo detectarse valores superiores a 10 mg/L. Por otro lado, durante la noche no ocurre producción de O_2 y la respiración de los organismos (que consume oxígeno) puede incluso provocar un agotamiento del DO y provocar la muerte de algunos animales, como los peces. Por eso, es preferible medir el oxígeno disuelto en las primeras horas del día, cuando los niveles más bajos pueden estar presentes.

La descomposición de la materia orgánica por bacterias y otros organismos también consume oxígeno, que puede ser repuesto por la interfaz aire-agua en condiciones naturales. Cuando hay un exceso de materia orgánica, como en lugares contaminados por aguas residuales domésticas y/o industriales, el proceso de oxidación de la materia orgánica puede llevar a una gran disminución en la concentración de OD, pudiendo llegar a condiciones de hipoxia, lo que también puede ocasionar la muerte de los organismos presentes en el ambiente.

En esta guía se abordarán los ensayos para la determinación del oxígeno disuelto en campo mediante los métodos electrométricos, óptico y de Winkler modificado por la azida sódica.

8.2.1 Oxígeno Disuelto – Métodos Electrométricos y Óptico

Existen dos métodos instrumentales principales utilizados actualmente para la determinación del oxígeno disuelto en muestras de agua:

- Método del electrodo de membrana, polarográfico o galvánico, basado en la tasa de difusión del oxígeno molecular a través de

una membrana. Se trata de un método bastante recomendado para análisis en aguas contaminadas y también para efluentes (APHA; AWWA; WEF, 2023).

- Método del electrodo óptico que utiliza sensores basados en luminiscencia para determinar la emisión de luz que, a su vez, se correlaciona con la concentración de OD (APHA; AWWA; WEF, 2023).

El método electroquímico es históricamente la aplicación más utilizada y presenta una velocidad de detección relativamente alta, pero su proceso de detección consume oxígeno y los sensores basados en este principio requieren calibración y mantenimientos con mayor frecuencia (WEI et al., 2019).

De acuerdo con Wolfbeis (2015), los métodos ópticos están sustituyendo a los electroquímicos por una serie de razones, incluido el hecho de que no se consume O_2 durante las mediciones, los sensores pueden diseñarse para un amplio rango de concentración y los sensores ópticos funcionan bien, incluso en condiciones ambientales o químicas hostiles.

Como ocurre en otros ensayos, la calidad de los resultados depende de la elección del equipo y de su correcta utilización. Específicamente para el ensayo de oxígeno disuelto, cabe destacar que la variable depende al menos de 3 factores: presión, temperatura y salinidad y estos deben tenerse en cuenta.

Independientemente de la elección de uno de los métodos mencionados, se deben tener en cuenta algunos puntos:

- Realizar el ajuste del equipo al menos en 1 punto, utilizando aire saturado;
- Verificar el sistema de medición utilizando agua saturada, siempre que sea posible, o aire saturado;
- Revisar periódicamente el sensor de temperatura del equipo;

- Verificar si el equipo utilizado realiza compensación debido a la presión. En caso de no haber compensación, el ajuste del equipo siempre debe realizarse en el lugar del ensayo;
- En el caso de ensayo en aguas salinas o salobres, se debe prestar atención a la necesidad de corrección /compensación con base en la salinidad de la muestra. Esta compensación se realiza a partir de la inserción del valor de salinidad en el medidor de oxígeno disuelto o puede ocurrir automáticamente en los casos de equipos multiparámetro que cuenten con sensor de conductividad/salinidad.

Procedimiento para el ensayo de oxígeno disuelto

- Recolectar la muestra con la ayuda de equipo adecuado, como un balde o una botella de profundidad, conforme a las recomendaciones para cada matriz de interés;
- Con el equipo encendido, sumergir el sensor/sonda en la muestra y realizar movimientos no turbulentos para eliminar posibles burbujas;
- Esperar la estabilización de la medición y realizar la lectura.

NOTA 1: Para evitar la aireación, no transferir la muestra del equipo de muestreo a otro recipiente para la realización del ensayo.

NOTA 2: Acoplar el mecanismo de agitación de muestra siempre que lo recomiende el fabricante del equipo (Fig. 8.2).



Figura 8.2. Verificación del sistema de medición de OD (electrodo de membrana con sistema de agitación) en agua saturada.

Foto: Renan Lourenço de O. Silva/Banco de imágenes de CETESB.

8.2.2 Oxígeno Disuelto - Método de Winkler Modificado por Azida Sódica

El método yodométrico (Winkler) modificado por azida sódica continúa siendo un método muy utilizado para la determinación del oxígeno disuelto.

Puede ser empleado para la determinación de concentraciones de oxígeno disuelto superiores a 0,1 mg/L en cuerpos de agua en general, aguas de suministro, aguas residuales y aguas de mar.

Este método no es aplicable a muestras que contengan interferencias, como sulfito, tiosulfato, politionato, cloro libre e hipoclorito. En estos casos, se pueden emplear otras modificaciones del método yodométrico o métodos instrumentales (electrodo de membrana u óptico).

La toma de la muestra es realizada con la utilización de equipos apropiados, que no permiten la aireación de la muestra, como un batiscafo para recolectar muestras de superficie o la botella tipo van Dorn (flujo vertical o horizontal) para un muestreo a profundidad.

Procedimiento de recolección para ensayo de oxígeno disuelto por el método yodométrico (Winkler) modificado por azida sódica

Materiales y reactivos necesarios para la preservación de la muestra:

- Batiscafo o botella tipo van Dorn;
- Frasco de vidrio de 300 mL tipo DBO (Demanda Bioquímica de Oxígeno);
- Solución de sulfato de manganeso 2,14M;
- Reactivo yoduro alcalino de azida;

Procedimiento:

- Tomar la muestra empleando un batiscafo (recolección en la superficie), o con una botella (recolección a profundidad), llenando el frasco de tipo DBO. La muestra no debe ser agitada o tener contacto con el aire;
- Agregar inmediatamente 1 mL de solución de sulfato de manganeso, en seguida, 1 mL de solución reactivo yoduro alcalino de azida, tomando cuidado de verter lentamente los reactivos en el borde del frasco y no cambiar el orden de los reactivos. El sulfato de manganeso reacciona con la azida para producir un precipitado escamoso de hidróxido de manganeso que puede variar de blanco a marrón, dependiendo de la concentración de oxígeno disuelto;
- Cerrar bien el frasco de DBO, sin dejar burbujas de aire en el interior;
- Agitar bien el frasco cerrado para dispersar el precipitado de hidróxido de manganeso uniformemente en la muestra;
- Dejar que el precipitado se asiente hasta aproximadamente la mitad del volumen del frasco. En el caso de agua del mar, el tiempo de contacto de la muestra con el precipitado debe ser de al menos dos minutos;
- Agitar nuevamente muy bien, para que la reacción sea completa;
- Almacenar la muestra en lugar protegido de la luz en el caso de que se envíe al laboratorio.

¡Atención!

La muestra para ensayo de oxígeno disuelto nunca debe ser refrigerada durante el transporte.

Procedimiento para ensayo de oxígeno disuelto - método yodométrico de Winkler modificado por la azida sódica

Materiales y reactivos necesarios para la titulación:

- Base, varilla, garra, matraz Erlenmeyer de 250 mL, bureta de 10 mL clase A;
- Pipeta volumétrica de 100 mL clase A o tubo de Nessler de 100 mL graduado;
- Pera de laboratorio, o similar;
- Ácido sulfúrico concentrado;
- Solución de fluoruro de potasio al 20%;
- Solución de tiosulfato de sodio 0,0125N (previamente factorizada);
- Solución de almidón al 2%.

Procedimiento:

- Después de realizar el procedimiento anterior para la recolección y preservación de la muestra, agregar 1mL de solución de fluoruro de potasio al 20% (no agregar esa solución en el caso de agua estuarina o marina);
- Agregar enseguida 1 mL de ácido sulfúrico concentrado, con cuidado, cerrar el frasco y agitar bastante para disolver completamente el material precipitado;
- Transferir inmediatamente 100 mL para un Erlenmeyer, con ayuda de un tubo de Nessler graduado o pipeta volumétrica de 100 mL;
- Titular la muestra con una solución de tiosulfato de sodio 0,0125N, previamente factorizada, hasta lograr un color amarillo pajizo;
- Agregar, cuidadosamente, unas gotas de la solución de almidón, lo que le dará a la muestra un color azulado;
- Continuar la titulación hasta el punto final del cambio de color, determinado por la primera desaparición del color azul característico;
- Anotar el volumen gastado en la bureta (V1).

Expresión del resultado:

La concentración de oxígeno disuelto es determinada por:

$$\text{Concentración OD (mg/L)} = V1 \times 2 \times Fc$$

V1 = Volumen de tiosulfato gastado en la bureta;

Fc = factor de corrección de la solución de tiosulfato de sodio.

8.3 Conductividad

La conductividad de una muestra es su capacidad para conducir una corriente eléctrica. Es directamente proporcional a la concentración de las sales disueltas (cationes y aniones), que son partículas cargadas eléctricamente y que permiten la conducción de electricidad. Puede variar con la composición de los iones presentes en el agua, siendo representada en microSiemens por cm (µS/cm) en agua dulce o miliSiemens por cm (mS/cm) en aguas estuarinas o marinas.

Además de la composición de iones, la conductividad de un cuerpo de agua puede variar con la época del año, las condiciones climáticas (precipitaciones y sequía), con el uso del suelo, minería, etc., que interfieren en el estándar de drenaje, especialmente en lugares con influencia de residuos domésticos o industriales, aumentando o disminuyendo la cantidad de iones. Los residuos domésticos contienen una gran cantidad de iones, como amoniaco, calcio, carbonatos, cloruros, fosfatos, magnesio, nitratos, nitritos, potasio, sodio, sulfatos, etc., aumentando la conductividad. Por otro lado, los materiales orgánicos (generalmente aceites, grasas, alcohol, fenoles) no se ionizan en medio acuoso y, por eso, tienen poca capacidad para conducir electricidad.

Aunque el análisis de la conductividad eléctrica no específica qué iones están presentes en la muestra de agua, puede contribuir al reconocimiento de posibles impactos ambientales en la cuenca de drenaje y ayudar en la evaluación de la calidad del agua.

Uno de los factores que más interfiere en el resultado de conductividad eléctrica es la temperatura de la muestra; cuanto mayor es la temperatura, mayor es la conductividad. Por ello, para la obtención de la conductividad eléctrica, es recomendable la corrección de la temperatura. Muchos aparatos compensan directamente la lectura de la conductividad a 25 °C, siendo muy importante que el técnico aguarde la estabilización de la temperatura durante la medición.

Los medidores de conductividad, de una forma general, se basan en un sensor que mide el paso de la corriente eléctrica. La referencia se construye a partir del ajuste del equipo con una solución

de conductividad conocida (determinación de la constante de célula) y, una vez definido este valor, se puede determinar la conductividad de una muestra de valor de conductividad desconocido.

Como ocurre en otros ensayos, la calidad de los resultados depende de la elección del equipo y de su correcta utilización. Específicamente para el ensayo de conductividad, se deben tener en cuenta los siguientes puntos:

- Realizar el ajuste del equipo en 1 punto, utilizando MRC (Material de Referencia Certificado) de conductividad 1413 µS/cm (Fig. 8.3);
- Verificar el sistema de medición utilizando MRC o MR (Material de Referencia) con un valor compatible con el rango de medición de interés;
- Revisar periódicamente el sensor de temperatura del equipo;
- En el caso de ensayo en aguas salinas o salobres, para una mayor exactitud, se puede realizar el ajuste del equipo con MRC de conductividad en el rango de 10 mS/cm.

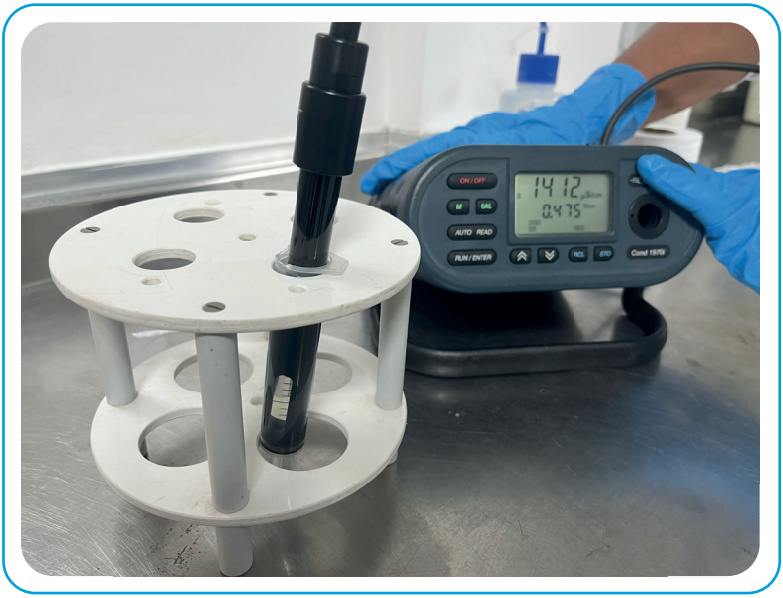


Figura 8.3. Ajuste de medidor de conductividad con MRC.
Foto: Renan Lourenço de O. Silva/Banco de imágenes de CETESB.

Procedimiento para ensayo de conductividad

- Recolectar la muestra con la ayuda de equipo adecuado, como un balde o una botella de profundidad, conforme a las recomendaciones para cada matriz de interés;
- Con el equipo encendido, sumergir el sensor/sonda en la muestra y realizar movimientos no turbulentos para eliminar posibles burbujas;
- Aguardar la estabilización de la medición y realizar la lectura.

8.4 Salinidad

La salinidad es un factor ecológico que condiciona la fisiología (regulación iónica, osmorregulación y equilibrio ácido-base) y el metabolismo de los organismos de un cuerpo de agua, que presentan diferentes tolerancias a diferentes concentraciones, que puede ser un agente estresor para la vida acuática.

La salinidad también tiene gran importancia para la determinación de las diferentes masas de agua de los océanos, junto con la temperatura y la presión, que presentan características físicas y químicas que determinan la presencia de comunidades biológicas distintas.

La salinidad absoluta es la concentración de todos los iones disueltos en el agua y, en la práctica, no puede ser medida directamente, lo que requiere la determinación de la salinidad práctica (S). Los resultados son adimensionales, ya que representan valores obtenidos a partir de una razón (gramos de sales por kilogramo de agua).

La salinidad práctica se puede determinar mediante métodos indirectos relacionados con las mediciones de propiedades físicas como la conductividad, la densidad, el índice de refracción (con uso de refractómetro), entre otros.

La determinación de la salinidad en campo se realiza normalmente con medidores de conductividad en modo de medición de salinidad, ya que los resultados son obtenidos por medio de conversiones algorítmicas, a partir de valores de conductividad.

La calidad de los resultados depende, entonces, de aspectos determinantes para el ensayo de conductividad, como se describe en el ítem anterior. Adicionalmente, cuando esté disponible, se recomienda la verificación con MRCs o MRs de salinidad.

Procedimiento para ensayo de salinidad

- Recolectar la muestra con la ayuda de equipo adecuado, como un balde o una botella de profundidad, conforme a las recomendaciones para cada matriz de interés;
- Con el equipo encendido, sumergir el sensor/sonda en la muestra y realizar movimientos no turbulentos para eliminar posibles burbujas;
- Esperar la estabilización de la medición y realizar la lectura.

8.5 Potencial de Hidrógeno (pH) - Método Electrométrico

El pH puede interferir en los diversos equilibrios químicos que ocurren naturalmente en el ambiente o en procesos de tratamiento de agua. Con relación al ambiente acuático, el pH puede afectar la fisiología de las especies y ejercer efectos sobre la solubilidad de los elementos y de las sustancias químicas, como metales y nutrientes. Las variaciones en los valores de pH pueden aumentar la toxicidad de determinadas sustancias y valores extremos pueden ser letales para la gran mayoría de las especies acuáticas. Los episodios de floraciones del fitoplancton también pueden aumentar el pH de las aguas debido a la elevada actividad fotosintética. La Resolución CONAMA 357/05 (BRASIL, 2005), por ejemplo, establece un rango de pH entre 6,0 y 9,0 para las aguas de las Clases Especial, I y II, que son destinadas, entre otros usos, a la preservación de la vida acuática.

El pH es el cologaritmo de la concentración de los iones de hidrógeno en una muestra, expresado en mol/L. Su valor varía de 0 a 14, donde el agua con pH inferior a 7 se considera ácida; con valor superior a 7 se considera básica o alcalina; y, con valor igual a 7 se considera un agua neutra. Al ser una escala logarítmica, un cambio de 1 unidad de pH se relaciona con un cambio de 10 veces en la concentración de iones de hidrógeno.

Los medidores de pH están constituidos por un conjunto sensor-circuito electrónico y la medición se realiza en función de las lecturas de tensión, en mV, que son convertidas en valores a la escala de pH. La referencia se construye a partir del ajuste del equipo con soluciones de pH de valores conocidos, lo que posibilita la obtención de los resultados de muestras ambientales de valores desconocidos.

El funcionamiento general de los electrodos se basa en la separación de dos medios de concentraciones de pH diferentes (rango ácida y alcalina) por la membrana. Se desarrolla, entonces, entre los dos lados una diferencia de potencial que es proporcional a la diferencia de pH entre los medios, siendo esta diferencia medida por el electrodo de medición contra el electrodo de referencia.

Como ocurre en otros ensayos, la calidad de los resultados depende de la elección del equipo y de su correcta utilización. Específicamente para el ensayo de pH, se deben tener en cuenta los siguientes puntos:

- Realizar el ajuste del equipo en 3 puntos, utilizando MRCs de pH (Material de Referencia Certificado);
- La elección del conjunto de MRCs (por ejemplo, pHs 4,7 y 10 o 4, 6,86 y 9,18) puede depender de la configuración del equipo disponible;
- Verificar el sistema de medición utilizando MRC o MR (Material de Referencia) con un valor compatible con el rango de medición de interés;
- Revisar periódicamente el sensor de temperatura del equipo.

Procedimiento para ensayo de pH - método Electrométrico

- Recolectar la muestra con la ayuda de equipo adecuado, como un balde, una botella de profundidad o un vaso de flujo, conforme a las recomendaciones para cada matriz de interés;
- Con el equipo encendido, sumergir el sensor/sonda en la muestra y realizar movimientos no turbulentos para eliminar posibles burbujas (Fig. 8.4);
- Aguardar la estabilización de las mediciones y realizar la lectura del resultado.

NOTA: El plazo máximo para este ensayo es de 15 minutos a partir del momento de la toma de muestra.



Figura 8.4. Determinación de pH en sedimento.
Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

8.6 Potencial de Oxirreducción - Método Potenciométrico

La determinación del potencial de oxidación y reducción, ORP (del inglés *Oxidation Reduction Potential*), también conocido como potencial de redox, representa un factor de intensidad de las condiciones redox de un sistema. Las reacciones químicas en medio acuoso que involucran electrones y protones son dependientes y se pueden caracterizar por su potencial de hidrógeno (pH) y también por el potencial redox, junto con la actividad de diversas especies químicas disueltas en el medio (APHA; AWWA; WEF, 2023). Dependiendo de estas dos variables, el cambio en el estado de oxidación de algunos

elementos, como el hierro, el manganeso, el mercurio, el carbono, el nitrógeno y el azufre, puede alterar la movilidad y, en algunos casos, la toxicidad en los compartimentos ambientales (JARDÍN, 2014).

Los resultados se expresan en milivoltaje (mV) y los valores obtenidos son dependientes del electrodo de referencia utilizado, de modo que la conversión de los mismos a resultados basados en el electrodo estándar de hidrógeno (EPH) es fundamental para la comparación e interpretación de los datos. La notación comúnmente empleada para estos resultados convertidos es EH.

Los resultados positivos de EH indican ambientes predominantemente oxidantes, mientras los resultados negativos están asociados a ambientes reductores. Según Salomons y Stigliani (1995), en sedimento, por ejemplo, estos resultados pueden ser comparados con algunos rangos de valores para las siguientes interpretaciones preliminares:

- $E_H > 300$ mV: zona oxidativa, valor asociado a la respiración aeróbica;
- $100 < E_H < 300$: zona de reducción de nitrato y Mn^{4+}, valor asociado a la respiración anaeróbica facultativa;
- $-100 < E_H < 100$: zona de reducción de Fe^{3+}, valor asociado a la respiración anaeróbica facultativa;
- $-200 < E_H < 100$: zona de reducción de SO_4^{2-};
- $E_H < -300$: zona de formación de metano.

Los medidores de potencial redox son potenciómetros, como los medidores de pH, constituidos por un conjunto de sensor-circuito electrónico. El sensor, normalmente combinado, corresponde a un electrodo de trabajo y un electrodo de referencia. La similaridad con la determinación de pH y aparente simplicidad del ensayo puede inducir a fallas en la obtención o interpretación de los resultados debido a la incorrección de los resultados indicados en los equipos para EH, ya que este resultado final depende del tipo de electrodo de referencia utilizado.

El potencial redox (E_H), por lo tanto, se obtiene de la siguiente forma:

$$E_H = E_{medido} + E_{ref}$$

Dónde:

E_H = potencial redox (en mV) de la muestra reportado con relación al electrodo estándar de hidrógeno (EPH)

E_{medido} = potencial directo obtenido por la lectura en el medidor

E_{ref} = potencial referido al electrodo de referencia utilizado

La siguiente tabla (Tab. 8.1) presenta algunos potenciales de referencia a 25 °C de algunos de los principales electrodos utilizados.

ELECTRODO DE REFERENCIA	E_{ref} (mV)
Ag/Agcl (KCl 3 mol. L^{-1})	209
Ag/Agcl (KCl 3,5 mol. L^{-1})	205
Ag/Agcl (KCl Saturado)	199
Calomelano (KCl 3 mol. L^{-1})	255
Calomelano (KCl Saturado)	244

Tabla 8.1. Valores de Potencial Estándar (mV) de los electrodos de referencia más utilizados en la determinación de potencial redox (E_H).

Como ocurre en otros ensayos, la calidad de los resultados depende de la elección del equipo y de su correcta utilización. Específicamente para el ensayo de pH, se deben tener en cuenta los siguientes puntos:

- No todos los equipos para la medición del potencial redox permiten ajuste, sin embargo, cuando sea posible, se recomienda realizarlo en 1 punto, utilizando MRCs de Potencial Redox (Material de Referencia Certificado);
- Verificar el sistema de medición utilizando una Solución Zobell;
- Revisar periódicamente el sensor de temperatura del equipo.

Procedimiento para ensayo de E_H - método Electrométrico

- Recolectar la muestra con la ayuda de equipo adecuado, como un balde, una botella de profundidad o un vaso de flujo, conforme a las recomendaciones para cada matriz de interés;
- Con el equipo encendido, sumergir el sensor/sonda en la muestra y realizar movimientos no turbulentos para eliminar posibles burbujas;
- Aguardar la estabilización de las mediciones y realizar la lectura del resultado (E_{medido}).

NOTA 1: No almacenar las muestras; analizar inmediatamente en campo.

NOTA 2: Minimizar, siempre que sea posible, el contacto de la muestra con el aire atmosférico.

8.7 Temperatura

La temperatura del agua (°C) se da por la transferencia natural de calor por radiación, convección y conducción, y es influenciada por diversos factores, como las condiciones climáticas y geográficas. Otras formas de origen antrópico pueden alterar la temperatura de un cuerpo de agua, como los efluentes de centrales termoeléctricas, efluentes domésticos, torres de enfriamiento, entre otros.

La temperatura del agua es un factor decisivo para la vida acuática y los rangos de temperatura ideal y la tolerancia a las variaciones extremas varían para cada especie y a lo largo del ciclo de vida. Las variaciones de temperatura son menores y más lentas en el agua que en el aire, sin embargo, los organismos acuáticos tienen generalmente un rango más estrecho de tolerancia a la temperatura que los animales terrestres.

Los efectos de la contaminación hídrica son, normalmente, potenciados con el aumento de la temperatura, ya que su elevación acarrea el aumento de la tasa metabólica, el aumento de la tasa respiratoria (y consecuentemente mayor consumo de oxígeno), y un mayor gasto energético en un ambiente frecuentemente con menores concentraciones de oxígeno disuelto. Además de su importancia biológica, la temperatura del agua tiene efectos sobre la química del agua (transporte de nutrientes, por ejemplo).

La medición de temperatura se puede realizar en diferentes matrices, como aguas y sedimentos, con el uso de termómetros de

inmersión portátiles o también por medio de los sensores de temperatura integrados a otros sensores, como sensores de pH, conductividad y oxígeno disuelto.

La calidad de los resultados de temperatura depende en gran medida de la elección del equipo y, por lo tanto, se debe verificar periódicamente el sensor de temperatura utilizado.

¡Alerta!

Además de la importancia del ensayo de temperatura para la comprensión del ambiente, lo que implica la necesidad de atención y cuidados en su determinación por sí solo, la medición de la temperatura también es fundamental para la correcta medición de otros ensayos, como pH, potencial redox, conductividad eléctrica y oxígeno disuelto.

Procedimiento para ensayo de temperatura

- Recolectar la muestra con la ayuda de equipo adecuado, como un balde, una botella de profundidad o un vaso de flujo, conforme a las recomendaciones para cada matriz de interés;
- Con el equipo encendido, sumergir el sensor/sonda en la muestra y realizar movimientos no turbulentos para eliminar posibles burbujas;
- Aguardar la estabilización de las mediciones y realizar la lectura del resultado.

NOTA: El ensayo se debe realizar, siempre en campo, lo antes posible después de la toma de la muestra.

La determinación de temperatura del aire, normalmente utilizada para posibles asociaciones con condiciones ambientales en el momento de la recolección, se puede realizar con los mismos equipos descritos anteriormente. Sin embargo, debido a su practicidad, es más común el uso de termómetros portátiles específicos para esta finalidad.

Procedimiento para ensayo de la temperatura de aire

- Limpiar y **secar** el sensor, si es necesario,
- Determinar la temperatura del aire, preferiblemente a la sombra, manteniendo el sensor en la posición vertical y evitando que le caigan gotas de agua encima;
- Aguardar la estabilización de las mediciones y realizar la lectura del resultado.

8.8 Transparencia

La luz es un factor limitante para el desarrollo y el crecimiento de la vida acuática y el grado de transparencia del agua interfiere en la tasa de fotosíntesis, en el crecimiento de los organismos acuáticos (fotosintetizadores o no) y en el metabolismo del ecosistema. En términos de compartimentos luminosos, los cuerpos de agua se pueden dividir en zona fótica (con hasta un 1% de la luz superficial), donde ocurre actividad fotosintética, y zona afótica (región sin luz).

La transparencia es una medida que estima la penetración de la luz solar en la columna de agua por la determinación de la profundidad en que el disco de Secchi deja de ser visible en la superficie del agua; cuanto mayor es la visibilidad, mayor será la transparencia. La transparencia del agua varía mucho a lo largo del día y entre los diferentes ecosistemas, pudiendo sufrir la influencia de otros varios factores que reducen o aumentan la visibilidad del disco de Secchi, tales como el estándar de circulación del agua, la geoquímica de la cuenca, el régimen pluviométrico de la región, la densidad y el tipo de material particulado en suspensión, color del agua, presencia de vientos fuertes, nebulosidad, entre otros.

A pesar de ser un método simple, el resultado de la transparencia puede variar con la capacidad visual del técnico y su determinación requiere algunos cuidados, tales como: realizar la medición a la sombra para disminuir los reflejos de la superficie del agua, mantener el cable del equipo en la posición vertical, y no realizar la lectura inmediatamente después de una posible resuspensión de sedimentos del fondo por procedimiento de anclaje, por ejemplo.

Para la medición de la transparencia con disco de Secchi (Fig. 8.5), con resultados expresados generalmente en metros, es necesario observar las siguientes condiciones, siempre que sea posible:

- el operador debe posicionarse de tal manera que su visión sea vertical al eje central del disco;
- realizar la determinación en condiciones de cielo despejado, preferiblemente a la sombra;
- seleccionar un lugar con poca agitación u olas.

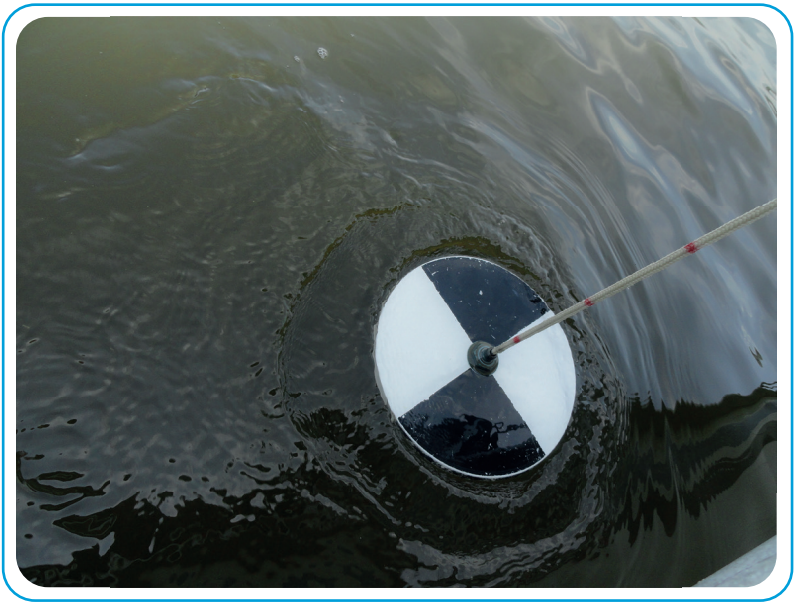


Figura 8.5. Determinación de la transparencia con el Disco de Secchi.
Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB

> ***¡Atención!***
>
> El disco de Secchi se sumerge en el lugar donde se realizará la determinación hasta su desaparición del campo visual.
>
> Repetir la operación para garantizar de que el disco está en su límite de visualización y efectuar la medición de su desaparición del campo visual en el cable graduado de apoyo del equipo.

8.9 Turbidez - Método Nefelométrico

El ensayo de turbidez verifica la reducción de la transparencia de una muestra acuosa/líquida debido a la presencia de materiales en suspensión y/o coloidales, y sus resultados (así como los de sólidos no disueltos) varían en función de la temporada de lluvias y del aporte alóctono afluente debido al transporte del material de los márgenes por la erosión, cargas difusas o de vertido de efluentes. En las aguas subterráneas, los valores de turbidez generalmente son bajos, pero se pueden alterar por la presencia de contaminantes (procedentes de aguas residuales, por ejemplo) o por fallas en los procedimientos de recolección.

Los sólidos que influyen en la turbidez pueden ser de origen orgánico (algas, bacterias, desechos orgánicos, etc.) o inorgánica (limo, arcilla, arena, etc.). Por alterar la transparencia, pueden afectar significativamente la productividad biológica del ambiente acuático.

La turbidez es la capacidad que tiene el agua de dispersar la radiación solar mediante la interferencia de partículas en suspensión, que pueden o no tener color propio. El método más utilizado es el nefelométrico, que es un método secundario, indirecto, basado en la determinación de la intensidad de luz dispersa por la muestra en un ángulo de 90° en relación con la dirección de la luz incidente, comparada con la intensidad de la luz dispersada por una suspensión

estándar, y los resultados se presentan en NTU (*Nephelometric Turbidity Units*).

Los procedimientos para el ensayo de la turbidez pueden ser clasificados como estáticos y dinámicos. Los ensayos estáticos implican la toma de una muestra, esto es, se retira el agua de su flujo natural y luego se mide una porción de ésta en un turbidímetro portátil o por medio de la inmersión de un sensor específico en el recipiente de la recolección. Por otro lado, los dinámicos son aquellos que implican la inmersión de los sensores directamente en el cuerpo de agua.

Los resultados de las mediciones realizadas en condiciones estáticas pueden diferir de los obtenidos bajo condiciones dinámicas porque las técnicas de medición estática no sufren influencia de los procesos de sedimentación de las partículas, mientras que las técnicas dinámicas reflejan la naturaleza del movimiento de partículas dentro del cuerpo de agua. Dichas diferencias son particularmente más evidentes cuando la muestra presenta una cantidad elevada de sólidos en suspensión y/o sedimentables.

Otros puntos importantes a considerar es la necesidad de homogeneización de las muestras en situaciones de medición estática y la importancia del establecimiento de criterios de toma de decisiones para la obtención de los resultados durante el uso de técnicas dinámicas, ya que las mediciones con sondas directamente en el cuerpo de agua pueden generar resultados que no se estabilizan debido a la propia dinámica del ambiente.

Para los ensayos de turbidez se deben tener en cuenta los siguientes puntos:

- Realizar el ajuste del equipo utilizando MRCs (Material de Referencia Certificado) de turbidez con valores que contemplen el rango de trabajo;
- Verificar el sistema de medición utilizando MRC o MR (Material de Referencia) con un valor compatible con el rango de medición de interés;
- Realizar ensayos en blanco en cada lote de ensayos.

Procedimiento para el ensayo de turbidez con un turbidímetro portátil

- Lavar la cubeta con agua reactiva y secarla;
- Recolectar la muestra conforme a las recomendaciones para cada matriz de interés y transferir una alícuota de la muestra a la celda hasta la marcación;
- Homogeneizar la muestra, insertar la celda en el equipo y cerrar la puerta de la celda (Fig. 8.6.);
- Activar la medición y realizar la lectura del resultado.



Figura 8.6. Determinación de la turbidez en el agua tratada, inserción de la celda en el equipo.
Foto: Renan Lourenço de O. Silva/Banco de imágenes de CETESB.

¡Esté atento!

Para la determinación de la turbidez, especialmente con sondas, se debe prestar atención a las recomendaciones específicas para cada tipo de equipo, como los valores indicados para construcción de la curva de calibración y la necesidad de recipientes específicos para esta etapa.

8.10 Sólidos Sedimentables – Método del Cono Imhoff

Los sólidos presentes en un cuerpo de agua pueden estar en suspensión (sedimentables y no sedimentables) y disueltos (volátiles y fijos). En relación con los sólidos sedimentables, comprenden todo material sólido de densidad superior a la del agua que sedimenta por acción de la gravedad en una muestra acuosa. Al igual que la turbidez, indica la influencia de lluvias y el transporte de material de origen alóctono.

El principio del método consiste en la sedimentación, por acción de la gravedad, de los sólidos de densidad superior a la del agua presentes en muestras de aguas en reposo durante una hora. El equipo utilizado en el ensayo es el cono Imhoff, que es un recipiente transparente y graduado que puede contener, o no, un grifo en su parte inferior (Fig. 8.7).



Figura 8.7. Ensayo de sólidos sedimentables en campo con el Cono Imhoff.
Foto: Carlos Jesus Brandão/Banco de imágenes de CETESB.

El cono Imhoff debe ser mojado antes de agregar la muestra para evitar su adherencia en las paredes, y el ensayo no requiere ninguna preservación química, y puede ser analizado en campo o en el laboratorio dentro de un máximo de 48 horas después de la recolección (APHA; AWWA; WEF, 2023).

¡Un aspecto importante!

El cono de Imhoff debe mantenerse siempre limpio para evitar la introducción de interferencias en el ensayo.

Procedimiento para el ensayo de sólidos sedimentables en campo - método del cono Imhoff

Materiales:

- Cono Imhoff, de 1 L, de vidrio o de plástico, con graduación;
- Varilla de vidrio;
- Soporte de cono;
- Cronómetro.

Determinación:

- Colocar el cono Imhoff mojado en el soporte;
- Homogeneizar y transferir gradualmente 1 L de la muestra al cono Imhoff, homogeneizando durante todo el proceso de transferencia;
- Dejar en reposo durante 45 minutos;
- Con una varilla de vidrio, desprender delicadamente las partículas adheridas a la pared del cono con movimientos circulares, para que las mismas puedan sedimentarse;
- Dejar sedimentar durante 15 minutos;
- Verificar el volumen sedimentado (en mL/L).

NOTA 1: Las muestras con alto contenido de sólidos o coloración muy intensa pueden no presentar sedimentación visible en el cono Imhoff.

NOTA 2: Si la fase sedimentada presenta heterogeneidad en el momento de la lectura, cancelar la determinación y efectuar un nuevo ensayo.

8.11 Datos y Observaciones de Campo

Conforme se mencionó en el Capítulo 3, el registro detallado de las actividades de campo es fundamental para la trazabilidad del proceso de muestreo y comprende no solo la información básica referente a la actividad de recolección (descripción del lugar, fecha, horario, responsables, equipos utilizados, resultados de ensayos de campo, etc.), sino también las características y/u ocurrencias del ambiente en el momento de la toma de las muestras que, a pesar de no ser consideradas ensayos de campo propiamente dichos, proporcionan información para la interpretación del conjunto de resultados analíticos de las muestras y, en consecuencia, de la calidad ambiental.

La apariencia general de una muestra o de un lugar de recolección se puede describir por medio de sus características visibles, u observables, como la alteración de color, o la presencia de sólidos en suspensión,

aceites y grasas, organismos, olor, materiales flotantes, de descarga de aguas residuales/efluentes y del régimen de caudal y/o nivel de agua.

A continuación, se presentan algunos comentarios sobre los principales datos de campo registrados en las rutinas de muestreo.

La ocurrencia de lluvias en períodos que preceden a la toma de muestras puede causar alteraciones en las características generales de los ambientes acuáticos, como su caudal, y representar un aumento considerable de material en suspensión y contaminantes en un determinado cuerpo de agua, por medio de procesos de flujo superficial, pero también puede ocasionar la dilución de determinados contaminantes.

La coloración visual puede indicar la presencia de color artificial debido la presencia de colorantes provenientes de fuentes antrópicas, así como alteraciones en el color natural de un ambiente debido a alteraciones en la dinámica hidrosedimentaria o a la aparición de floración de algas o cianobacterias, siendo que en este último caso se puede inferir sobre el estado trófico del ambiente.

En relación con la presencia de materiales flotantes en los cuerpos de agua, se puede mencionar la existencia de materiales naturales, como hojas, ramas y macrófitos acuáticos, y también sólidos objetables que representan materiales no naturales e indeseables para el ambiente, como desechos y basura de un modo general.

La observación de manchas características con la presencia de aceites y grasas y también la percepción de olores son buenos indicativos de la descarga de efluentes en los cuerpos de agua o de posible ocurrencia de floraciones de cianobacterias y pueden ser una herramienta para direccionar la inclusión de nuevos puntos de muestreo o de ensayos específicos.

Se recomienda, por lo tanto, que todas estas observaciones, u otras que el técnico a cargo de la recolección considere pertinentes, se anoten de forma clara y organizada y, siempre que sea posible y aplicable, se realicen registros fotográficos.

8.12 Monitoreo Automático de la Calidad del Agua

Se denomina monitoreo automático a al que se realiza mediante dispositivos capaces de realizar, registrar, procesar los ensayos de interés y, en sistemas más sofisticados, interpretar los datos de forma automática y sistemática, sin la necesidad constante de supervisión por parte de un operador.

Como el monitoreo es constante e ininterrumpido, permite detallar con más precisión la evolución de la calidad del agua a lo largo de períodos de interés, con la identificación de eventos cíclicos o puntuales como, por ejemplo, descargas clandestinas de efluentes, mal funcionamiento de estaciones de tratamiento de efluentes o contribuciones difusas durante episodios de lluvias. Estos eventos se manifiestan en intervalos de tiempo cortos y serían difíciles de detectar en el monitoreo convencional en el que las muestras se recolectan manualmente.

A diferencia del monitoreo convencional de la calidad del agua, que consiste en el muestreo manual, ensayos de campo puntuales y análisis de laboratorio de una extensa gama de ensayos con periodicidad típicamente bimestral/trimestral, el monitoreo automático consiste en la determinación *online* de algunos parámetros relacionados con las condiciones de calidad de los cuerpos hídricos. Los principales ensayos monitoreados en las estaciones automáticas son pH, oxígeno disuelto, conductividad eléctrica, temperatura y turbidez. A continuación, se abordan los principales componentes de una estación automática de monitoreo de calidad del agua.

8.12.1. Estructura de protección para los Equipos

La estructura debe tener un tamaño que proporcione las condiciones para el funcionamiento ininterrumpido de los equipos y sistemas de una estación automática. El contenedor (Figura 8.8A) es una solución de estructura de protección, ya que permite la instalación de una mesa con fregadero, en la cual es posible dar mantenimiento

a los equipos de medición, convirtiendo el lugar en un pequeño laboratorio que puede servir como punto de referencia y apoyo a las estaciones circundantes. En los lugares donde el espacio disponible para la estructura de protección es menor, un gabinete (Figura 8.8B) se presenta como una solución bastante viable, pudiendo equiparse con un toldo retráctil y una mesa plegable para utilizar un notebook, además de cierres de seguridad.



Figura 8.8. Estructuras de protección para estaciones automáticas: (A) Contenedor de la Estación Automática Río Grande/CETESB; (B) Gabinete de la Estación Automática Pindamonhangaba/CETESB.

Fotos: Luis Altivo Carvalho Alvim/Banco de imágenes de CETESB.

La elección del lugar para la instalación de la estructura de protección es muy importante y debe considerar:

- La infraestructura, tal como disponibilidad de agua y energía eléctrica;
- La seguridad patrimonial (contra robo, vandalismo, etc.);
- Posibles eventos críticos (caudales de inundaciones y sequías) asociados al cuerpo hídrico, y los respectivos niveles de agua.

8.12.2 Sistema de Adquisición y Transmisión de Datos

El sistema de adquisición y transmisión de datos (Fig. 8.9) se compone de:

- *Datalogger*, que almacena los datos generados por los equipos medidores y coordina las acciones de adquisición y transmisión de la información;
- Adaptador de señal, que puede ser necesario para equipos con protocolos de comunicación distintos;
- Solución para la transmisión de datos, que puede ser un módem GPRS (celular), una red ethernet o por satélite, dependiendo de la disponibilidad local;
- Botones para activar/desactivar la grabación de datos de los equipos medidores, que pueden ser útiles durante los procedimientos de mantenimiento de la estación;
- Disyuntores para la protección eléctrica de los diversos equipos.

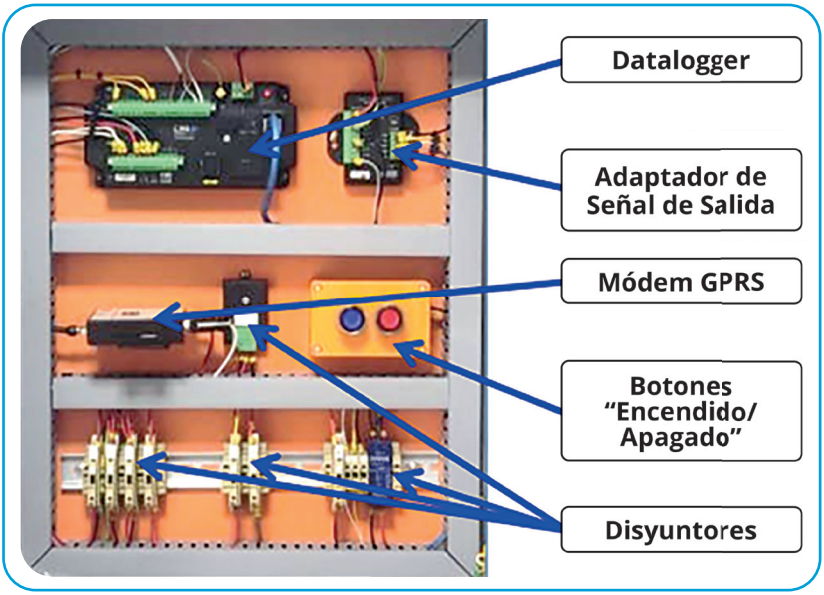


Figura 8.9. Sistema de adquisición y transmisión de datos de una estación automática.
Foto: Luis Altivo Carvalho Alvim/Banco de imágenes de CETESB.

Otro ítem esencial para una estación automática es el estabilizador de tensión + "UPS", que ayuda a prevenir la sobrecarga de los equipos, aumentando su vida útil, además de posibilitar el funcionamiento de la estación por un período adicional en caso de un corte de energía.

8.12.3. Medidor Online (Sonda Multiparámetro)

Las sondas multiparámetro se han utilizado con bastante éxito, tanto en las mediciones puntuales, como en el monitoreo a largo plazo de la calidad del agua. Se trata de equipos con un cuerpo típicamente cilíndrico y sensores instalados en uno de sus extremos, lo que les permite realizar varios ensayos y mediciones simultáneamente. Estos equipos tienen un compartimento de baterías y memoria interna, lo que viabiliza el funcionamiento de forma autónoma, realizando la grabación de las medidas con una frecuencia predeterminada (Fig. 8.10). Como la sonda multiparámetro es instalada directamente en el cuerpo hídrico y funciona durante largos períodos, uno de los riesgos asociados es la bioacumulación en las superficies de los sensores, lo que puede interferir directamente en las medidas. En este sentido, es imprescindible contar con un sistema de autolimpieza de estos sensores, solución que ya ofrecen varios fabricantes.

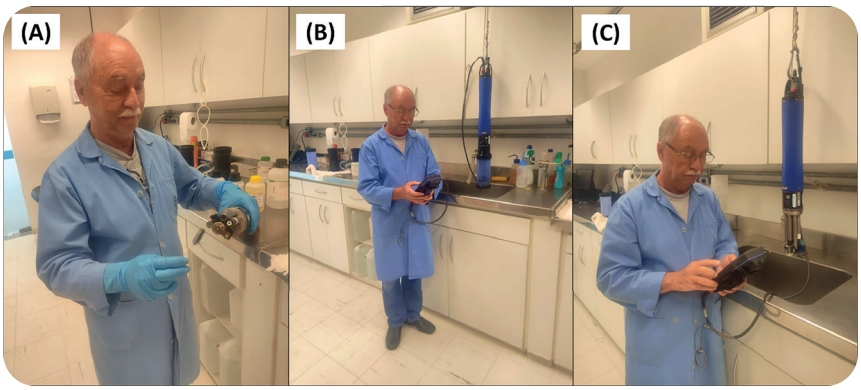


Figura 8.10 - Mantenimiento de la sonda multiparámetro: (A, B y C) limpieza y calibración de los sensores de oxígeno disuelto, pH y conductividad eléctrica

Fotos: Luis Altivo Carvalho Alvim/Banco de imágenes de CETESB.

La elección de la solución para la instalación de la sonda multiparámetro debe tener en cuenta:

- Las condiciones de flujo (caudal) en la sección de interés;
- La profundidad adecuada para la medición;
- Las variaciones de nivel de agua y caudal del cuerpo hídrico, con especial atención a los eventos críticos:
- Caudales de inundación, en los cuales hay transporte de grandes elementos, como troncos de árboles, que pueden chocar con el equipo medidor y dañarlo;
- Caudales mínimos, en los cuales el nivel de agua disminuye significativamente y algunos puntos del tramo monitoreado dejan de ser representativos (agua estancada) o quedan secos;
- El acceso a los técnicos operadores (incluso la necesidad de uso de una embarcación) y de seguridad patrimonial para los equipos.

Una solución que ha sido utilizada con bastante éxito es la instalación con grúa metálica (Fig. 8.11), en la cual la sonda multiparamétrica es instalada en un dispositivo flotante preso al guinche por un cable de acero. Ese dispositivo flotante puede ser una simple boya o, en los casos en los que hay riesgo de choque de objetos con la sonda, en una cesta metálica perforada. Se deberá acoplar un contrapeso a la grúa con el fin de garantizar el mantenimiento de la ubicación del dispositivo flotante ante variaciones en el nivel del cuerpo hídrico. Otras soluciones viables son flotantes de tipo catamarán, tubos metálicos perforados y boyas con sistema de telemetría.

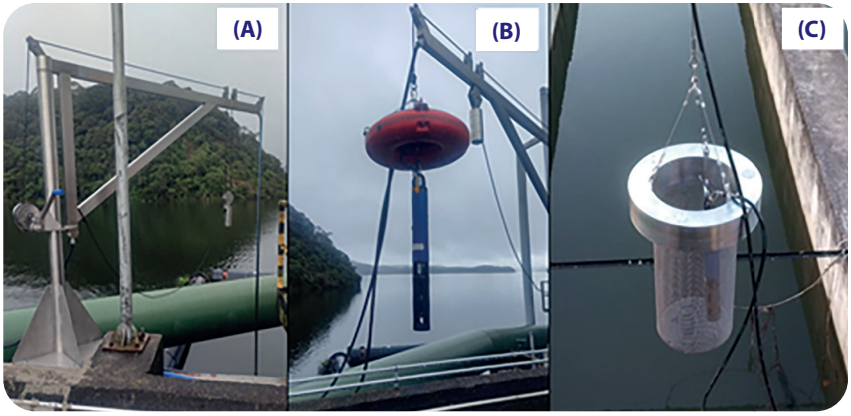


Figura 8.11. Soluciones para la instalación de la sonda multiparámetro en el cuerpo hídrico: (A) grúa metálica equipada con contrapeso con cable de acero; (B) dispositivo flotante acoplado a la grúa; (C) cesta metálica perforada.

Fotos: Luis Altivo Carvalho Alvim/Banco de imágenes de CETESB.

8.12.4. Otros Equipos Medidores

Puede ser interesante aprovechar toda la infraestructura de una estación automática para la instalación de otros equipos medidores, cuyas medidas se pueden registrar y transmitir a la central de gestión junto con los datos de la calidad del agua. Algunos equipos realizan medidas cuantitativas muy importantes para la interpretación correcta de los datos de calidad, y pueden ser fácilmente integrados a la estación automática, tales como:

- Pluviómetro, que mide la precipitación (lluvia). La instalación de este equipo debe seguir las orientaciones de *World Meteorológical Organization* – WMO, con especial atención a la distancia mínima de objetos que puedan suponer obstáculos para la medición de la lluvia (Fig. 8.12A);
- Sensor de nivel de agua, cuyas medidas se pueden convertir en caudal cuando se dispone de una curva cuota caudal (curva clave) para la sección. La instalación de este equipo debe considerar las condiciones de flujo en el tramo del curso hídrico, para que

sea posible establecer una correlación válida entre nivel de agua y caudal (Fig. 8.12B).

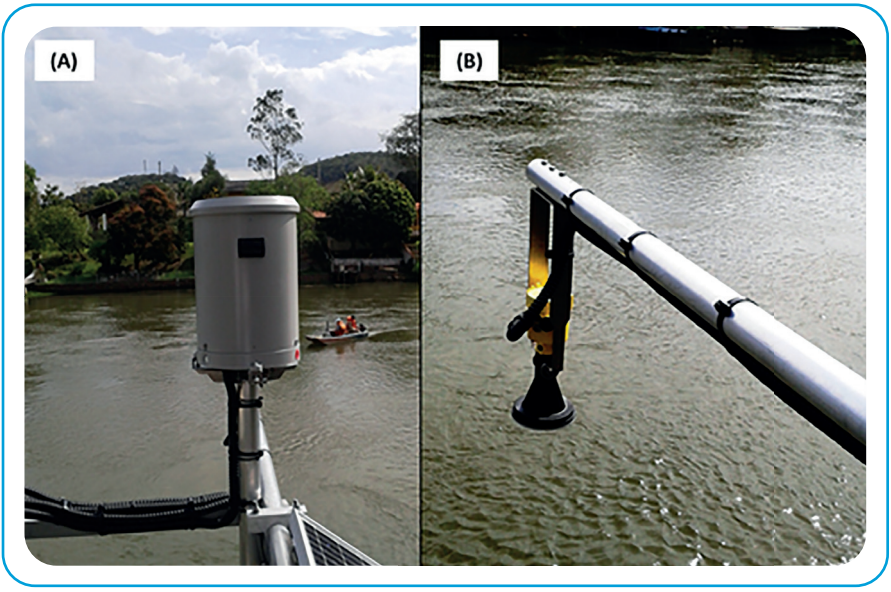


Figura 8.12. Equipos medidores: (A) Pluviómetro tipo báscula; (B) Sensor de nivel de agua tipo radar.

Fotos: Luis Altivo Carvalho Alvim/Banco de imágenes de CETESB).

El mantenimiento de una estación automática implica la verificación, la limpieza y el ajuste de los equipos medidores. La frecuencia del mantenimiento puede variar de semanal a mensual, dependiendo básicamente de la calidad del agua monitoreada: en cuerpos hídricos menos impactados, como embalses y tramos de río cercanos a las cabeceras, la frecuencia de mantenimiento tiende a ser menor, mientras que, en los cuerpos hídricos más impactados o con mayor riesgo de bioacumulación en los sensores, el mantenimiento deberá ser más frecuente.

Frente a esto, es posible enumerar una serie de factores para un sistema exitoso de monitoreo *online* de la calidad del agua:

- Gestión dedicada;
- Técnicos capacitados para la operación y el mantenimiento;

- Soporte de informática: sistemas de supervisión y de gestión de datos, notebooks y servidores;
- Stock de consumibles: sensores, membranas, estándares de ajuste y verificación, etc.;
- Equipos de repuesto: sondas multiparámetro, *dataloggers*, etc.;
- Vehículos y embarcaciones.

Considerando todos los equipos y sistemas involucrados, tanto la implantación como el funcionamiento de una estación automática pueden resultar bastante costosos. De esta forma, se deben considerar algunos criterios a la hora de elegir un punto para el monitoreo automático:

- Relevancia ambiental del punto (cuerpo hídrico en proceso de descontaminación, manantial, etc.);
- Representatividad del tramo, considerando los contribuyentes y buena mezcla de la masa de agua;
- Condiciones naturales y de infraestructura (existente y por implementar) que garanticen la sostenibilidad operativa de la estación automática durante el período de tiempo planificado.



CAPÍTULO 9

MEDICIÓN DE CAUDAL

9. MEDICIÓN DE CAUDAL

Cada vez se reconoce más la importancia de la interpretación conjunta de los datos de cantidad (caudal) y calidad. La información de caudal de un cuerpo de agua (o descarga de efluentes) combinada con los datos de calidad posibilita el cálculo de las cargas contaminantes, expresadas en cantidad por unidad de tiempo, generalmente kg/día o t/año. En el caso de un proceso industrial, el caudal permite determinar el balance de masa en el sistema para un determinado elemento.

Las mediciones de caudal hacen uso de varios métodos y dispositivos, dependiendo de una serie de factores, tales como: objetivo de la medición; tamaño del curso de agua; tipo, variabilidad y régimen del flujo; accesibilidad al lugar; recursos técnicos, humanos y económicos y tiempo disponibles.

La inspección previa del lugar es imprescindible para la definición del método de medición más adecuado. En esta etapa, puede ser necesario que el técnico de campo estime el caudal mediante métodos simples, como el volumétrico o con el uso de flotadores.

9.1 Medición de Caudal en Canales Abiertos

Ríos, arroyos y riberas constituyen canales abiertos cuyos caudales pueden determinarse mediante diversos métodos, pudiendo citarse como los principales:

- volumétrico;
- con flotadores;
- área velocidad;
- acústico;
- con trazadores;
- con dispositivos de geometría regular.

La medición de caudal en canales abiertos considera parámetros característicos de la sección de interés, relacionados:

- a la geometría de la sección: área mojada, ancho superficial, profundidad, entre otros;
- al flujo: distribución de velocidades de la masa líquida en la sección.

Estos parámetros varían con el nivel de agua, cuya lectura es realizada con la instalación de reglas limnimétricas en la sección (Fig. 9.1), y pueden definirse como:

- Área mojada: área de la sección transversal ocupada por el agua y expresada en metros cuadrados;
- Ancho superficial: longitud de la línea horizontal del área mojada, expresada en metros;
- Profundidad: distancia desde la superficie libre de agua hasta el lecho, que se puede determinar en términos de mediana, máxima y en una vertical determinada.



Figura 9.1. Reglas limnimétricas.
Foto: Luis Altivo Carvalho Alvim/Banco de imágenes de CETESB.

9.1.1 Método Volumétrico

El método volumétrico consiste en medir el tiempo necesario para el llenado de un recipiente de volumen conocido. Se puede utilizar un balde o tambor en el caso de pequeños caudales, pero el concepto puede ser ampliado para el embalse de una central hidroeléctrica.

Cuando corresponda, el método es tan más preciso cuanto lo sean el volumen del recipiente/embalse y el tiempo medido para completarlo. En función del tiempo de reacción inherente al ser humano en el cronometraje, no se deben elegir recipientes que impliquen tiempos de llenado muy cortos, recomendándose al menos 100 segundos.

El caudal se obtendrá dividiendo el volumen recolectado por el tiempo medido.

9.1.2 Medición con Flotadores

La estimativa de la velocidad con el uso de flotadores es una alternativa simple y rápida, pero con precisión limitada. Se recomienda elegir un tramo de curso de agua rectilíneo que presente márgenes paralelos, declividad del lecho constante y profundidad uniforme en el sentido longitudinal.

Este método es aceptable solo en los siguientes casos:

- Ocurrencia de inundaciones con velocidades y profundidades que impidan el uso de una embarcación para su medición con el equipo adecuado;
- Flujos con velocidades extremamente bajas donde el uso de un velocímetro es inviable.

El flotador se posiciona en el medio del río o canal, lo que le permite recorrer un pequeño tramo antes de que se inicie el cronometraje. De esta forma, el objeto adquiere, prácticamente, la misma velocidad del agua que lo circunda. La velocidad superficial se obtiene dividiendo la distancia recorrida por el tiempo medido. La velocidad media en la sección se estima multiplicando la velocidad superficial por el factor 0,85.

Al estimar el área de la sección transversal de flujo, el caudal se calcula como el producto de esta área por la velocidad media del flujo.

9.1.3 Método Área-Velocidad

El método convencional de medición de caudales por área-velocidad es bastante utilizado y sirve de referencia para los otros métodos, y consiste en determinar el área mojada y la velocidad media en la sección transversal de interés, obteniéndose el caudal como siendo el producto de estas dos magnitudes.

Para considerar las variaciones de la geometría del lecho y la distribución de velocidades de la masa líquida, la sección es dividida en un número significativo de subsecciones, delimitadas por verticales (líneas imaginarias contenidas en el plano de la sección transversal y perpendiculares a la superficie libre de agua). La distancia entre verticales depende del ancho del río. El extinto Departamento Nacional de Aguas y Energía Eléctrica – DNAEE, hoy Agencia Nacional de Energía Eléctrica – ANEEL, recomendaba las distancias entre verticales relacionadas en la tabla 9.1.

ANCHO DEL RÍO (m)	DISTANCIA ENTRE VERTICALES (m)
≤ 3	0.30
3 - 6	0.50
6 – 15	1.00
15 – 30	2.00
30 – 50	3.00
50 – 80	4.00
80 – 150	6.00
150 – 250	8.00
≥ 250	12.00

Tabla 9.1. Distancia recomendada entre verticales.
Fuente: DNAEE, 1967 *apud Santos et al.*, 2001.

Es importante tomar nota del nivel de agua al inicio y al final de los trabajos, y es deseable que el mismo no se altere significativamente durante la medición.

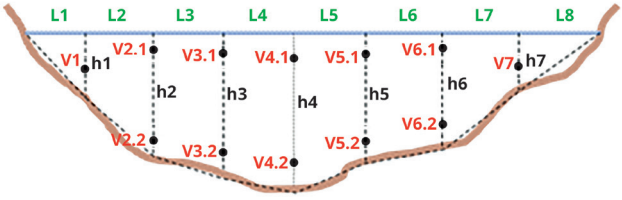
En cada vertical, se realiza la medición de la profundidad (p). Calculando la profundidad media de cada subsección y multiplicándola por su ancho, se obtiene el área. La suma de estas áreas constituirá el área mojada de la sección.

Concomitantemente, se miden las velocidades a diferentes profundidades de cada vertical, con el fin de obtener la velocidad media (Fig. 9.2). En Brasil, normalmente se emplea el método simplificado o de los dos puntos para la determinación de la velocidad media:

- si p < 0,60 m, la velocidad se mide en un único punto de la vertical a 0,6p;
- si p ≥ 0,60 m, la velocidad se mide en dos puntos a 0,2 y 0,8p.

$$\text{CAUDAL} = \frac{\text{VOLUMEN}}{\text{TIEMPO}} = \frac{L^3}{T} = L^2 * \frac{L}{T} = \text{ÁREA} * \text{VELOCIDAD}$$

Integración de las áreas y velocidades:



V1 e V7 - Medidas de velocidades a 0,6 de las profundidades
V2.1, V3.1, V4.1, V5.1 e V6.1 - Medidas de velocidades a 0,2 de las profundidades
V2.2, V3.2, V4.2, V5.2 e V6.2 - Medidas de velocidades a 0,8 de las profundidades

$$Q = L1*\frac{(0+h1)}{2}*\frac{(V1+0)}{2} + L2*\frac{(h1+h2)}{2}*\frac{(V1+V2)}{2} + L3*\frac{(h2+h3)}{2}*\frac{(V2+V3)}{2} + \ldots + L8*\frac{(h7+0)}{2}*\frac{(V7+0)}{2}$$

Figura 9.2. Cálculo de caudal mediante el método Área-Velocidad.
Fuente: Luis Altivo Carvalho Alvim/Banco de imágenes de CETESB.

El procedimiento más utilizado en Brasil para el cálculo del caudal es el de la Media Sección, según el cual los caudales parciales son cal-

culados para cada subsección, con una vertical al centro y delimitada por las semidistancias a las verticales adyacentes. De esta forma, el área de cada subsección será determinada por el producto de la suma de las semidistancias por la profundidad de la vertical. Multiplicando esta área por la velocidad media en la vertical, se obtiene el caudal parcial en esta subsección. La suma de estos caudales parciales dará como resultado el caudal total de la sección.

La sección de medición debe elegirse cuidadosamente, de modo que se cumplan los siguientes requisitos:

- • Debe situarse en un tramo rectilíneo del río;
- • Debe ser lo más regular posible, sin obstáculos - bloques de piedra, bancos de arena, entre otros - en el fondo y en los márgenes;
- • No se deberán observar zonas de estancamiento o de remanso, así como de deflexión de la corriente.

Una sección con las características citadas presenta una deseable distribución paralela de velocidades. Caso haya un puesto pluviométrico próximo y se desee asociar el caudal a determinar al nivel de agua, no es necesario medir el caudal en la sección de reglas limnimétricas, tomando cuidado de que no exista una contribución importante entre ellas, ya sean afluentes naturales o descargas.

Tradicionalmente, la medición de la velocidad se realiza con el molinete hidrométrico (Fig. 9.3), un equipo formado por un eje al cual se acopla una hélice calibrada y un contacto eléctrico que activa un contador de rotaciones. El número de rotaciones por segundo de esta hélice se correlaciona a la velocidad de la masa líquida por medio de una ecuación proporcionada por el fabricante del equipo.

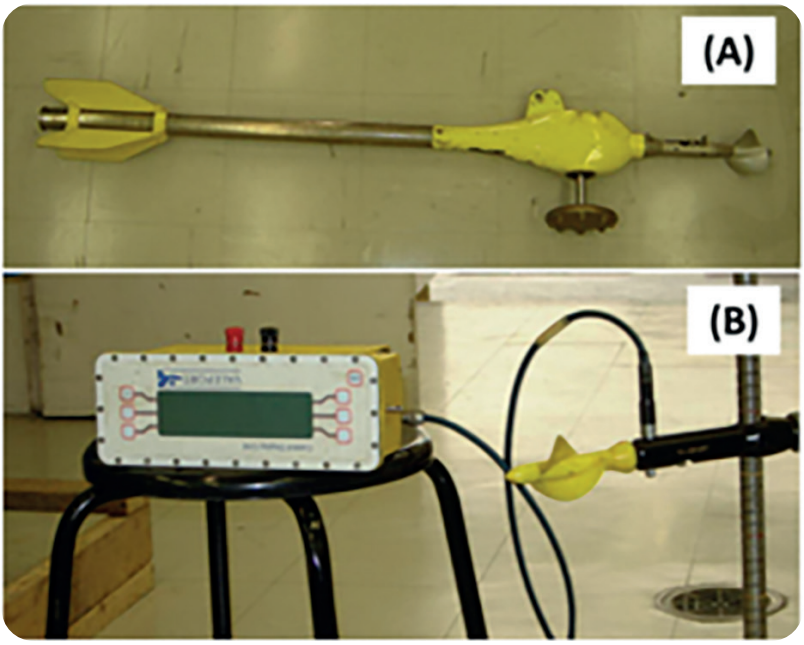


Figura 9.3. Molinete hidrométrico (A) y contador de rotaciones (B).
Fotos: Luis Altivo Carvalho Alvim/Banco de imágenes de CETESB.

Sin embargo, con el desarrollo de nuevas tecnologías para la medición de la velocidad del agua, los tradicionales molinetes hidrométricos han sido cada vez menos utilizados. Actualmente, se puede contar con medidores acústicos (velocímetro acústico por efecto Doppler - ADV) y electromagnéticos, que realizan medidas bastante precisas y necesitan menor mantenimiento. A estos equipos son acoplados *displays* con sistemas que procesan los datos generados y calculan automáticamente el caudal, además de evaluar la calidad de cada medición.

La medición de caudal en pequeños cursos de agua, donde la profundidad es inferior a 1 m y la velocidad posibilita que el operador se equilibre de pie en el canal, requiere pocos equipos y se puede realizar a vado (Fig. 9.4). En el caso de ríos más grandes, la medición se puede realizar sobre un puente o con una embarcación, y requiere el uso de otro método, el cual se comentará a continuación.



Figura 9.4. Medición de caudal a vado con un medidor ultrasónico.
Foto: Luis Altivo Carvalho Alvim/Banco de imágenes de CETESB.

9.1.4 Método Acústico

Se trata de la tecnología más actual en medición de caudal. El método acústico utiliza los equipos denominados perfiladores de corriente acústicos Doppler, en inglés *acoustic doppler current profiler*, más conocidos por la sigla ADP o ADCP (Fig. 9.5). La aplicación de este método se inició en EE.UU. en los años 1980 y llegó a Brasil en los años 1990, donde se viene difundiendo en las instituciones que desarrollan trabajos de hidrometría.



Figura 9.5. Medición de caudal con perfilador de corriente acústico Doppler (ADCP) acoplado a un pequeño catamarán.

Foto: Luis Altivo Carvalho Alvim/Banco de imágenes de CETESB.

En ríos de menor tamaño, en los cuales sea posible posicionar una cuerda de un lado a otro, se hace uso de un pequeño catamarán diseñado específicamente para soportar el medidor. En ríos más grandes, el ADCP se puede fijar al costado de una embarcación para la travesía. Los círculos en su cara inferior se denominan transductores y emiten pulsos de ultrasonido que son reflejados por las partículas sólidas en suspensión en la masa líquida y por el fondo del canal. Estos transductores deben estar sumergidos durante la medición, la cual consiste en atravesar una o más veces la sección de interés. Durante la travesía se registra simultáneamente lo siguiente: perfil de fondo o batimetría, perfiles y direcciones de velocidad y la trayectoria descrita por la embarcación.

Los datos recolectados en el agua se transmiten por radio, y en tiempo real, a un *notebook* con el *software* específico de cada fabricante. De esta forma es posible visualizar posibles fuentes de error para la medición, como obstáculos sumergidos (troncos, rocas, etc.). Como

resultado, el *software* emite un informe de la medición con datos como la batimetría de la sección, el ancho y el área mojada.

Entre los principales beneficios del ADCP, podemos citar:

- Medición de caudal a grandes profundidades, pudiendo llegar a más de 200 m;
- Uso en oceanografía, donde la velocidad y dirección de las corrientes varían considerablemente;
- Alta precisión en la determinación de las velocidades y profundidades;
- Mediciones más rápidas, con menos equipos embarcados, eliminando la necesidad de cables de acero en la sección y lastre;
- Obtención del caudal inmediatamente al final de cada travesía;
- Alta productividad y muy bajo mantenimiento.

Por otro lado, se pueden señalar como desventajas o limitaciones del ADCP:

- Costo de adquisición relativamente alto;
- Inadecuación para la medición del caudal en aguas cristalinas o con muy baja turbidez;
- Como la medición se realiza con el aparato parcialmente sumergido y tiene inicio y fin a cierta distancia de los márgenes, en la capa superficial y en los dos extremos de la sección, no se mide el caudal, solo se estiman las velocidades;
- Como la medición se realiza con el aparato parcialmente sumergido, los cuerpos de agua muy poco profundos no son compatibles con el método.

9.1.5 Medición con Trazadores

Consiste en la inyección, en determinado punto del río, de una cantidad conocida de un trazador y la medición de su concentración en un punto aguas abajo (Fig. 9.6). El trazador debe ser una sustancia

que se mezcle bien con la masa de agua, y tenga una propiedad que permita su identificación y cuantificación en el cuerpo hídrico, como fluorescencia (rodamina WT, fluoresceína), radioactividad (I^{137}, Br^{82}) o conductividad eléctrica (cloruro de sodio). La elección de la sal debe tener en cuenta los siguientes aspectos: costo; alta solubilidad en agua y no ser corrosivo o tóxico. También es muy importante que la sustancia elegida como trazador ya no se encuentre presente en el cuerpo hídrico.

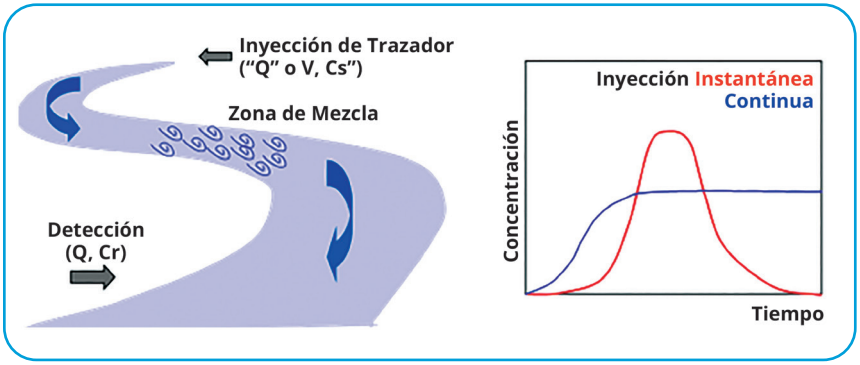


Figura 9.6. Inyección de trazador en un curso de agua y representación de la variación de su concentración en el punto de detección.

Fuente: Luis Altivo Carvalho Alvim/Banco de imágenes de CETESB.

La distancia entre el punto de inyección y el punto de detección del trazador debe ser suficiente para garantizar la mezcla completa del mismo con la masa de agua, tanto longitudinal como transversalmente en el canal.

(a) Inyección Continua

El método químico por inyección continua de un caudal constante de trazador se basa en el principio de que la dilución sufrida por la solución inyectada es directamente proporcional al caudal del cuerpo de agua. De esta forma, a una distancia suficiente aguas abajo para que se complete la mezcla solución-agua de río, se mide la concentración del producto añadido al agua.

El caudal del cuerpo de agua se determina por:

$$Q = q \cdot \frac{C_s}{C_r}$$

Donde:

Q = caudal del río (m^3/s)

q = caudal inyectado de solución (L/s)

C_s = concentración de la solución (g/L)

C_r = concentración en el agua del río (mg/L)

(b) Integración

El método por integración se produce cuando se vierte un volumen conocido de solución en un determinado punto del río y, en una sección aguas abajo donde ya se ha producido la mezcla completa, se toman muestras durante todo el tiempo del paso de la solución salina.

El caudal se determina por la siguiente ecuación, donde la concentración de la sal en las muestras se integra en el tiempo:

$$Q = \frac{V \cdot C_s}{\int_0^T C_r \cdot dT}$$

Donde:

Q = caudal del río (m^3/s)

V = volumen de solución vertida (L)

Cs = concentración de la solución (g/L)

Cr = concentración variable de la sal en el agua del río (g/L)

T = tiempo del paso de la solución por la sección de muestreo(s).

En esta variante del método químico, es importante que ninguna parcela de la solución vertida sea retenida en puntos de remanso o de agua estancada.

9.1.6 Medición con Dispositivos de Geometría Regular

Los dispositivos de geometría regular, como los canales Parshall y los vertedores, se utilizan para la medición de caudal debido al hecho de que se conocen las relaciones cuota-caudal. Dado que las dimensiones de estos dispositivos están estandarizadas, si se reproducen fielmente en campo, se podrán usar las ecuaciones determinadas en laboratorio para el cálculo del caudal.

Estos dispositivos se utilizan en la medición de pequeños caudales, máximo de 5 m^3/s.

(a) Canal Parschall

El canal Parshall (Fig. 9.7) es un ejemplo de canal de control utilizado para mediciones continuas de descarga y no requiere una caja de tranquilización aguas arriba.

Sus principales desventajas son la mayor complejidad para su construcción e instalación. Por otro lado, presenta las siguientes ventajas en relación con los vertedores:

- no altera significativamente las condiciones naturales del cuerpo de agua, como la circulación de sedimentos, nutrientes y vida acuática;
- una única estructura permite medir un amplio rango de caudales.

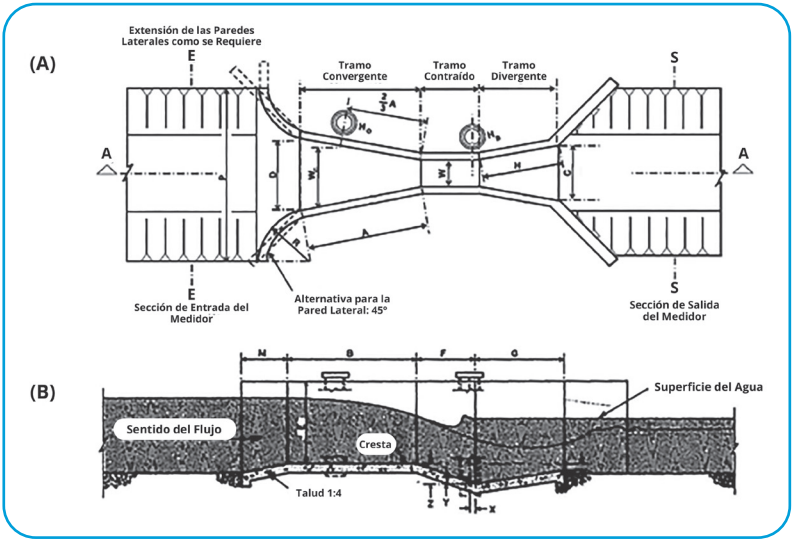


Figura 9.7. Canal Parshall: (A) Vista superior en corte de un canal Parshall; (B) Vista lateral en corte longitudinal de un canal Parshall.

Fuente: CETESB, (1988).

El caudal se determina por:

$$Q = 2{,}2 \cdot W \cdot H_a^{3/2}$$

Donde:

Q = caudal (m^3/s)

W = ancho de la garganta (m)

H_a = carga en la sección convergente (m)

El coeficiente de descarga adimensional 2,2 es válido para 0,30 < W < 2,45.

Los símbolos utilizados por las disposiciones constructivas son interrelacionados y están contenidos en los manuales de hidráulica. El ancho de la garganta es el tamaño nominal del canal Parshall y las demás dimensiones dependen de este valor. La ecuación mostrada solo puede ser aplicada si el canal presenta la vena aguas abajo (medida por Hb) con flujo libre.

Para la obtención de caudales válidos, es de fundamental importancia cumplir con las normas técnicas, tanto en la construcción como en la instalación del canal Parshall.

(b) Vertedor de Cresta Delgada

Un vertedor de cresta delgada consiste en una placa delgada que intercepta transversalmente el flujo de agua, provocando una elevación aguas arriba y vertiendo aguas abajo. Los vertedores de pared delgada (Fig. 9.8) se distinguen de los de cresta gruesa por el ancho de la cresta. Si es posible observar paralelismo de los chorros en la cresta, el vertedor se denomina de cresta gruesa.

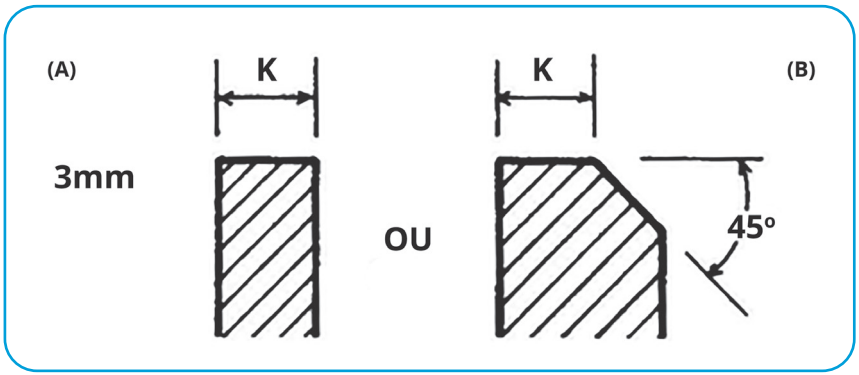


Figura 9.8. Vertedores de pared delgada: (A) Cresta delgada; (B) Cresta gruesa.
Fuente: CETESB, 1988/Banco de imágenes de CETESB.

La forma del recorte en la placa por donde el agua fluye –triangular, rectangular, trapezoidal y otros– determina el tipo de vertedor y la formulación establecida para el cálculo del caudal, conforme se muestra en la Figura 9.9.

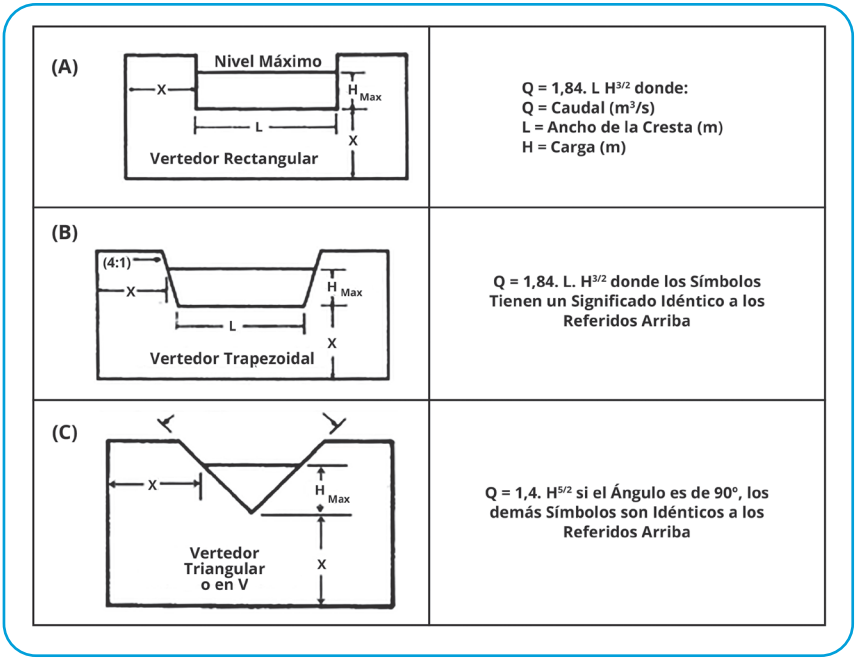


Figura 9.9. Vertedores de pared delgada: (A) Vertedor rectangular y cálculo del caudal; (B) Vertedor trapezoidal y cálculo del caudal; (C) Vertedor triangular o en "v" y cálculo del caudal.
Fuente: CETESB, 1988/Banco de imágenes de CETESB.

Los coeficientes de caudal (1,84; 1,86; 1,4) varían en función del vertedor. Los valores de L y X son datos en función de Hmax, que es la altura máxima de la lámina de agua en metros, descontado el borde libre, esto es: L es al menos 3 Hmax, X es al menos 2 Hmax.

Como forma de hacer que el flujo aguas arriba del vertedor sea lo más regular posible, se puede instalar una caja de tranquilización (Fig. 9.10 y 9.11). Las dimensiones de la caja pueden variar para adaptarse a las condiciones predominantes en cada lugar, siempre que resulten en un flujo tranquilo. Adicionalmente, se pueden instalar tabiques antes de la lámina del vertedor.

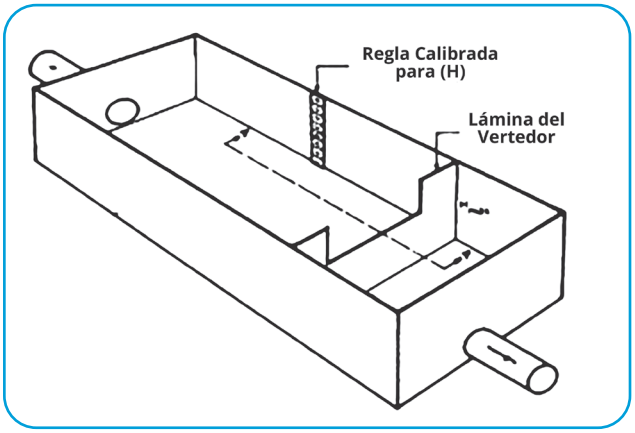


Figura 9.10. Caja de tranquilización con vertedor interno.
Fuente: CETESB, 1988/Banco de imágenes de CETESB.

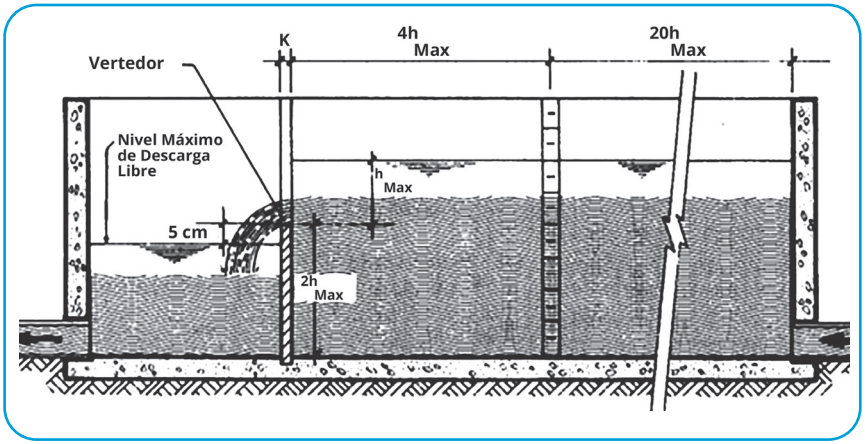


Figura 9.11. Caja de tranquilización – corte longitudinal.
Fuente: CETESB, 1988/Banco de imágenes de CETESB.

9.2 Medición de Caudal con Dispositivos Instalados en Tubos

A continuación, se presentan los dispositivos medidores de caudal instalados en tubos, con sus diseños esquemáticos y formulación básica. Son los siguientes: Medidor Venturi (Fig. 9.12), bocales y orificios (Fig. 9.13), tubo de Pitot (Fig. 9.14), medidor magnético (Fig. 9.15) y rotámetro (Fig. 9.16).

9.2.1 Medidor Venturi

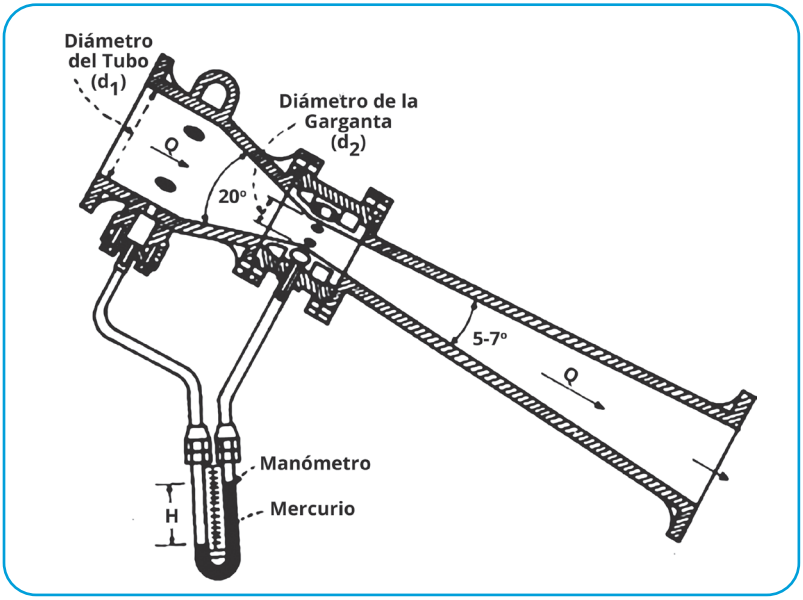


Figura 9.12. Medidor Venturi.
Fuente: CETESB,

$$Q = 0{,}98.A.K.\sqrt{H}$$

Donde:

Q = caudal (m^3/s)

A = área de la garganta (m^2)

$$K = \frac{2.g}{\sqrt{1-\left(\frac{d_2}{d_1}\right)^4}}$$

d_1 = diámetro del tubo (m)

d_2 = diámetro de la garganta (m)

g = aceleración de la gravedad (9,81 m/s^2)

H = carga diferencial de presión (m)

Obs.: El coeficiente 0,98 ya considera el hecho de que hay mercurio en el manómetro.

Nota: La Convención de Minamata, ratificada por Brasil en agosto de 2017, incorpora una serie de recomendaciones y moratorias en relación con el uso de productos que contienen mercurio debido a los riesgos asociados a ese elemento químico.

9.2.2 Medición con Bocales y Orificios

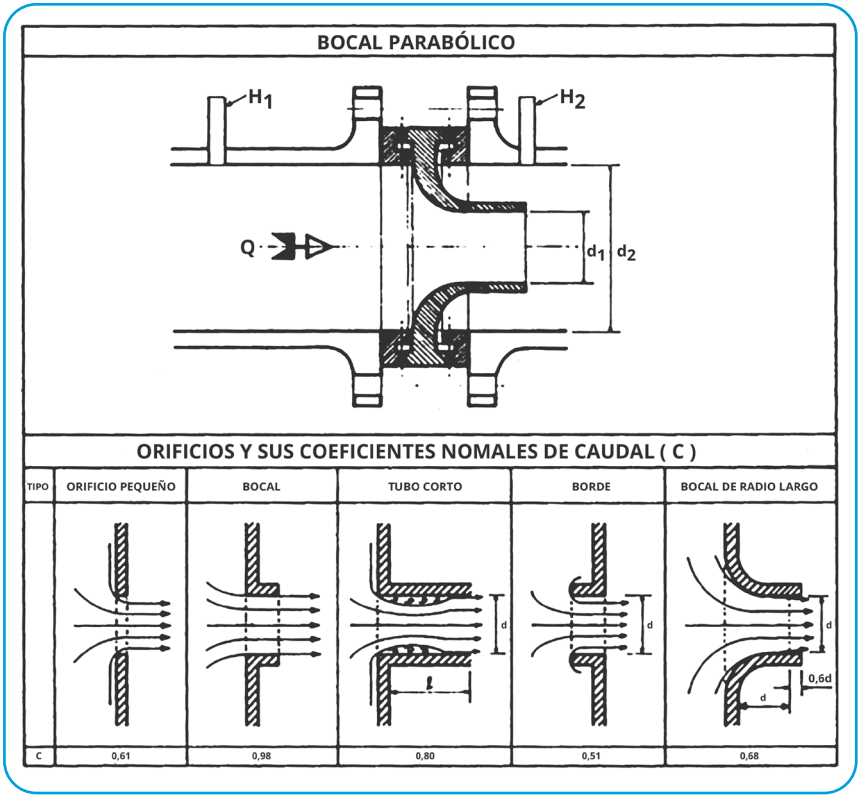


Figura 9.13. Bocales y orificios para medición de caudal.

Fuente: CETESB, 1988/Banco de imágenes de CETESB.

$$Q = C.A.K.\sqrt{H}$$

Donde:

A = área de la sección (m^2)

Q = caudal (m^3/s)

C = coeficiente de caudal adimensional para cada tipo de orificio o bocal

$K = 4{,}42$

$\boldsymbol{H = H_1 - H_2}$, carga hidráulica (mca)

Los bocales se distinguen de los orificios y de los tubos a partir de la relación entre longitud y diámetro (d). Esta relación también influye en los coeficientes de caudal y en la velocidad del flujo, si el orificio está instalado en una canalización.

9.2.3 Tubo de Pitot

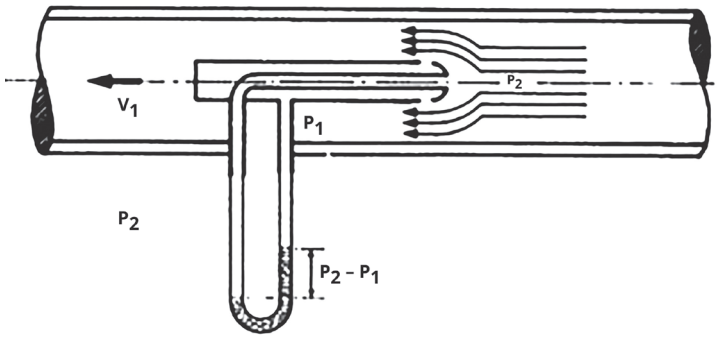


Figura 9.14. Tubo de Pitot.
Fuente: CETESB, 1988/Banco de imágenes de CETESB

$$Q = S \,.\, V$$

Donde:

Q = caudal (m^3/s)

S = área de la sección (m^2)

V = velocidad media en la sección (m/s)

$$V \cong H.\sqrt{2.g}$$

Donde:

g = aceleración de la gravedad (9,81 m/s^2)

$H = P2 - P1$ (mca)

La velocidad media en la sección se obtiene variando la posición del bocal. Generalmente, la velocidad media oscila entre 0,5 y 0,8 de la velocidad del eje.

9.2.4 Medidor Magnético

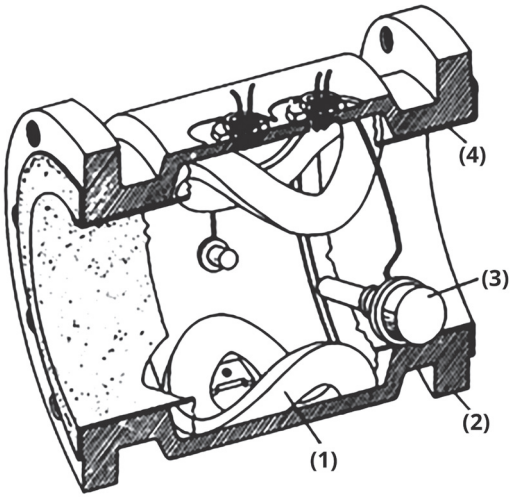


Figura 9.15. Medidor magnético.
Fuente: CETESB, 1988/Banco de imágenes de CETESB.

$$Q = Vv \,.\, V_T \,.\, B$$

Donde:

Q = caudal

Vv = voltaje inducido y proporcional a Vm

Vm = velocidad media

VT = el voltaje *Vv* amplificado se lleva a un compensador, la corriente alterna se transforma en directa y se lleva al multiplicador y se conduce al acumulador cuya lectura indica *VT*.

B = característica de la sección transversal del conducto (diámetro)

La formulación es equivalente a $Q = Vm.F$, la cual se puede obtener mediante la lectura directa del equipo calibrado.

El medidor magnético se puede instalar externamente a una canalización, aunque los electrodos entren en contacto con el líquido.

9.2.5 Rotámetro

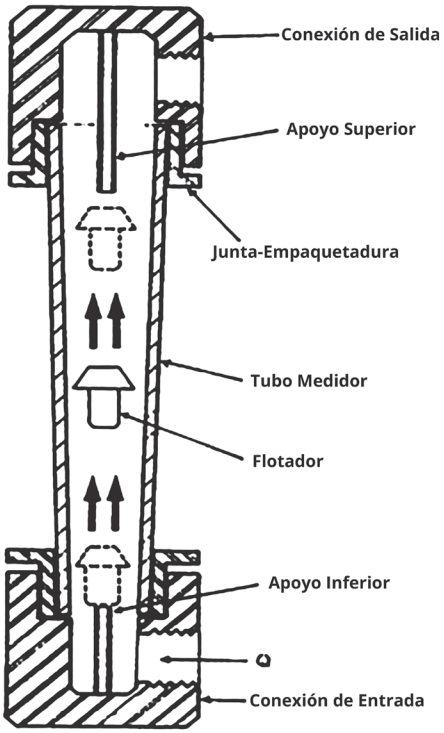


Figura 9.16. Rotámetro.
Fuente: CETESB, 1988/Banco de imágenes de CETESB.

$$Q = K.\left(\alpha^2 - 1\right)\alpha.\sqrt{\frac{\pi}{2}}.D_f.\sqrt{\frac{F}{\varphi}}$$

Donde:

Q = caudal

K = coeficiente de descarga (fluidos teóricos y reales)

μ = relación entre diámetro del tubo medidor y del flotador

Df = diámetro del flotador

F = fuerza que actúa en el flotador, dependiendo de la diferencia de densidad entre el flotador y el líquido

φ = densidad del líquido

El rotámetro se utiliza en líquidos claros y limpios. Es un equipo preciso y de bajo costo, con el caudal obtenido por lectura directa en el tubo medidor, ya graduado de manera conveniente.

9.3 Medición de Caudal en Tubos con Descarga Libre

El caudal en tubos con descarga libre se puede obtener mediante el método de las coordenadas geométricas del chorro (Figs. 9.17 y 9.18) y método California (Figs. 9.19, 9.20 y 9.21).

9.3.1 Método de las Coordenadas Geométricas del Chorro

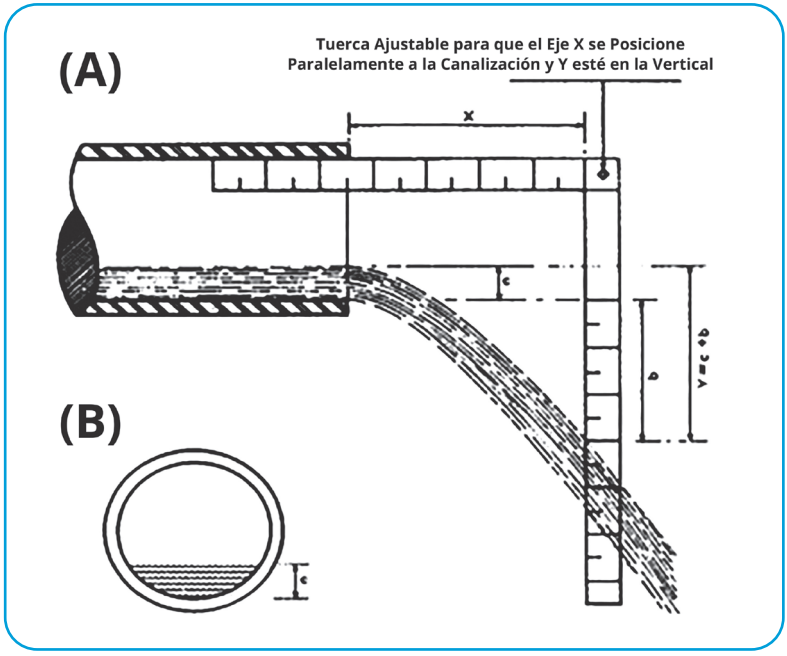


Figura 9.17. Método de las Coordenadas Geométricas del Chorro: (A) Vista en corte longitudinal del tubo; (B) Detalle del corte frontal del tubo.

Fuente: CETESB, 1988/Banco de imágenes de CETESB.

$$Q = 2{,}21 . \frac{A.X}{Y}$$

Donde:

Q = caudal (m^3/s)

A = área de la sección mojada (m^2)

X = distancia en la horizontal (m)

Y = distancia en la vertical (m)

$Y = c + b\ (m)$

c = profundidad en la canalización (m)

b = distancia desde el fondo del conducto hasta la superficie del líquido que fluye (m)

El coeficiente 2,21 se obtiene a partir de la ecuación hidráulica, considerando la vena de fluido que fluye bajo la acción de la gravedad.

Para el conducto o canalización inclinada (Fig. 9.18), el dispositivo debe ajustarse a la inclinación del conducto y ser calibrado, pudiendo entonces ser acoplado al extremo del conducto. Se recomienda su uso para pequeños ángulos de inclinación.

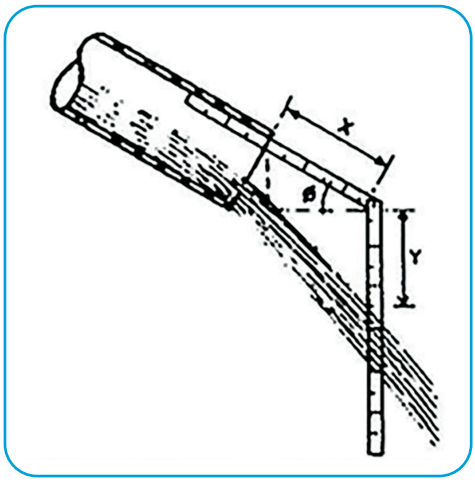


Figura 9.18. Aplicación del Método de las Coordenadas Geométricas del Chorro a canalizaciones Inclinadas.

Fuente: CETESB, 1988/Banco de imágenes de CETESB.

9.3.2 *Método California*

El Método California se indica para conductos horizontales (Fig. 9.19). En el caso de conductos inclinados, estos se deben conectar a un tramo de tubo horizontal por medio de una manguera, como se ilustra en la Figura 9.20.

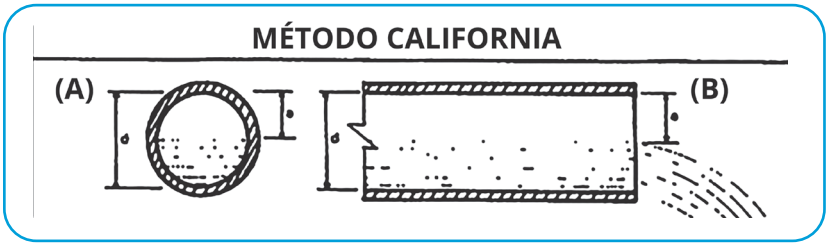


Figura 9.19. Método California: (la) Detalle del corte frontal del tubo; (B) Vista en sección longitudinal del tubo.

Fuente: CETESB, 1988.

$$Q = K \cdot h^{1,88}$$

Donde:

Q = caudal (L/s)

K = coeficiente de descarga que depende de las características del conducto (m)

$K = 0,057 + 0,01522\ d$ (cm)

d = diámetro del conducto (cm)

h = altura de la lámina de agua (cm)

$h = d - a\ (m)$

a = altura del conducto no toma por el líquido (cm)

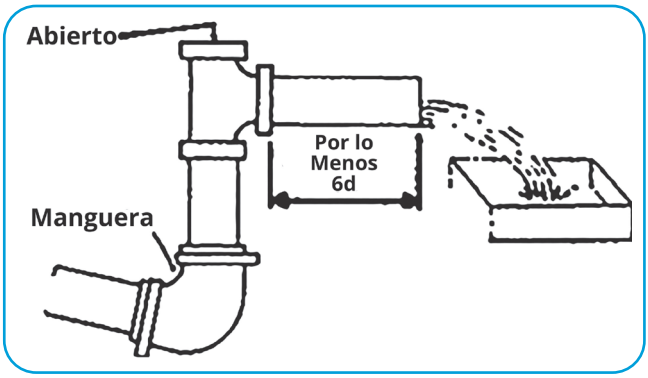


Figura 9.20. Método California para conductos inclinados.
Fuente: CETESB, 1988/Banco de imágenes de CETESB.

Existe también el Método California Modificado, que es una adaptación a tubos llenos horizontales o inclinados (Fig. 9.21). EL ángulo puede variar, pero el valor de Y es fijo e igual a 0,25 m. El valor 12,5 es obtenido algebraicamente a partir de la ecuación, considerando el flujo bajo la acción de la gravedad.

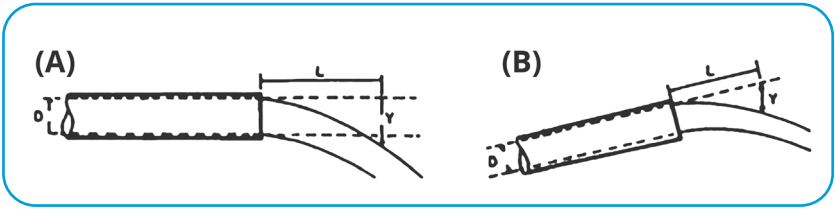


Figura 9.21. Método California Modificado: (A) Tubo horizontal; (B) Tubo inclinado.
Fuente: CETESB, 1988/Banco de imágenes de CETESB.

$$Q = 12{,}5 \,.\, X \,.\, D^2$$

Donde:

Q = caudal (L/h)

X = L = longitud en la horizontal (cm)

D = diámetro interno del tubo (cm)

Y = distancia en la vertical (m)

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

ABNT - Asociación Brasileña de Normas Técnicas. **ABNT NBR 15847:** Amostragem de água subterrânea em poços de monitoramento - Métodos de purga. 1. ed. Rio de Janeiro: ABNT, 2010.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **ABNT NBR 15469:** Ecotoxicologia – Coleta, preservação e preparo de amostras. 3. ed. Rio de Janeiro: ABNT, 2021.

ALGARTE, V. M.; RODRIGUES, L.; LANDEIRO, V. L.; SIQUEIRA, T.; BINI, L. M. Variance partitioning of deconstructed periphyton communities: does the use of biological traits matter? **Hydrobiologia**, v. 722, p. 279-290, 2014.

AMARAL, A. C. Z.; MORGADO, E. H.; FERREIRA, C. P.; LEITE, F. P. P. Distribuição da macrofauna bêntica da zona entremarés, em praias do litoral do Estado de São Paulo. *In*: Minisimposio de Biología Marina, 7, São Sebastião. **Resúmenes...** São Sebastião: CEBIMar - USP, p. 8, 1988.

AMARAL, A. C. Z.; MORGADO, E. H.; LOPES, P. P.; BELÚCIO, L. F.; LEITE, F. P. P.; FERREIRA, C. P. Composition and distribution of the intertidal macrofauna of sand beaches on São Paulo Coast. *In*: Simposio de Ecosistemas de la Costa Sur y Sureste de Brasil: Estructura, Función y Manejo, 2, Águas de Lindóia. **Anales ACIESP**, São Paulo, v. 3, p. 258-279, 1990, supl. 71.

AMARAL, A. C. Z.; MORGADO, E. H.; LOPES, P. P. Aspectos da zonação da macrofauna entremarés de praias do litoral norte do Estado de São Paulo. *In*: Congreso Brasileño de Zoología, 18, Salvador, **Resúmenes...** Salvador: UFBA, p. 502, 1991.

AMARAL, A. C. Z.; PARDO, E. V.; MORGADO, E. H.; REIS, M. O.; SALVADOR, L. B.; LIMA, L. H. Sobre a macroinfauna bêntica entremarés de praias da Ilha de São Sebastião. *In*: Simposio de Ecosistemas de la Costa Brasileña: Subsidios para una Gestión Ambiental, 3, Serra Negra. **Anales...** São Paulo: ACIESP, v. 3, p.330-337, 1994a, *supl. 87*.

AMARAL, A. C. Z; MORGADO, E. H. Efeitos da poluição de origem doméstica sobre a macrofauna bêntica de praias do litoral paulista. *In*: Congreso de Ecología de Brasil, **Resúmenes...** Londrina: UEL, p. 623, 1994b.

AMARAL, A. C. Z; MORGADO, E. H.; S. A. HENRIQUES; T. M. STEINER; E. P. OMENA; A. E. RIZZO; J. R. ABRAHÃO; P. R. NUCCI; E. V. PARDO; L. B. SALVADOR; M. O. REIS. Monitoramento de praias arenosas do Canal

de São Sebastião. *In*: Minisimposio de Biología Marina, 10, São Sebastião. **Resúmenes...** São Sebastião: CEBIMar - USP, p. 3. 1995a.

AMARAL, A. C. Z; MORGADO, E. H.; LIMA, L. H.; E. P. OMENA; E. V. PARDO; M. O. REIS; L. B. SALVADOR; T. M. STEINER; M. R. DENADAI. Monitoramento de praias do Canal de São Sebastião (SP - Brasil) - Programa Amostral. *In*: Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar, 6, Mar del Plata, Argentina. **Resúmenes...** Mar del Plata, p. 21. 1995b.

APHA – American Public Health Association; AWWA – American Water Works Association; WEF - Water Environment Federation. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 24th ed. Washington, D.C.: APHA Press, 2023.

AUSTRALIA. Environment Protection Authority. **EPA Guidelines:** Regulatory monitoring and testing water and wastewater sampling. Adelaide, SA: EPA, 2007. Com assistência do Australian Water Quality Centre. ISBN 978-1-92921125-47-8. Disponible en: http://www.epa.sa.gov.au/xstd_files/ Water/ Guideline/guide_wws.pdf. Acceso el: 23 abr. 2023.

BARBOUR, M. T. **Rapid bioassessment protocols for use in wadeable streams and rivers:** periphyton, benthic macroinvertebrates and fish. US Environmental Protection Agency, Office of Water, 1999.

BELÚCIO, L. F.; MORGADO, E. H.; AMARAL, A. C. Z. Macrofauna bêntica de moluscos da região entremarés da Enseada de Caraguatuba, SP. *In*: Simposio sobre Oceanografía, 1, 1989, São Paulo. **Resúmenes**... São Paulo: IOUSP, p. 94-95, 1989.

BELÚCIO, L. F.; MORGADO, E. H. Padrões de distribuição e abundância de moluscos na região entremarés do Araçá (São Sebastião, SP)**.** *In*: Minisimposio de Biología Marina, 10, 1995, São Sebastião. **Resúmenes**... São Sebastião: CEBIMar-USP, p. 4, 1995.

BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C. **Amostragem em Limnologia**. São Carlos: RiMa, 2004.

BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C. **Amostragem em Limnologia**. São Carlos: RiMa, 2007.

BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. **Gêneros de algas de Águas Continentais do Brasil**. São Carlos: RIMa. 2005.

BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. **Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil:** Chave para identificação e descrições. 3. ed. São Carlos: RiMa, 2017.

BIGGS, B. J. F.; KILROY, C. **Stream periphyton monitoring manual.** Nova Zelândia: NIWA, Christchurch, 2000.

BOLTOVSKOY, D. (ed.). **Atlas del zooplancton del Atlántico Sudoccidental y métodos de trabajo con el zooplancton marinho**. Mar del Plata: Publicación del INIDEP, 1981.

BONN AGREEMENT. Marine HNS **Response Manual. Multi-regional Bonn Agreement**, HELCOM, REMPEC, 2021. Disponible en: https://www.bonnagreement.org/site/assets/files/1081/bonn_agreement_counter_pollution_manual.pdf. Acceso el: 10 abr. 2023.

BRANCO, S. M. **Hidrobiologia Aplicada à Engenharia Ambiental**. São Paulo: CETESB, 1978.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA Nº 274, de 29 de novembro de 2000**. Diário Oficial da União: sección 1, Brasília, DF, n. 18, p. 170-171, 25 jan. 2001.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005.** Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União: sección 1, Brasília, DF, n. 53, p. 58-63, 18 mar. 2005.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. **Cianobactérias/cianotoxinas:** procedimentos de coleta, preservação e análise. Brasília, 2015.

BURTON JR., G. A. (ed.). **Sediment Toxicity Assessment**. London: Lewis Publishers, Inc., 1992.

CALAZANS, D.; MUELBERT, J. H.; MUXAGATA, E. Organismos Planctônicos. *In*: CALAZANS, D. (org.). **Estudos Oceanográficos:** Do instrumental ao Prático**.** Pelotas: Editora Textos, 2011. Disponible en: https://cienciasdomarbrasil.furg.br/documentos/livros/22-documentos/59-link-estudos-oceanograficos-do-instrumental-ao-pratico. Acceso el: 02 mayo 2023.

CANTWELL, H. (ed.) **Blanks in Method Validation - Supplement to Eurachem Guide the Fitness for Purpose of Analytical Methods**. 1. ed. 2019. Disponible en: https://www.eurachem.org. Acceso el: 12 mayo 2023.

CARAMASCHI, U. **Manual de técnicas para preparação de coleções zoológicas.** Sociedade Brasileira de Zoologia, Campinas, SP, 1987. Disponible en: https://www.ib.unicamp.br/museu_zoologia/catalogos_guias. Acceso el:12 mayo 2023.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Guia de Coleta e Preservação de Amostras de Água.** São Paulo: CETESB, 1988.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Estudos preliminares para o uso de índices biológicos no biomonitoramento de ambientes aquáticos continentais – riachos e corredeiras na bacia do Rio Atibaia**. São Paulo: CETESB, 2002.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Atualização e aperfeiçoamento de metodologias analíticas. Diagnóstico Ecológico de um Trecho do Ribeirão dos Cristais**. São Paulo: CETESB, 2005.

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Qualidade das águas subterrâneas no estado de São Paulo 2016-2018**. São Paulo: CETESB, 2019. Disponible en: https://cetesb.sp.gov.br/aguas-subterraneas/publicacoes-e--relatorios/. Acceso el: 10 mayo 2023.

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Qualidade das praias litorâneas no estado de São Paulo – 2020.** São Paulo: CETESB, 2021. Disponible en: https://cetesb.sp.gov.br/praias/wp-content/ uploads/sites/31/2022/10/Relatorio-Praias-Litoraneas-2021.pdf. Acceso el: 10 mayo 2023.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Emergências Químicas.** São Paulo: CETESB, 2023. Disponible en: https://sistemasinter.cetesb.sp.gov.br/emergencia/est_atividade.php. Acceso el: 04 abr. 2023.

CHORUS, I.; WELKER, M. (eds.). **Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, Monitoring and Management.** 2nd ed. Boca Raton (FL): CRC Press, Boca Raton (FL), on behalf of the World Health Organization, Geneva, CH, 2021.

COOK, C. D. K. **Aquatic Plant Book**. The Hague: SBP Academic Publishing, 1996.

COUTINHO, R.; SZÉCHY, M. T. M.; LÓPEZ, M. S.; CHRISTOFOLETTI, R. A.; BERCHEZ, F.; YAGINUMA, L. E.; ROCHA, R. M.; SIVIERO, F. N.; GHILARDI-LOPES, N. P.; FERREIRA, C. E. L.; GONÇALVES, J. E. A.; MASI, B. P.; CORREIA, M. D.; SOVIERZOSKI, H. S.; SKINNER, L. F.; ZALMON, I. R. Monitoramento de longo prazo de costões rochosos. *In*: TURRA, A.; DENADAI, M. R. (orgs.). **Protocolos para o monitoramento de habitats bentônicos costeiros – Rede de Monitoramento de Habitat Bentônicos Costeiros – ReBentos [online].** São Paulo: Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, 2015. ISBN 978-85-98729-25-1.

DAVIES JR, P. M.; BUNN JR., S. E.; HAMILTON JR., S. K. Primary production in tropical streams and rivers. *In*: **Tropical stream ecology**, Academic Press, p. 23-42, 2008.

DE BERNARDI, R. Methods for the estimation of zooplankton abundance. *In*: DOWNING, J. A.; RIGLER, F. H. (eds.). **A manual on methods for the**

assessment of secondary productivity in fresh water. Blackwell Scientific Publication, IBP Hand Book 17, p. 59-86, 1984.

DELA-CRUZ, J.; PRITCHARD, T. I. M.; GORDON, G.; AJANI, P. The use of periphytic diatoms as a means of assessing impacts of point source inorganic nutrient pollution in southeastern Australia. **Freshwater biology**, v. 51, n. 5, p. 951-972, 2006.

DENICOLA, D.; KELLY, M. Role of periphyton in ecological assessment of lakes. **Freshwater Science**, v. 33, n. 2, p. 619-638, 2014.

DODDS, W. K. The role of periphyton in phosphorus retention in shallow freshwater aquatic systems. **Journal of Phycology**, v. 39, n. 5, p. 840-849, 2003.

DUNCK, B.; NOGUEIRA, I. D. S.; FELISBERTO, S. A. Distribution of periphytic algae in wetlands (Palm swamps, Cerrado), Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 73, p. 331-346, 2013.

EDWARDS, C. A. **Persistent pesticides in the environment**. CRC Press Inc. 2nd Edition, 1975.

FERNANDES, V. O.; ESTEVES, F. A. Comunidade Perifítica. *In*: ESTEVES, F. A. (coord.) **Fundamentos de Limnologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2011.

GAISER, E. E.; CHILDERS, D. L.; JONES, R. D.; RICHARDS, J. H.; SCINTO, L. J.; TREXLER, J. C. Periphyton responses to eutrophication in the Florida Everglades: Cross-system patterns of structural and compositional change. **Limnology and Oceanography**, v. 51, p. 617-630, 2006.

GANNON, J. E; GANNON, S. A. Observations on the narcotization of crustacean zooplankton. 31. **Crustaceana**, v. 28, p. 220-222, 1975.

HANEY, J. F.; HALL, D. J. Sugar-coated *Daphnia*: A preservation technique for Cladocera. **Limnol. Oceanogr**., v. 18, p. 331-333, 1973.

HILL, B. H.; WEBSTER, J. R. Periphyton production in an Appalachian River. **Hydrobiologia**, v. 97, p. 275-280, 1982.

HILL, B. H.; HERLIHY, A. T.; KAUFMANN, P. R.; STEVENSON, R. J.; MCCORMICK, F. H.; JOHNSON, C. B. Use of periphyton assemblage data as an index of biotic integrity. **Journal of the North American Benthological Society**, v. 19, n. 1, p. 50-67, 2000.

HOEHNE, F. C. **Plantas aquáticas**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1979.

HUBOLD, G. Considerações metodológicas sobre a coleta de plâncton realizada durante as Operações CONVERSUT I e II (1978 e 1979). **Anales Hidrográficos**, Rio de Janeiro, v. 36, p. 1-11, 1979.

HUSZAR, V. L. M.; GIANI, A. Amostragem da Comunidade Fitoplanctônica em Águas Continentais: Reconhecimento de padrões espaciais e temporais. *In*: BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C. **Amostragem em Limnologia**. São Carlos: RiMa Ed., 2004. 351p.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrología, Normalización y Calidad Industrial. NIT-DICLA-057. **Critérios para acreditação da amostragem de águas e matrizes ambientais**. Rev. No 00. 2009.

INOUE, L. A. K. A.; MORAES, G. **Óleo de cravo:** um anestésico alternativo para o manejo de peixes. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2007.

IPIECA - International Petroleum Industry Environmental Conservation Association. **Oil spill monitoring and sampling. Good practice for incidente management and emergency response personnel.** International Association of Oil & Gas Producers, 2020. Disponible en: https://www.ospri.online/site/assets/files/1135/oil_spill_monitoring_and_sampling_2021-01-29_lr.pdf. Acceso el: 06 abr. 2023.

IRGANG, B. E.; GASTAL JÚNIOR, C. V. S. Problemas taxonômicos e distribuição geográfica de macrófitas aquáticas do sul do Brasil. *In*: THOMAZ S. M.; BINI L. M. **Ecología e manejo de macrófitas aquáticas.** Maringá: EDUEM, cap. 7, p. 163-169, 2003.

ISO - International Organization For Standardization. **5667-1: Water quality - Sampling - Part 1: Guidance on the design of sampling programmes and sampling techniques.** Genebra, Suíca, 1980.

ISO - International Organization For Standardization. **16240: Water quality – Determination of the genotoxicity of water and wastewater –*Salmonella*/microsome test (Ames test)**. Genebra, Suíça, 2005.

ITOPF - International Tanker Owners Pollution Federation. Sampling and monitoring of marine oil spills. **Technical Information Paper**, 2012. Disponible en: https://www.amn.pt/DCPM/Documents/TIP%2014%20Sampling%20and%20 Monitoring%20of%20Marine%20Oil%20Spills.pdf. Acceso el: 10 abr. 2023.

JARDIM, W. F. Medição e interpretação de valores do potencial redox (EH) em matrizes ambientais. **Quim. Nova**, v. 37, n. 7, p. 1233-1235, 2014.

KIKUCHI, R. M.; FONSECA-GESSNER, A. A.; SHIMIZU, G. Y. Suction sampler for collection of benthic macroinvertebrates in several continental aquatic environments: a comparative study with the Hess and Surber samplers. **Acta Limnol. Bras**., v. 18, n. 1, p. 29-37, 2006.

KLEMM, D. J.; LEWIS, P. A.; FULK, F.; LAZORCHAK, J. M. **Macroinvertebrate field and laboratory methods for evaluating the biological integrity of**

surface waters. EPA-600-4-90-030. Environmental Monitoring Systems Laboratory, US/EPA, Cincinnati, 1990.

KOHLER, K. E.; GILL, S. M. Coral Point Count with Excel extensions (CPCe): A Visual Basic program for the determination of coral and substrate coverage using random point count methodology. **Computers & Geosciences**, v. 32, p. 1259–1269, 2006.

KOUTSOUKOS, V. S. **Descrição da estrutura de comunidades bentônicas de ilhas da estação ecológica de Tamoios, baía da Ilha Grande, RJ.** 2012. 135 f. Disertación (Maestría em Biología Marina), Universidade Federal Fluminense, 2012. Disponible en: https://app.uff.br/riuff;/bitstream/handle/1/24582/V.S.%20KOUTSOUKOS.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acceso el: 27 dez. 2023.

KUHLMANN, M. L.; IMBIMBO, H. R. V.; WATANABE, H. M. **Macrofauna bentônica de água doce:** Avanços metodológicos – III. São Paulo: CETESB, 2003.

LECOINTE, C.; COSTE, M.; PRYGIEL, J. *Omnidia*: software for taxonomy, calculation of diatom indices and inventories management. **Hydrobiologia**, v. 269, n. 1, p. 509-513, 1993.

LEITE, F. P. P.; FERREIRA, C. P. Composição, distribuição e densidade dos crustáceos do Araçá, São Sebastião (SP). *In*: Minisimposio de Biología Marina, 7, São Sebastião, **Resúmenes**... São Sebastião: CEBIMar - USP, p. 27, 1988.

LEITE, F. P. P.; RAMOS, M. P.; SOTO-ESPINOZA, D. Aspectos da dinâmica populacional de *Kalliapseudes schubarti* Mané-Garzon, 1949 (Crustacea, Tanaidacea) do Araçá, São Sebastião, SP. *In*: Congreso Brasileño de Zoología, 19, Congreso Latinoamericano de Zoología, 12, 1992, Belém. **Resúmenes**... Belém: UFPA, p. 40, 1992.

LOBO, E. A.; SCHUCH, M.; HEINRICH, C. G.; DA COSTA, A. B.; DÜPONT, A.; WETZEL, C. E.; ECTOR, L. Development of the Trophic Water Quality Index (TWQI) for subtropical temperate Brazilian lotic systems. **Environmental monitoring and Assessment**, v. 187, n. 6, p. 1-13, 2015.

LOCK, M. A.; WALLACE, R. R.; COSTERTON, J. W.; VENTULLO, R. M.; CHARLTON, S. E. River epilithon: toward a structural-functional model. **Oikos**, v. 42, n. 1, p. 10-22, 1984.

LOPES, C. F. **Monitoramento das populações de *Chthamalus* spp. (Crustacea - Cirripedia) de costões da área do Canal de São Sebastião - SP:** Instrumento para a avaliação dos efeitos biológicos provocados por um derrame de petróleo. 1997. 134 f. Disertación (Maestría em Zoología) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1997.

LOPES, P. P.; AMARAL, A. C. Z.; MORGADO, E. H. Distribuição de anelídeos poliquetos da região entremarés da Enseada de Caraguatatuba, SP. *In*: Simposio sobre Oceanografía, 1, 1989, São Paulo. **Resúmenes...** São Paulo: IOUSP, p. 100-101, 1989.

LOPES, P. P. **Estrutura da comunidade de poliquetos da zona entremarés da Região do Araçá, São Sebastião (SP).** 1993. 112 f. Disertación (Maestría Ciencias Biologicas) - Instituto de Biologia, UNICAMP, 1993.

LOWE, R. L.; PAN, Y. Benthic algal communities as biological monitors. *In*: STEVENSON, R.J., BOTHWELL, M.L., LOWE, R.L. **Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems.** Academic Press, USA., p.705-739, 1996.

MAURI, R.; BOUDOU, A.; RIBEYERE, F.; ENGRAND, P. Experimental study between artificially contamination (CH3HgCl) and macrophytes *Elodea densa*. **Aquat. Toxicol.**, v. 12, p. 213-228, 1988.

MCCORMICK, P. V.; STEVENSON, R. J. Periphyton as a tool for ecological assessment and management in the Florida Everglades. **Journal of Phycology**, v. 34, n. 5, p. 726-733, 1998.

MERRITT, R. W.; CUMMINS, K. W.; RESH, V. H.; BATZER, D. P. Sampling Aquatic Insects: collection devices, statistical considerations, and rearing procedures. *In*: MERRITT, R. W.; CUMMINS, K. W.; BERG, M. B. (eds.). **An introduction to the aquatic insects of North America.** 4rd ed. Kendall/ Hurt. Publ. Co., p. 15-37, 2008.

MEYER, F. P.; BARCLAY, L. A. **Field manual for the investigation of fish kills**. Washington, DC: National Technical Information Service (NTIS), 1990.

MILANELLI, J. C. C. **Biomonitoramento de costões rochosos. Instrumento para avaliação de impactos gerados por vazamentos de óleo na região do Canal de São Sebastião – São Paulo.** 2003. 315 f. Tesis (Doctorado em Ciencias) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, 2003.

MILANELLI, J. C. C. **Efeitos do petróleo e da limpeza por jateamento em um costão rochoso da Praia de Barequeçaba, São Sebastião, SP.** 1994. 99 f. Disertación (Maestría em Oceanografía Biologica) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, 1994.

MONTEIRO, A. M. G. **A macrofauna do infralitoral superior das praias de Santos e São Vicente**. 1980. 127 f. Disertación (Maestría em Oceanografía Biologica) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1980.

MORGADO, E. H.; AMARAL, A. C. Z.; NONATO, E. F.; SALVADOR, L. B. Intertidal sandy beaches polychaetes of São Sebastião Island, Southern Brazil. **Mém. Mus. Hist. Nat. Paris,** v. 162, p. 485-492, 1994.

MUDROCH, A.; MACKNIGHT, S. D. **Techniques for aquatic sediments sampling**. 2nd ed. London: Lewis Publishers, 1994.

MUELLER, D.K.; SCHERTZ, T.L.; MARTIN, J.D.; SANDSTROM, M.W. **Design, analysis, and interpretation of field quality-control data for water-sampling projects.** U.S. Geological Survey Techniques and Methods, book 4, chap. C4, 2015. http://dx.doi.org/10.3133/tm4C4.

NEGRÃO, P. A utilização de sistemas dedicados de baixa vazão para coleta de amostras de água subterrâneas aumenta a precisão da amostra, reduz os custos do monitoramento em até 50% e o volume de descarte 90%. **Clean News**, Clean. Environment Brasil, n. 4, 1997.

NEGRÃO, P. C. M.; KAMINSKI, D. Low-Flow/Low-Volume Purging and Sampling of Ground-Water Monitoring Wells – Performance and Application Criteria**. Anales del XXV IAH Congress of the International Association of Hydrogeologists**, Lisboa, 17-21 September 2007.

NOAA - National, Oceanic and Atmospheric Administration. **Guidelines for collecting high priority ephemeral data for oil spills in the Arctic in support of Natural Resource Damage Assessments**, 2014. Disponible en: https://response.restoration.noaa.gov/sites/default/files/NOAA-guidelines-ephemeral-data-collection_Arctic_December2014.pdf. Acceso el: 05 abr. 2023.

O'SULLIVAN, P. E.; REYNOLDS, C. S. (eds.). **The Lakes Handbook:** Limnology and limnetic ecology. Oxford: Blackwell Publ., 2004.

OLIVEIRA, A. T. R.; RIBEIRO DE SOUZA, R. C.; BEYRUTH, Z. Adaptações metodológicas para utilização de diatomáceas perifíticas no monitoramento de rios do Estado de São Paulo. *In*: Workshop Nacional Algas Bioindicadoras de la Calidad del Agua. Santa Cruz do Sul, RS, 5 a 7 de outubro de 2003. **Resúmenes...**, p. 16, 2003.

OMORI, M.; IKEDA, T. **Methods in marine zooplankton ecology**. New York: John Wiley & Sons, 1984.

PARDO, E. V.; MORGADO, E. H. Grupos tróficos de poliquetos de praias arenosas da Ilha de São Sebastião (SP). *In*: Simposio de Posgrado y Investigación en Ciencias Biológicas, 3., 1993, Atibaia. **Resúmenes**... Atibaia: UNESP, p. 146, 1993.

PARDO, E. V.; REIS, M. O.; SALVADOR, L. B.; MORGADO, E. H.; AMARAL, A. C. Z.; LIMA, L. H. Heterogeneidade ambiental e distribuição da macrofauna bêntica de praias da ilha de São Sebastião (SP). *In*: Congreso Brasileño de Zoología, 20, Rio de Janeiro. **Resúmenes**... Rio de Janeiro: UFRJ, 1994.

PINTO, K. C. **Avaliação sanitária das águas e areias de praias da Baixada Santista, SP**. 2010. 239 f. Disertación (Mastría em Salud Pública) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, 2010.

PINTO-COELHO, R. M. Métodos de coleta, preservação, contagem e determinação de biomassa em zooplâncton de águas epicontinentais. *In*: BICUDO, C. E. DE M.; C. DE C. BICUDO (orgs.). **Amostragem em Limnologia**, p.149-167. São Carlos: RIMa, 2004.

POMPÊO, M. L. M.; MOSCHINI-CARLOS, V. **Macrófitas Aquáticas e Perifíton. Aspectos Ecológicos e Metodológicos.** São Paulo: RIMa/FAPESP, p. 63-124, 2003.

POTT, V. J.; POTT, A. Dinâmica da Vegetação Aquática do Pantanal. *In*: THOMAZ, S. M. & BINI, L. M. **Ecología e manejo de macrófitas aquáticas.** Maringá: EDUEM, p. 163-169, 2003.

RAMSEY, M. H. Sampling as a source of measurement uncertainty: techniques for quantification and comparison with analytical sources. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 13, p. 97-104, 1998.

RAMSEY, M. H.; ELLISON, S. L. R; ROSTRON, P. (eds.). **Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches** (Eurachem/ EUROLAB, CITAC/ NordtesT/ AMC Guide). 2nd ed. Eurachem, 2019. Disponible en: https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/UfS_2019_EN_P2.pdf. Acceso el: 10 mai. 2023.

REID, J. W. Técnicas taxonômicas para copépodes. **Limnotemas,** n. 1. Sociedade Brasileira de Limnologia, 1999.

REIS, M. O.; MORGADO, E. H.; AMARAL, A. C. Z.; LIMA, L. H. Distribuição e variação temporal da macrofauna bêntica de poliquetos de praias da ilha de São Sebastião (SP). *In*: Minisimposio de Biología Marina, 9, São Sebastião. **Resúmenes**... São Sebastião: CEBIMar - USP, p.28, 1994.

RIBEIRO DE SOUZA, R. C.; AGUJARO, L. F.; OLIVEIRA, A. T. R. A. **Perspectivas para o uso da comunidade perifítica em monitoramento de rios do Estado de São Paulo**. *In*: Congreso Brasileño de Limnología, Juiz de Fora, MG, 2003.

RIMET, F.; BOUCHEZ, A. Use of diatom life-forms and ecological guilds to assess pesticide contamination in rivers: lotic mesocosm approaches. **Ecological Indicators**, v. 11, n. 2, p. 489-499, 2011.

RODRIGUES, D. G.; ZANINI, M. E. B; HADEL, V. F.; TIAGO, C. G. Organismos da meiofauna de praia arenosa como indicadores de poluição. *In*: Minisimpósio de Biología Marina, 5, São Sebastião. **Resúmenes**... São Sebastião: CEBIMar - USP, p. 14, 1986.

RODRIGUES, L.; BICUDO, D. D. C. Similarity among periphyton algal communities in a lentic-lotic gradient of the upper Paraná river floodplain, Brazil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 24, p. 235-248, 2001.

RODRIGUES, L.; BICUDO, D. C.; MOSCHINI-CARLOS, V. **O papel do perifíton em áreas alagáveis e nos diagnósticos ambientais**. Ecología e manejo de macrófitas aquáticas. Maringá: Eduem, p. 211-230, 2003.

ROSA FILHO, J. S.; CORTE, G. N.; FABRICIO MARIA, T.; COLLING, L. A.; DENADAI, M. R.; ROSA, L. C.; BORZONE, C. A.; ALMEIDA, T. C. M.; ZALMON, I. R.; OMENA, E.; VELOSO, V.; AMARAL, A. C. Z. Monitoramento de longo prazo da macrofauna bentônica entremarés de praias arenosas. *In*: TURRA, A.; DENADAI, MR. (orgs.). **Protocolos para o monitoramento de habitats bentônicos costeiros – Rede de Monitoramento de Habitat Bentônicos Costeiros – ReBentos [online]**. São Paulo: Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, p. 194-208, 2015. ISBN 978-85-98729-25-1.

SALOMONS, W.; STIGLIANI, W. M. (eds.). **Biogeodynamics of Pollutants in Soils and Sediments: Risk Assessment of Delayed and Non-Linear Responses**. Heidelberg: Springer-Verlag, 2015.

SALVADOR, L. B.; AMARAL, A. C. Z.; MORGADO, E. H. Zonação da malacofauna em praias da ilha de São Sebastião (SP- Brasil). *In*: Congreso Latinoamericano de Ciencias Del Mar, 6, Mar del Plata. **Resúmenes**... Mar del Plata. Argentina, p. 176, 1995.

SANTOS, I.; FILL, H. D.; SUGAI, M. R. V. B.; BUBA, H.; KISHI, R. T.; MARONE, E.; LAUTERT, L. F. **Hidrometria aplicada**. Curitiba: Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento, 2001.

SCHWARZBOLD, A.; BURLIGA, A. L.; TORGAN, L. C. **Ecología do Perifíton**. Editora Rima, 2013.

SEIDEL, K. Purification of water by means of higher plants. **Naturwissenschaften**, v. 53, p. 289-297, 1966.

SHIMIZU, R. M. **A comunidade de macroinvertebrados da região entre marés da Praia de Barequeçaba, São Sebastião, SP**. 1991. 72 f. Disertación (Maestría em Ecología) - Instituto de Biociências, USP, 1991.

SHIMIZU, R. M. Macrofauna na Praia de Barequeçaba, São Sebastião, SP. *In*: Reunião Anual da S.B.P.C., 44, 1992, São Paulo. **Resúmenes**... **Ciência e Cultura**, v. 44, p. 825, 1992, supl.

SHIMIZU, R. M. Influência de um derramamento de óleo sobre a população de *Scolelepis squamata* (Muller) da Praia de Barequeçaba, São Sebastião, SP (Polychaeta: Spionidae). *In*: Congreso Brasileño de Ecología, 2, Londrina. **Resúmenes**... Londrina, UEL, p. 395, 1994.

SLÁDECKOVÁ, A. Limnological Investigation Methods for the Periphyton (Aufwuchs) Community. **Bot. Rev.**, v. 28, n. 2, p. 286-350, 1962.

STRUB, M. P.; LEPOT, B.; MORIN, A. Metrological aspects of collaborative field trials, including coping with unexpected events. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 2, p. 246-261, 2009.

THOMPSON, M. What is uncertainty from sampling, and why is it important? **AMC Technical Briefs:** background paper, Cambridge, UK, AMCTB n. 16A, July 2008. Files Sampling. ISSN 1757-5958.

THOMPSON, M. The importance, for regulation, of uncertainty from sampling. **Technical Briefs of the Analytical Method Committee**, AMCTB 42, Royal Society of Chemistry, 2009.

TRYGONIS, V.; SINI, M. photoQuad: a dedicated seabed image processing software, and a comparative error analysis of four photoquadrat methods. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 424-425, p. 99-108, 2012. doi:10.1016/j.jembe.2012.04.018.

UNESCO - United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization. Zooplankton sampling. *In*: Tranter, D. J. (coord.). **Monographs of Oceanographic Methodology 2.** Paris: UNESCO, 1968.

USEPA - U.S. Environmental Protection Agency. **Guidance for Assessing Chemical Contaminant Data for Use in Fish. Data for Use in Fish Advisories Volume 1: Fish Sampling and Analysis.** EPA 823-B-00-007. Office of Water (4305), Third Edition, November 2000.

USEPA - U.S. Environmental Protection Agency. **Quality control tools factsheet for blanks:** region III. Rev. 1. Washington, DC: EPA, 2009. Disponible en: https://19january2017snapshot.epa.gov/quality/quality-control-tools-fact-sheet-blanks_.html. Acceso el: 12 mayo 2023.

USEPA - U.S. Environmental Protection Agency. **Guidelines Establishing Test Procedures for the Analysis of Pollutants Under the Clean Water Act; Analysis and Sampling Procedures; Final Rule.** Federal Register 77, n° 97, p. 29807, 2012.

USEPA - U.S. Environmental Protection Agency. **Test methods for evaluating solid waste. Physical/Chemical Methods (SW 846) – 4 – Organic analytes**, 2018.

VADEBONCOEUR, Y.; LODGE, D. M.; CARPENTER, S. R. Whole lake fertilization effects on distribution of primary production between benthic and pelagic habitats. **Ecology**, v. 82, n. 4, p. 1065-1077, 2001.

VADEBONCOEUR, Y.; KALFF, J.; CHRISTOFFERSEN, K.; JEPPESEN, E. Substratum as a driver of variation in periphyton chlorophyll and productivity in lakes. **Journal of the North American Benthological Society**, v. 25, n. 2, p. 379-392, 2006.

VIM. Vocabulário Internacional de Metrologia. **Conceitos fundamentais e gerais e termos associados (VIM 2012)**. Duque de Caxias, RJ: INMETRO, 2012.

VIS, C. **L'Influence de la qualité physico-chimique des eaux de Saint-Laurent sur le périphyton**. M.Sc. Thesis, Univ. de Montréal, Canadá, 1997.

WEI, Y.; JIAO, Y.; AN, D.; LI, D.; LI, W.; WEI, Q. Review of dissolved oxygen detection technology: From laboratory analysis to online intelligent detection. **Sensors**, v. 19, n. 18, p. 3995, 2019. Disponible en: https://doi.org/10.3390/s19183995. Acceso el: 02 mayo 2023.

WETZEL, R. G. (ed.) Periphyton of Freshwater Ecosystems. The Hague: Dr. W. Junk. **Developments of Hidrobiology**, v. 17, 1983.

WETZEL, R. G. **Limnology**. New York: Academic Press, 2001.

WHO - World Health Organization. **Guidelines for Drinking Water Quality.** First Addendum to Third Edition. Volume 1. Recommendations. 2006. Disponible en: www.who.it. Acceso el: 28 dez. 2021.

WHO – World Health Organization. **Guidelines for Drinking Water Quality.** Fourth edition incorporating the first and second addenda. Geneva: World Health Organization, 2022.

WOLFBEIS, O. S. Luminescent sensing and imaging of oxygen: Fierce competition to the Clark electrode. **Bioassays**, v. 37, p. 921-928, 2015.

WU, Y.; XIA, L.; YU, Z.; SHABBIR, S.; KERR, P. G. In situ bioremediation of surface waters by periphytons**. Bioresource technology**, v. 151, p. 367-372, 2014.

GLOSARIO

ADSORCIÓN – Adherencia de moléculas a una superficie o de partículas sólidas por medios físicos, sin que implique interacción química.

AGUA BRUTA – Agua que no ha sufrido ningún tipo de tratamiento simplificado o convencional (*in natura*), procedente de ríos, represas, lagos, pozo de agua subterránea, manantial, estuario, mar, etc.

AGUA REACTIVA – Agua libre de los analitos de interés.

AGUA INDUSTRIAL – Agua utilizada exclusivamente en procesamiento industrial, como materia prima o parte del sistema productivo.

AGUA PLUVIAL – Agua procedente de precipitaciones atmosféricas. Lo mismo que el agua meteórica y el agua de lluvia.

AGUA RESIDUAL – Desechos o residuos líquidos provenientes de actividades domésticas (efluentes domésticos), industriales (efluentes industriales), comerciales, agrícolas y otras, así como sistemas de tratamiento de disposición de residuos sólidos.

AGUA SUBTERRÁNEA – Agua subterránea que ocupa la zona saturada; en sentido general, toda el agua situada bajo la superficie del suelo.

AGUA TRATADA – Agua destinada al consumo humano, sometida a algún tipo de tratamiento convencional (ETA – Estación de Tratamiento de Agua) o simplificado (filtración, cloración, fluoración, etc.).

ALÓCTONA – Que no es originario de la región.

AMBIENTACIÓN DEL EQUIPO – Enjuague de un equipo de toma de muestras con agua del lugar de muestreo.

MUESTRA – Una o más porciones, con volumen o masa definida, tomadas en cuerpos receptores, efluentes industriales, redes públicas de abastecimiento, estaciones de tratamiento de agua y alcantarillado,

ríos, represas y otros, con el fin de inferir las características físicas, químicas, fisicoquímicas y biológicas del medio ambiente del que fue retirada.

MUESTRA SIMPLE/PUNTUAL – provenientes de toma(s) de muestras de un lugar específico en un corto período de tiempo.

MUESTRA COMPUESTA – Muestra que se puede obtener a partir de: (a) muestreo en función del tiempo (temporal); b) muestreo en función del flujo; (c) muestreo dependiendo de la profundidad del lugar donde se realizará la toma de muestras; d) muestreo basado en el margen o distancia entre un punto de muestreo y otro (espacial). Cuando el objetivo de un programa es evaluar concentraciones promedio de una determinada variable, es posible, en algunos casos, reducir el número de muestras requeridas para el ensayo, obteniendo una muestra compuesta, formada mezclando porciones individuales apropiadas (muestras simples). Después de mezclar las diferentes porciones, el producto final es una única muestra (muestra compuesta).

MUESTREO – Actividad que consiste en tomar una fracción representativa (muestra) de una región (agua, suelo, efluentes, entre otros) para fines de ensayos.

MUESTREO EN RÉPLICA – Procedimiento en el que se toman dos o más muestras en un mismo punto, de forma independiente.

MUESTREO PROPORCIONAL AL CAUDAL – Técnica diseñada para obtener una muestra compuesta, en la que la frecuencia de toma o volumen de muestra es directamente proporcional al caudal de agua o efluente.

ACUÍFERO – Cualquier formación geológica capaz de almacenar y transmitir agua en cantidades considerables.

RELLENO SANITARIO – Método de disposición final de residuos sólidos (basura) en el suelo, sin causar daño al medio ambiente o a la salud pública.

AUTÓCTONO – Que se origina en el mismo lugar donde ocurre.

BALANCE HÍDRICO DE LA UNIDAD INDUSTRIAL – Relación entre las entradas y salidas de agua y efluentes de cada unidad de proceso industrial, indicando las fuentes de suministro, usos internos, pérdidas por evaporación o incorporación al proceso productivo, lavado de pisos y equipos, y efluentes generados por cualquier fuente industrial o doméstica.

BIOMASA – Sumatoria de la masa orgánica viva existente en un espacio determinado, en un momento determinado. Puede expresarse en peso húmedo o seco, por unidad de área o volumen.

BIOTA – Conjunto de plantas, animales y microorganismos de una región, provincia o área geográfica específica.

CARGA CONTAMINANTE – Cantidad de contaminante transportado o liberado en un cuerpo receptor.

MUESTREO DE AGUA SUPERFICIAL – Toma de muestras entre 0 y 30cm de la lámina de agua. Se puede tomar con un balde de acero inoxidable, batiscafo y botellas, o directamente del cuerpo de agua.

MUESTREO DE AGUA A PROFUNDIDAD – Toma de muestras a una profundidad superior a 30cm de la lámina de agua, normalmente hasta 1m por encima del fondo. Esta muestra debe tomarse obligatoriamente con la ayuda de equipos, como, por ejemplo, Botellas van Dorn.

DEPOSICIONAL – Zona de baja dinámica en ambientes de agua corriente, donde se deposita y acumula material no consolidado.

DRAGADO – Eliminación de material sólido del fondo de un medio acuático.

EFLUENTES INDUSTRIALES – Residuos líquidos de procesos industriales. En general, contiene contaminantes en diferentes formas, como, por ejemplo, de naturaleza química, que pueden suponer un peligro para la salud humana, daños a la fauna y la flora, lo que compromete el ocio, entre otros. Lo mismo que los residuos líquidos industriales, los desechos industriales y las aguas residuales industriales.

FLUJO SUPERFICIAL – Parte de la precipitación que fluye hacia un curso de agua a través de la superficie del suelo.

AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS – Residuos líquidos domésticos, resultantes del uso del agua en la cocina, inodoro, ducha, lavabo y lavandería doméstica. Lo mismo que los residuos líquidos domésticos y los desechos domésticos.

AGUAS RESIDUALES MIXTAS – Mezcla de residuos líquidos domésticos con residuos líquidos de procesos industriales, o de lavado de pisos y equipos pertenecientes al área industrial.

ESPECIE CLAVE – Aquella que controla la estructura de la comunidad.

ETA – Estación de Tratamiento de Agua.

EUTROFIZACIÓN – Proceso de enriquecimiento por nutrientes, principalmente nitrógeno y fósforo, que da como resultado un aumento de la biomasa vegetal (fitoplancton y plantas acuáticas). La eutrofización de las aguas continentales puede ser un proceso natural; sin embargo, la eliminación de efluentes domésticos y/o industriales y el lavado de suelos agrícolas que contienen muchos nutrientes (materia orgánica) acelera el proceso, provocando la llamada eutrofización artificial o antrópica. Los ambientes enriquecidos se denominan ambientes eutróficos.

EXACTITUD – Grado de concordancia entre un valor medido y un valor verdadero (referencia) de un mensurando.

FLORACIÓN – Multiplicación excesiva, generalmente de corta duración, de una o algunas especies de fitoplancton, que a menudo produce coloración visible en los cuerpos de agua.

DIAGRAMA DE FLUJO – Diagrama que demuestra las etapas de un proceso y sus interrelaciones.

FRASCO DOSIFICADOR – Piseta de polietileno con punta dosificadora utilizada para almacenar y dosificar soluciones conservantes agregadas a las muestras durante los muestreos de campo.

CEPILLO PINCEL – Cepillo con cerdas y punta de pincel, indicado para limpieza de cristalería; Lo mismo que un cepillo "cola de gato".

GRANULOMETRÍA – Proporciones relativas entre partículas de diferentes tamaños que componen suelos, sedimentos y agregados.

HÁBITAT – Ambiente donde normalmente vive un organismo y que ofrece un conjunto de condiciones (bióticas y abióticas) adecuadas para su supervivencia.

AGUAS ABAJO – Desde un punto de referencia, la dirección en la que van las aguas, en un curso de agua. Por ejemplo, ubicación del río, posterior a la descarga del efluente, teniendo en cuenta la dirección en la que fluyen las aguas (río abajo).

LÉNTICO – Medio acuático en el que el flujo de la masa de agua es lento, como en tanques, lagos o embalses.

LITORAL (zona) – Por el sistema limnológico, región de un lago que se extiende desde la costa hasta el límite superior de acción del oleaje.

LÓTICO – Ambiente acuático en el que la masa de agua se mueve rápidamente, como en ríos y rápidos.

MATERIAL BIOLÓGICO – Materias o líquidos de origen biológico, como pescado (entero o en partes), moluscos, sangre, orina, plantas, invertebrados, huesos y alimentos.

MATERIAL ORGÁNICO GRUESO – Fracción orgánica visible, incluidos trozos de madera, hojas, fibras vegetales, restos de animales, etc.

MENISCO – Superficie curva de un líquido contenido en un tubo estrecho.

MITIGACIÓN – Atenuación de un impacto.

AGUAS ARRIBA – Posición relativa de un lugar sobre otro. En un curso de agua, en relación con la corriente del río, "aguas arriba" significa río arriba; por ejemplo, una ubicación en el río antes de la liberación del efluente, teniendo en cuenta la dirección en la que fluye el agua.

PECILOTÉRMICOS – Organismos que no tienen mecanismos internos que regulen su temperatura corporal.

CONSERVACIÓN DE MUESTRAS – Adopción de medidas desde el momento de la toma y transporte de muestras, hasta el almacenamiento de las mismas, con el objetivo de reducir la reactividad o inhibir la actividad de los organismos, manteniendo al máximo posible las características de la muestra en el momento del muestreo. Los métodos de conservación de muestras incluyen refrigeración, congelación y adición de productos químicos cuando corresponda.

CONSERVACIÓN QUÍMICA – La adición de una solución o producto químico con el objetivo de minimizar la reactividad de compuestos y complejos químicos, reducir la volatilidad o precipitación de constituyentes y los efectos de adsorción o preservar organismos, evitando o minimizando cambios morfológicos o fisiológicos.

PROFUNDA (zona) – Área del fondo de un cuerpo de agua (lago, embalse). Por el sistema limnológico, región de un lago que se extiende desde el límite inferior de la termoclina hasta su mayor profundidad.

SEDIMENTO – Material procedente de la descomposición de cualquier tipo de roca, material en descomposición de origen biológico o residuos resultantes de la acción humana que se transporta y deposita en el fondo de cuerpos de agua.

SIZIGIA (marea) – Marea de gran amplitud que se produce cuando el sol y la luna están en sizigia, es decir, cuando se combina la atracción gravitacional del sol y la luna. Ocurre durante la luna llena y la luna nueva.

STAR (Sistema de Tratamiento de Aguas Residuales) – Conjunto de estructuras, dispositivos, instalaciones, equipos y aparatos diversos, de mayor o menor complejidad, utilizados para el tratamiento y eliminación de las aguas residuales y los lodos resultantes de este tratamiento. Similares a las ETE (Estaciones Tratamiento de Aguas Residuales).

SUBLITORAL (zona) – Región cuyo límite superior es el nivel alcanzado por la marea baja normal y cuyo límite inferior es el compatible con la vida de las fanerógamas marinas y las algas fotófilas; por el sistema limnológico, región de un lago que se extiende desde el límite inferior de la acción del oleaje hasta el límite superior de la termoclina; Región del fondo de un lago permanentemente cubierta por vegetación.

SUSTRATO – Aquello que sirve de fijación a los organismos (plantas o animales). Ej.: el sustrato de un alga epífita puede ser otra alga;

TERMOCLINA – Capa intermedia de un lago estratificado, donde hay una diferencia brusca de temperatura.

MUESTRA TRIPLICADA – Tres muestras tomadas de forma secuencial e independiente, en un corto período de tiempo o espacio, con el objetivo de una mejor representación del lugar muestreado.

CAUDAL – Volumen de fluido que pasa por una sección transversal de un flujo, por unidad de tiempo.

XENOBIÓTICO – Compuesto químico que no pertenece a ningún organismo o sistema biológico.

ZONA FÓTICA (EUFÓTICA) – Porción superior iluminada del cuerpo de agua, con luz suficiente para provocar la fotosíntesis de plantas y microorganismos acuáticos.

ZONACIÓN – Distribución de organismos en distintas áreas, capas o zonas.

APÉNDICES

APÉNDICE A – PROCEDIMIENTOS DE ALMACENAMIENTO Y PRESERVACIÓN DE MUESTRAS POR ENSAYO

A continuación, se enumeran recomendaciones e instrucciones sobre cómo acondicionar, conservar y almacenar muestras para realizar ensayos y otras precauciones que se deben tomar en el momento del muestreo.

> ***¡Importante!***
>
> A pesar de la información contenida en este Anexo, es imprescindible consultar al laboratorio responsable de los ensayos. Siempre que exista una divergencia entre las directrices descritas en esta Guía y las contenidas en los métodos de ensayo, prevalecerán los requisitos específicos de los métodos.

Las tablas contienen los siguientes detalles:

- Ensayo;
- La clase de muestra (A – muestra de agua tratada; B – muestra de agua bruta; C – muestra de aguas residual; D – muestras de suelo, sedimentos, yodo, material sólido de dragado, residuos sólidos y semisólidos en general; E – muestra de material biológico);
- El tipo de recipiente que se debe utilizar para contener la muestra tomada;
- La cantidad de muestra (el volumen o masa normalmente suficiente para realizar el ensayo);

- La conservación y el cuidado necesarios para garantizar la estabilidad de los constituyentes de la muestra;
- Almacenamiento (el procedimiento que se debe seguir para garantizar la validez hasta el momento del ensayo);
- La fecha de caducidad de la muestra (el tiempo máximo de conservación permitido para realizar el ensayo desde el momento del muestreo).

Los ensayos que utilicen el mismo tipo de frasco de almacenamiento y el mismo tipo de conservación se pueden enviar al laboratorio de análisis en un único recipiente y, en este Anexo, se agrupan en las mismas líneas que las siguientes tablas. Por ejemplo, los ensayos de aniones cloruro, fluoruro, nitrato, nitrito y sulfato.

Es importante resaltar la necesidad de mantenerse actualizado con los procedimientos de muestreo de los diferentes ensayos, consultando periódicamente la bibliografía reciente y los responsables técnicos de los laboratorios. Se puede obtener información adicional sobre el almacenamiento y la conservación de muestras en Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (Métodos Estándar para el Examen de Agua y Aguas Residuales) (APHA; AWWA; WEF), y en publicaciones de la *U. S. Environmental Protection Agency* (USEPA), entre otros.

Con carácter general, las fechas de caducidad establecidas para los análisis fisicoquímicos en las siguientes tablas son las fechas más restrictivas contenidas en las principales referencias metodológicas para el análisis de muestras ambientales.

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Acidez	A, B	P, VB	250 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	24 horas
Alcalinidad	A, B	P, V	250 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	24 horas
Cianuro total y Cianuro libre	A, B, C	P, V	250 mL	NaOH 10M hasta pH>12 Enfriamiento (en hielo) Mantener protegido de la luz	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	24 horas
Cianuro	D	PP (500 mL)	250 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días
Cloruro, Fluoruro, Nitrato, Nitrito, Orto-fosfato, Sulfato	A, B, C	P	250 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	Cloruro, Fluoruro y Sulfato: 28 días Nitrato, Nitrito y Orto-fosfato: 48 horas
Cloro residual total y libre (en campo)	A	-	-	-	-	Ensayo inmediato
Conductividad	A, B, C	P, V	250 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	28 días
Conductividad (en campo)	A, B, C	-	-	-	-	Ensayo inmediato
Color, Turbidez	A, B	P, V	250 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	48 horas

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Cromo hexavalente	A, B, C	P LE, V LE	250 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	24 horas
E_H (en campo)	B, C, D	-	-	-	-	Ensayo inmediato
Granulometría	D	PP (700 mL)	700 g (aproximadamente)	No requerida	Mantener protegido de la luz Temperatura ambiente	6 meses
Metales (excepto cromo hexavalente), Semimetales, Dureza y Fósforo	A, B, C	P LE, V LE	250 mL	Agregar HNO_3 1+1 hasta pH<2 Enfriamiento (en hielo)(5) **(6) (7)**	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	Metales, Arsénico, Selenio, Antimonio y Dureza: 6 meses Boro y Mercurio: 28 días Fósforo total: 28 días
Metales y semimetales	D	PP LE (500 mL)	250 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	6 meses
Metales disueltos Fósforo disuelto	A, B, C	P LE, V LE	100 mL	Enfriamiento (en hielo) **(3 (5)) (6) (7)**	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	6 meses
Oxígeno disuelto (Método Winkler)	A, B, C	VDBO	300 mL	1mL de sulfato manganoso + 1mL de azida sódica Sin enfriamiento	No requerido	8 horas
Oxígeno disuelto (en campo)	A, B, C	-	-	-	-	Ensayo inmediato
Metilmercurio	A, B, C	V Vial	40 mL	0,2 ml de HCl concentrado Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	6 meses

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Metilmercurio	D	PP (500 mL)	250 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	6 meses
Nitrógeno amoniacal, Nitrógeno orgánico, Nitrógeno Kjeldahl	A, B, C	P, V	250 mL	H_2SO_4 1+1 hasta pH < 2 Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días
Nitrógeno total	A, B, C	P, V	250 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	48 horas
fósforo total Nitrógeno total	D	PP (500 mL)	250 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	28 días
Olor	A, B	VDBO	300 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	6 horas 24 horas **(8)**
pH (en campo)	A, B, C, D	-	-	-	-	Ensayo en hasta 15 minutos
Salinidad	A, B, C	VDBO	300 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	6 meses
Salinidad (en campo)	B	-	-	-	-	Ensayo inmediato
Sólidos totales, Sólidos fijos, Sólidos volátiles	A, B, C	P, V	500 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días
Sólidos totales, Sólidos fijos, Sólidos volátiles, Humedad	D	PP (500 mL)	250 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Sólidos Sedimentables	A, B, C	P, V	1,5 L	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	48 horas
Sulfuro	A, B, C	VDBO	300 mL	Enfriamiento (en hielo) **(4)**	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días
Turbidez (en campo)	A, B, C	-	-	-	-	Ensayo inmediato

Tabla A.1. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos fisicoquímicos inorgánicos – Agua y Sedimento.

Leyenda: (1) Recipientes: **V** = Frasco de vidrio neutro; **VDBO** = Frasco tipo DBO (300mL), con tapa esmerilada; **LE** = Limpieza especial (véase el Capítulo 3); **P** = Frasco de plástico desechable (de polímero inerte); **PP** = Frasco de plástico desechable (de polímero inerte) tipo pote; **(2)** Desde el momento de la toma de muestras; **(3)** Filtrar en campo en una membrana de 0,45 mm y agregar HNO_3 (1+1) hasta pH<2; **(4)** Agregar 4 gotas de solución 2N de acetato de zinc/100mL de la muestra, esperar 15 minutos y agregar NaOH hasta pH entre 9 y 10; **(5)** Fósforo total/disuelto por colorimetría, conservar con H_2SO_4 1+1 hasta pH < 2 / Enfriamiento (en hielo); **(6)** Ensayos por ICP-OES; **(7)** Ensayos por ICP-MS, tomar muestras en dos tubos cónicos de 15 ml y conservar con HNO_3 ultrapuro hasta un pH <2 y refrigerar (hielo); **(8)** Plazo regulatorio máximo según APHA, AWWA, WEF, 24.ª ed., 2023.

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Agroquímicos fenoxiácidos clorados (2,4-D)	A	VA LE **(5)**	1 L	$Na_2S_2O_3$ **(9)** Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días
Agroquímicos fenoxiácidos clorados (2,4-D; 2,4,5-T; 2,4,5-TP)	B, C	VA LE **(5)**	1 L	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días
Agroquímicos organoclorados / PCB (Bifenilos policlorados)	A	VA LE **(5)**	1 L	$Na_2S_2O_3$ (9) Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días
Plaguicidas organoclorados / PCB	B, C	VA LE **(5)**	1 L	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días
Plaguicidas organoclorados / PCB	D	PVA **(5)**	100 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	14 días
Plaguicidas organofosforados	A	VA LE **(5)**	1 L	$Na_2S_2O_3$ **(9)** Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días
Plaguicidas organofosforados	B, C	VA LE **(5)**	1 L	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días
Carbono orgánico total (COT) / Carbono orgánico disuelto (COD) (10)	A, B, C	Va	100 mL	HCl, H_3PO_4 o H_2SO_4 1+1 hasta pH≤2 Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días 28 días **(6)**

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
COT	D	PVA **(3)**	100 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días 28 días **(6)**
Compuestos orgánicos volátiles (COV) aromáticos (BTEXE)	A	V *Vial* LE **(4)**	40 mL	$Na_2S_2O_3$ (9) Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	14 días
COV aromáticos (BTEXE)	B, C	V *Vial* LE **(4)**	40 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	14 días
COV aromáticos (BTEXE)	D	PVA **(3)** **(4)**	100 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	14 días
COV halogenados (SH)	A	V *Vial* LE **(4)**	40 mL	$Na_2S_2O_3$ **(9)** Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	14 días
COV halogenados (SH)	B, C	V *Vial* LE **(4)**	40 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	14 días
COV halogenados (SH)	D	PVA **(3)** 100 mL **(4)**	100 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	14 días
COV barrido	A	V *Vial* LE **(4)**	40 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	14 días
COV barrido	B, C	V *Vial* LE **(4)**	40 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	14 días

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
COV barrido	D	PVA **(3)** 100 mL **(4)**	100 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	14 días
DBO (demanda bioquímica de oxígeno)	A, B, C	P, V	500 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	6 horas 48 horas **(6)**
DQO (demanda química de oxígeno)	A, B, C	P, V	100 mL	H_2SO_4 1+1 hasta pH≤2 Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días 28 días **(6)**
Dioxinas y furanos/ dl-PCB	D	PVA	100 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación Congelación ≤ -10°C	30 días 1 año
Fenoles por cromatografía (Pentaclorofenol /2,4,6-Triclorofenol)	A	VA LE **(5)**	1 L	$Na_2S_2O_3$ **(9)** Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días
Fenoles por cromatografía (Pentaclorofenol /2,4,6-Triclorofenol)	B, C	VA LE **(5)**	1 L	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días
Fenoles por cromatografía (Pentaclorofenol /2,4,6-Triclorofenol)	D	PVA **(5)** (100 mL)	100 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	14 días
Fenoles totales (índice de fenoles)	A, B, C	VA BE	500 mL	H_2SO_4 1+1 hasta pH≤2 Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	21 días **(6) (7)**

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Fenoles totales (índice de fenoles)	D	PVA	100 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	28 días
Aceites y Grasas totales	A, B, C	VA BL **(3)**	1 L	HCl 1+1 hasta pH≤2 Enfriamiento (en hielo)	R Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	28 días
Aceites y Grasas totales	D	PVA	100 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	28 días
HAP (Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos) / Benzo(a) Pireno	A	VA LE **(5)**	1 L	$Na_2S_2O_3$ **(9)** Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días
HAP / Benzo(a) Pireno	B, C	VA LE **(5)**	1 L	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días
HAP / Benzo(a) Pireno	D	PVA **(5)**	100 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	14 días
PBDE/PBB	A, B, C	VA LE	1 L	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	1 año
PBDE/PBB	D	PVA	100 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	1 año
PFAS	A, B, C	HDPE (o PEAD)	500 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación Congelación ≤ -20°C	28 días 90 días

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Surfactantes aniónicos (MBAS)	A, B	P	250 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	48 horas
THMFP (potencial de formación de THM)	B	VA BE	3 frascos de 1 L	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	**(7)**
Trihalometanos (THM)	A	V *Vial* LE **(4)**	40 mL **(8)**	$Na_2S_2O_3$ **(9)** Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	14 días
Trihalometanos (THM)	B	V *Vial* LE **(4)**	40 mL **(8)**	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	14 días

Tabla A.2. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de compuestos químicos orgánicos – Agua y Sedimento.
Leyenda: (1) Recipientes: VDBO = Frasco tipo DBO (300mL), con tapa esmerilada; **BE** = Boca estrecha; **BL** = Boca ancha; **LE** = Limpieza especial (véase el Capítulo 3); **P** = Frasco plástico desechable (de polímero inerte); **HDPE (o PEAD)**: frasco de polietileno de alta densidad; **PVA** = Frasco de vidrio ámbar tipo pote; **THM** = Lavado especial para uso en análisis de THMFP (potencial de formación de THM); **Va** = Frasco de vidrio de color ámbar; **V *Vial*** = Frasco de vidrio color ámbar, de borosilicato, con capacidad de 40mL (tipo *Vial*), con tapa de rosca con septo de teflón; **(2)** A partir del momento de la toma de muestras; **(3)** Con tapa de rosca con septo de teflón; **(4)** Los frascos deben estar completamente llenos con la muestra, para evitar la presencia de aire; **(5)** Con tapa de rosca con septo de teflón o papel de aluminio entre el frasco y la tapa; **(6)** Plazo regulatorio máximo según APHA; AWWA; WEF, 24.ª ed., 2023; **(7)** Analizar lo antes posible; **(8)** Tomar muestras en 2 (dos) frascos; **(9)** 50mg de $Na_2S_2O_3$ por 1L de muestra y 3mg en 60ml para análisis de THMFP; **(10)** Para COD, filtrar en campo utilizando un filtro de 0,45 µm antes de conservar o enviar al laboratorio sin conservación para realizar ensayo dentro de 48 horas.

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación (2)	Almacenamiento	Plazo de Validez (3)
Cianobacterias (muestra viva)	B	VA	1 L	Enfriamiento (en hielo) y evitar la congelación **(5)** y proteger de la luz	Refrigeración entre 2°C y 8°C **(8)** y mantener protegido de la luz	24 horas
Cianobacterias (cualitativa)	B	VA	1 L	Formol, lugol	Formol – a temperatura ambiente y en un lugar ventilado (si es posible) Lugol – mantener protegido de la luz	Formol – 5 años Lugol – 1 año **(7)**
Cianobacterias (cuantitativa)	B	VA	1 L	Lugol (ideal), formol	Formol – a temperatura ambiente y en un lugar ventilado (si es posible) Lugol – mantener protegido de la luz	Formol – 5 años Lugol – 1 año **(7)**
Microcistinas, Saxitoxina y Cilindrospermopsina (ELISA) (4)	A, B	VA	1 L	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	24 horas **(5)**
Cianotoxinas (LC-MS/MS) (6)	A, B	VA (boca ancha)	1 L	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	48 horas

Tabla A.3. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de cianobacterias y cianotoxinas.

Leyenda: (1) Recipiente: VA = Frasco de vidrio color ámbar; **(2)** A preservación química necesaria se agrega al recipiente en el momento de su preparación (véase el capítulo 3); **(3)** A partir del momento de la toma de muestras; **(4)** *Enzyme Linked Immuno Assay*; **(5)** La muestra podrá mantenerse a -20°C durante un tiempo no definido en la literatura. Sin embargo, la congelación da como resultado la determinación total de la(s) cianotoxina(s) analizada(s), ya que conduce a la ruptura celular. Si el objetivo es verificar la cantidad de cianotoxinas libres en la muestra, no se permite la congelación; **(6)** Cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas; **(7)** En el caso del lugol, es necesario sustituir el conservante si la muestra se va a almacenar durante más de 1 año; (8) Evitar el contacto entre el frasco y el hielo, ya que algunas cianobacterias se dañan a bajas temperaturas, como las del género *Raphidiopsis*.

Tipo de Ensayo/Organismo de prueba	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento (4)	Plazo de Validez (2)
Toxicidad aguda *Daphnia similis*	B, C	P VA **(6)**	1 L	Enfriamiento (en hielo)	Enfriamiento (en hielo) Refrigeración < 10 °C, sin congelación Congelación < -10 °C hasta 36 horas después del muestreo (Clase C) (5) hasta 48 horas después del muestreo (Clase B)	12 horas 48 horas (Clase B) 36 horas (Clase C) 60 días
Toxicidad Crónica *Ceriodafnia dubia*	B, C	P VA **(6)**	1 L (Clase B) 2 L (Clase C)	Enfriamiento (en hielo)	Enfriamiento (en hielo) Refrigeración < 10 °C, sin congelación Congelación a < -10 °C hasta 36 horas después del muestreo (Clase C) **(5)** hasta 48 horas después del muestreo (Clase B)	12 horas 48 horas (Clase B) 36 horas (Clase C) 60 días
Toxicidad *Hyalella azteca*	D	PP	1 kg (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración < 10 °C, sin congelación	60 días
Toxicidad aguda *Mysidopsis juniae*	B, C	P VA **(6)**	2 L	Enfriamiento (en hielo)	Enfriamiento (en hielo) Refrigeración < 10 °C, sin congelación	12 horas 48 horas (Clase B) 36 horas (Clase C)
					Congelación < -10 °C hasta 36 horas después del muestreo (Clase C) **(5)** hasta 48 horas después del muestreo (Clase B)	60 días

Tipo de Ensayo/Organismo de prueba	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento (4)	Plazo de Validez (2)
Toxicidad crónica Erizo del mar	B, C	P VA	2 L	Enfriamiento (en hielo)	Enfriamiento (en hielo) Refrigeración < 10 °C, sin congelación	12 horas 48 horas (Clase B) 36 horas (Clase C)
					Congelación a < -10 °C hasta 48 horas después del muestreo	60 días
Toxicidad crónica Erizo de mar / Anfípodos marinos	D	PP (700 mL)	1 kg (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración < 10 °C, sin congelación	60 días

Tabla A.4. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos ecotoxicológicos con organismos acuáticos – Agua y Sedimento.
Leyenda: (1) Recipientes: P = Frasco de plástico desechable (de polímero inerte); PP = Frasco de plástico desechable (de polímero inerte), tipo pote o bolsa de plástico; VA = Frasco de vidrio color ámbar; **(2)** Desde el momento de la toma de muestras; **(3)** Los frascos deben estar completamente llenos con la muestra, para evitar la presencia de aire; **(4)** Al almacenar por congelación, si la muestra se toma en un frasco VA, el volumen muestreado debe transferirse al frasco P, dejando espacio en el frasco que permita congelar la muestra sin dañar el frasco de muestreo. No se recomienda congelar muestras en frascos VA; **(5)** Cuando no se sepa que la congelación interfiere con la muestra, se debe evitar la opción de congelación. Los componentes de los residuos sólidos encontrados en los efluentes (filtrables y no filtrables) cambian con la congelación y descongelación (ABNT NBR 15469, 2021); **(6)** Utilizar un frasco de vidrio para muestras de agua superficial o efluentes donde se sospeche la presencia de compuestos orgánicos, como agroquímicos y aceites.
NOTA: El volumen sugerido corresponde al volumen mínimo para la realización de 01 ensayo (ABNT NBR 15469, 2021).

Ensayo/Organismo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra (3)	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Toxicidad aguda / *Vibrio fischeri*	A, B, C	P PIP	30 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración < 10°C, sin congelación	48 horas
					Congelación < -10°C	60 días
Toxicidad aguda / *Vibrio fischeri*	D	PP	500 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración < 10°C, sin congelación	60 días

Tabla A.5. Almacenamiento y conservación de muestras para pruebas de toxicidad aguda con bacterias luminiscentes *Vibrio fischeri* (Microtox®) – Agua y Sedimento.
Leyenda: (1) Recipientes: P PIP = Frasco de plástico desechable (de polímero inerte), con sistema de cierre de bloqueo y sellado; **PP =** Frasco de plástico desechable (de polímero inerte) tipo pote; **(2)** Desde el momento de la toma de muestras; **(3)** Los frascos deben estar completamente llenos con la muestra, para evitar la presencia de aire.

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Mutagenicidad	A, B, C	VA LE	**(3)**	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración entre 2 y 8 °C	14 días **(5)** 40 días **(6)**
Mutagenicidad – muestra filtrada	A, B, C	VA LE	**(3)**	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración entre 2 y 8 °C	48 horas
Mutagenicidad	D	PP (500 mL)	>100 g (aproximadamente)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración entre 2 y 8 °C	14 días **(5)** 40 días **(6)**

Tabla A.6. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de mutagenicidad (*Salmonella*/microsoma) – Agua y Sedimento.

Leyenda: (1) Recipientes: LE = Limpieza especial (véase el Capítulo 3); **PP** = Frasco de plástico desechable (de polímero inerte) tipo pote; **VA** = Frasco de vidrio color ámbar; **(2)** A partir del momento de la toma de muestras; **(3)** 2L a 20L para agua bruta, 10L a 100L para agua tratada y 1L a 5L para aguas residuales (efluentes líquidos/efluentes domésticos o mezcla de ambos); **(4)** USEPA, 2012; **(5)** Del muestreo a la extracción orgánica; **(6)** Entre la extracción orgánica y el análisis biológico.

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra (2)	Preservación (3)	Almacenamiento	Plazo de Validez (4)
Indicadores bacterianos (5)	A, B (agua para consumo humano)	P, V, SP LE	250 a 500 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración < 10°C, sin congelación	30 horas **(R)** 24 horas **(AC)**
	B	P, V, SP LE	250 a 500 mL			8 horas **(R)** 24 horas **(AC)**
	C	P, V, SP LE	250 a 500 mL			24 horas **(R, AC)**
	D	PP, SP LE	500 g (aproximadamente)			24 horas

Indicadores virales (6)	A, B, C	P, V, SP LE	250 a 500 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración < 10°C, sin congelación	48 horas **(A, B)**
						24 horas **(C)**
	D	PP, SP LE	500 g (aproximadamente)			48 horas
Hongos – mohos y levaduras	A, B, C	P, V, SP LE	250 a 500 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración < 10°C, sin congelación	24 horas
	D	PP, SP LE	500 g (aproximadamente)			
Microorganismos patógenos (bacterias, virus, protozoos y helmintos) (7)	A, B, C	P, V, SP LE	1 a 1000 L **(8) (9)**	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración < 10°C, sin congelación	24 horas **(10)**
	D	PP, SP, LE	500 g **(8)**			
Bacterias de ciclos biogeoquímicos	A, B, C	P, V, SP LE **(11)**	250 a 500 mL	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración < 10°C, sin congelación	24 horas
	D	PP, SP LE	500 g (aproximadamente)			

Tabla A.7. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos microbiológicos – Agua y Sedimento.

Leyenda: (1) Recipiente: LE = Limpieza y preparación especial (véase el Capítulo 3); **P** = Frasco plástico desechable (de polímero inerte); **PP** = Frasco de plástico desechable (de polímero inerte) tipo pote; **V** = Frasco de vidrio neutro; **SP** = bolsas plásticas esterilizadas; **(2)** Recolectar volúmenes (o masas) suficientes de muestra para los análisis que se realizarán; **(3)** La preservación química requerida para las muestras de las clases A, B y C se agrega al recipiente en el momento de la preparación (véase el capítulo 3); **(4)** A partir del momento de la toma de muestras (R = plazo regulatorio, AC = análisis de control); **(5)** Coliformes totales, Coliformes termotolerantes, *E. coli*, Enterococos, *Clostridium perfringens*" y "*Pseudomonas aeruginosa*; bacterias heterotróficas – solo para agua para consumo humano; **(6)** Bacteriófagos somáticos y bacteriófagos F-específicos; **(7)** En muestras de agua clase B y C, el ensayo de bacterias patógenas se puede realizar con un hisopo (técnica de Moore), en medio de transporte Cary y Blair (ver capítulo 3), con una fecha de caducidad de 96 horas; **(8)** Muestrear volúmenes (o masas) compatibles con la contaminación de la muestra, es decir, cuanto mejor sea la calidad de la matriz, mayores deben ser los volúmenes o masas muestreados; **(9)** Se deben concentrar los grandes volúmenes en campo; **(10)** Para *Giardia* sp. y *Cryptosporidium* sp. la fecha de caducidad es de 72 horas; **(11)** Para microorganismos anaerobios estrictos, los frascos deben estar completamente llenos con la muestra, para evitar la presencia de aire (se requiere anaerobiosis); **(R)** Plazo reglamentario; **(AC)** Análisis para control..

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Clorofila *a* e Feofitina *a* (Filtrada en laboratorio)	B	VA BL	1 L **(3)**	Enfriamiento (en hielo) y proteger de la luz.	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación y protegida de la luz (4)	48 horas
Clorofila *a* e Feofitina *a* (Filtrada en campo)	B	VA BL	1 L **(3)**	Enfriamiento (en hielo) y proteger de la luz hasta la filtración.	**(5)**	28 días

Tabla A.8. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de clorofila *a* y feofitina *a* – Agua bruta.
Leyenda: (1) Recipientes: BL = Boca ancha; **VA** = Frasco de vidrio color ámbar; **(2)** Desde el momento de la toma de muestras; **(3)** El frasco no debe estar completamente lleno y cuando se solicite, las muestras deben tomarse por réplicas; **(4)** El frasco debe enviarse al laboratorio en refrigeración y protegido de la luz en un plazo de 48 horas. Si fuera imposible cumplir con este plazo, las muestras deberán filtrarse; **(5)** Después de la filtración, la membrana filtrante debe colocarse en un sobre de papel kraft, debidamente identificado. El sobre debe colocarse en un frasco (o desecador) que contenga gel de sílice, con el frasco envuelto en papel de aluminio para protegerlo de la luz. El frasco que contiene las muestras filtradas debe conservarse en un congelador y posteriormente enviarse, en refrigeración, al laboratorio donde debe almacenarse en -20ºC.

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Fitoplancton vivo	B	VA BL	1 L **(4)**	Enfriamiento (en hielo) **(5)** y proteger de la luz.	Refrigeración entre 2 ºC y 8 ºC **(5)** y mantener protegido de la luz.	24 horas
Fitoplancton fijado	B	V **(3)**, VA	100 mL	Formol (6) o Lugol **(7) (8)**	Mantener protegido de la luz	5 años **(6)** 1 año **(7) (9)**

Tabla A.9. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de fitoplancton – Agua.
Leyenda: (1) Recipientes: BL = Boca ancha; **V** = Frasco de vidrio neutro; **VA** = Frasco de vidrio color ámbar; **(2)** A partir del momento de la toma de muestras; **(3)** Para muestras fijadas con formol; **(4)** El frasco no debe estar completamente lleno; **(5)** Evitar el contacto entre el frasco y el hielo, ya que algunas cianobacterias se dañan con las bajas temperaturas, como las del género *Raphidiopsis*; **(6)** Formol neutralizado, hasta una concentración final del 5%; **(7)** Agregar lugol hasta obtener color coñac (0,3 mL a 0,5 mL/100 mL y en casos de floración 0,5 mL a 1,0 mL/100 mL); **(8)** Las muestras conservadas con formol o lugol deben envasarse y transportarse en una caja térmica separada de otros ensayos; **(9)** En el caso de Lugol, es necesaria la sustitución anual del conservante.

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Perifiton vivo	B	V	150 mL **(3)**	Enfriamiento y proteger de la luz	Refrigeración entre 4°C y 10°C y Mantener protegido de la luz	24 horas
Perifiton fijo				Formol **(4)** o Lugol **(5)**; solución Transeau (1:1)	Mantener protegido de la luz	Indeterminado (6)
				Congelación **(7)**	Mantener protegido de la luz	Indeterminado

Tabla A1.10. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de perifiton.
Leyenda: (1) Recipiente: V = Frasco de vidrio neutro; **(2)** A partir del momento de la toma de muestras; **(3)** El frasco no debe estar completamente lleno; **(4)** Concentración final de formol neutralizado al 4 % (o de 3 ml a 5 ml de Lugol para 1 L de muestra); **(5)** Las muestras conservadas con formol o lugol deben envasarse y transportarse en una caja térmica separada de otros ensayos; **(6)** En el caso de lugol, es necesario reemplazar el conservante si la muestra se va a almacenar por un período superior a 1 año; **(7)** Para análisis de biomasa, composición de diatomeas y abundancia semicuantitativa de taxones, como clorofitas y cianofitas (método práctico para conservar muestras grandes).

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Zooplancton vivo	B	P, V (250 mL; 500 mL)	100 L (mínimo para agua dulce) 1 m^3 (mínimo para agua marina)	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración entre 4 °C y 10 °C	24 horas
Zooplancton fijado				Formol **(3) (4)** o Etanol 70 a 95° GL **(5) (6)**	Mantenerse protegida de la luz **(7) (8)**	Indeterminado

Tabla A.11. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de zooplancton.
Leyenda: (1) Recipientes: P = Frasco de plástico desechable (de polímero inerte); **V =** Frasco de vidrio neutro; **(2)** Desde el momento de la toma de muestras; **(3)** En formol neutralizado y diluido al 10%; **(4)** Para el zooplancton de agua dulce, añadir agua carbonatada en una proporción de 1:20 (1 parte de agua carbonatada por 20 partes de muestra concentrada), esperar 15 minutos y fijar con formol neutralizado, con adición de sacarosa (concentración final: formol al 10%) (después de agregar formol, llenar con agua reactiva hasta el cuello del frasco); para el zooplancton marino, después de agregar formol, llenar con agua del lugar hasta el cuello del frasco; **(5)** Preferiblemente utilizar etanol a una concentración de 95 °GL en campo; **(6)** En muestras muy turbias, cuando corresponda, se sugiere agregar colorante Rosa de Bengala al 0,1% (en campo o en laboratorio); **(7)** Se recomienda utilizar un tapón ciego en la boca del frasco; **(8)** Las muestras conservadas deben envasarse y transportarse en una caja térmica, separada de otros ensayos.

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Macrófitos: Bioacumulación	E	SP	300 g por fracción a analizar	Enfriamiento (en hielo) Mantenerse protegida de la luz	Refrigeración entre 4 °C y 10 °C (2) Mantenerse protegida de la luz	Muestras frescas: 7 días Muestras secas y maceradas: 3 meses

Tabla A.12. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos con macrófitos.
Leyenda: (1) Recipiente: SP = Bolsas desechables de plástico reforzadas (de polímero inerte); **(2)** A partir del momento de la toma de muestras.

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1) (2)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (3)
Bentos de agua dulce (tomamuestras o sustrato artificial)	D	SP **(4)**	**(5)**	Formol **(7)**	Mantenerse protegida de la luz	Hasta el lavado: 48 horas Después del lavado y conservación: Indeterminado (7) (8)
	E		**(6)**	Enfriamiento (en hielo)	Congelación	Indeterminado
Bentos de agua dulce (delimitador o red manual)	D	PP **(2)**	**(5)**	Formol **(7)** o Alcohol 70 °GL	Mantenerse protegida de la luz	Indeterminado
	E		**(6)**	Enfriamiento (en hielo)	Congelación	Indeterminado
Bentos marinos: Costas rocosas	D, E	V, PP	Variable **(7)**	Formol **(9) (10)**	Mantenerse protegida de la luz	Indeterminado

Bentos marinos: Playa	D, E	SP **(4)**, V, PP (500 mL)	Volumen de 1 delimitador para cada nivel	Enfriamiento (en hielo) Mantenerse protegida de la luz	Refrigeración entre 4 °C y 10 °C y mantener protegido de la luz	Hasta el lavado: 24 horas **(11)** Después del lavado y preservación: Indeterminado **(9) (10)**
				Formol **(9) (10)**	Mantener protegido de la luz	Indeterminado
Bentos marinos: infralitoral	D, E	SP **(4),** V, PP	Volumen de 1 captura o 1 dragado	Enfriamiento (en hielo) Mantenerse protegida de la luz	Refrigeración entre 4 °C y 10 °C y mantener protegido de la luz	Hasta el lavado: 24 horas Después del lavado y preservación: Indeterminado **(9) (10)**
				Formol **(9) (10)**	Mantener protegido de la luz	Indeterminado

Tabla A.13. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos con bentos.
Leyenda: (1) Recipientes: PP = Frasco de plástico desechable (de polímero inerte) tipo pote; **SP =** Bolsas desechables de plástico reforzadas (de polímero inerte); **V =** Frasco de vidrio neutro; **(2)** Las muestras no lavadas en campo deben transferirse directamente a dos bolsas de plástico reforzadas, una dentro de la otra, y las bocas deben cerrarse firmemente de forma independiente; para acondicionar las muestras lavadas en campo, los recipientes más adecuados son los de polietileno, tipo *pote*, de 500 a 1000 mL; para acondicionar los organismos retenidos en los tamices y clasificados, utilizar potes de capacidad inferior y variable (50 mL a 100 mL); **(3)** Desde el momento de la toma de muestras; **(4)** Mantener la bolsa de plástico en un balde o caja hasta que se lave la muestra; **(5)** Volumen de 1 captura o 1 delimitador o 1 sustrato o 1 periodo de paso de red; **(6)** Depende del número de réplicas necesarias para el estudio; **(7)** Depende del número de niveles del transecto y de la necesidad de confirmar las identificaciones; **(8)** Formol neutralizado, hasta una concentración final del 5 al 10%; **(9)** Formol neutralizado, hasta una concentración final del 10%; **(10)** Las muestras conservadas con formol o lugol deben envasarse y transportarse en una caja térmica separada de otros ensayos; **(11)** Para evitar el shock osmótico, lavar preferiblemente en campo con agua del lugar.

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Comunidades/Mortalidad	E	SP, PA **(3)**	mínimo de 10 y máximo de 25 individuos de cada especie	Enfriamiento (en hielo) Mantenerse protegida de la luz	Refrigeración entre 4 ºC y 10 ºC (4)	24 horas
Metales		SP, PP			Congelación	Indeterminado
Orgánicos		PA **(3)**			Congelación	Indeterminado

Tabla A.14. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos de necton (peces).

Leyenda: (1) Recipientes: PA = Papel de aluminio para envolver muestras de pescados; **PP** = Frasco de plástico desechable (de polímero inerte), tipo pote; **SP** = Bolsa desechable de plástico reforzada (de polímero inerte) para envasado de muestras de pescados para evaluación de comunidades nectónicas, ensayos de metales pesados, ensayos biométricos y necroscópicos; **(2)** Desde el momento de la toma de muestras; **(3)** Solo para ensayos orgánicos; **(4)** En eventos de mortalidad, nunca congelar el pescado, simplemente enfriarlo en hielo.

Ensayo	Clase de Muestra	Recipiente (1)	Cantidad de Muestra	Preservación	Almacenamiento	Plazo de Validez (2)
Determinación de la actividad estrogénica (BLYES)	A, B, C	VA LE **(3)**	1 L	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días
Determinación de la actividad glucocorticoide (GR-CALUX®)	A, B, C	VA LE **(3)**	1 L	Enfriamiento (en hielo)	Refrigeración ≤ 6°C, sin congelación	7 días

Tabla A.15. Almacenamiento y conservación de muestras para ensayos bioanalíticos – Agua.
Leyenda: (1) Recipientes: **VA** = Frasco de vidrio color ámbar; **LE** = Limpieza especial (véase el Capítulo 3); **(2)** Desde el momento de la toma de muestras; **(3)** Con tapa de rosca con septo de teflón o papel de aluminio entre el frasco y la tapa.

APÉNDICE B – REFERENCIA DE LOS ENSAYOS REALIZADOS CON EFLUENTES INDUSTRIALES

La siguiente tabla muestra los ensayos que corresponden a diversas actividades industriales; sin embargo, esta tabla solo debe usarse como referencia, debiendo el técnico agregar, o no, otros ensayos basados en el estudio industrial y la inspección realizada *in situ*.

ENSAYOS	TIPOS DE INDUSTRIA															
	Mataderos y Frigoríficos	Azúcar y alcohol	Alimenticia	Amianto	Automóvil	Baterías	Bebidas	Gomas	Celulosa y Papel	Cereales	Componentes Electrodomésticos	Hormigón, Cemento, Cal y Yeso	Curtidurías	Estación de Tratamiento de Aguas Residuales	Fertilizantes	Fundición de hierro
Aluminio														x	x	
Amoniaco	x		x						x					x	x	
Arsénico											x				x	
Bario																
Boro															x	
Cadmio					x	x					x			x		
Plomo					x	x		x			x			x		x
Cianuro					x									x		
Cobre					x	x					x			x		
Coliformes fecales	x												x	x		
Coliformes Totales	x												x	x		
Cromo Hexa-valente					x						x					x
Cromo Total				x	x	x		x			x	x	x	x	x	x
DBO	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
DQO	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Estaño					x						x					
Fenoles					x				x					x		x
Hierro Soluble					x	x					x	x		x	x	x
Fluoruros											x				x	
Fosfatos	x		x	x		x	x		x			x		x	x	
Manganeso															x	x
Mercurio													x	x	x	

TIPOS DE INDUSTRIA																			
Galvanoplastia	Lácteos	Materiales Plásticos y Sintéticos	Metalúrgica	Minería	Muebles de Madera	Petroquímica y Refinería	Porcelana	Procesamiento de aluminio	Procesamiento de Cobre	Producción de Aceites Vegetales	Productos Farmacéuticos	Productos Inorgánicos	Productos Orgánicos	Siderurgia	Textiles	Verduras y Frutas Enlatadas	Vidrios y Cerámicas	Planta de Incineración de Residuos
			x					x										
						x				x	x		x	x				
					x							x			x			x
				x														
												x						
x		x	x									x	x	x	x		x	x
x		x	x			x	x		x			x	x	x	x		x	x
x		x	x					x				x	x	x	x		x	x
x		x				x		x	x				x		x		x	x
	x																	
	x																	
x			x															
x			x		x	x	x	x	x			x	x	x	x		x	x
x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x			x					x					x	x	x		x	x
		x	x	x		x		x					x	x	x		x	x
x			x			x	x	x	x			x	x	x	x		x	x
			x				x	x				x					x	x
x	x	x	x			x	x			x	x	x	x					x
x								x					x				x	x
x												x	x				x	x

ENSAYOS	TIPOS DE INDUSTRIA															
	Mataderos y Frigoríficos	Azúcar y alcohol	Alimenticia	Amianto	Automóvil	Baterías	Bebidas	Gomas	Celulosa y Papel	Cereales	Componentes Electrodomésticos	Hormigón, Cemento, Cal y Yeso	Curtidurías	Estación de Tratamiento de Aguas Residuales	Fertilizantes	Fundición de hierro
Níquel					x	x								x		x
Nitrógeno amoniacal	x		x		x		x		x				x	x	x	
Nitrógeno Nitrato	x		x		x		x		x				x	x	x	
Nitrógeno Nitrito	x		x		x		x		x				x	x	x	
Nitrógeno Orgánico	x		x		x		x		x				x	x	x	
Nitrógeno Total	x		x		x		x		x				x	x	x	
Aceites y Grasas	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
pH	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Plata																x
Residuos Sedimentables	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Selenio											x					
Serie de Residuos	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Solventes Aromáticos					x	x		x	x		x		x	x		
Solventes Halogenados					x	x		x	x		x		x	x		
Sulfatos				x	x	x		x	x			x	x	x	x	
Sulfuros						x		x	x			x	x	x	x	
Surfactantes	x	x			x	x	x	x	x				x	x		
Temperatura	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Zinc				x	x	x		x				x		x	x	x

Tabla B.1. Ensayos realizados en cada tipo de industria.

TIPOS DE INDUSTRIA																			
Galvanoplastia	Lácteos	Materiales Plásticos y Sintéticos	Metalúrgica	Minería	Muebles de Madera	Petroquímica y Refinería	Porcelana	Procesamiento de aluminio	Procesamiento de Cobre	Producción de Aceites Vegetales	Productos Farmacéuticos	Productos Inorgánicos	Productos Orgánicos	Siderurgia	Textiles	Verduras y Frutas Enlatadas	Vidrios y Cerámicas	Planta de Incineración de Residuos
x			x				x	x	x				x		x			
	x	x				x				x	x	x	x	x		x		
	x	x				x				x	x	x	x	x		x		
	x	x				x				x	x	x	x	x		x		
	x	x				x				x	x	x	x	x		x		
	x	x				x				x	x	x	x	x		x		
x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x		x															x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x		x	x		x	x	x				x		x		x			x
x		x	x		x	x	x				x		x		x			x
x		x				x		x				x		x	x		x	x
x						x						x		x	x			x
x	x					x									x			
x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x		x	x			x	x	x	x				x	x	x		x	x

APÉNDICE C – PREPARACIÓN DE SOLUCIONES Y REACTIVOS

1. MEDIOS DE TRANSPORTE DE CARY Y BLAIR (TÉCNICA DE MOORE)

Fórmula: 1,5 g de tioglicolato de sodio ($C_2H_3NaO_2S$), 1,1 g de fosfato de sodio dibásico anhidro (Na_2HPO_4), 5 g de cloruro de sodio (NaCl) y 5 g de agar.

- Pesar los ingredientes anteriores o pesarlos medio deshidratados (*Cary and Blair Transport Medium*) en la cantidad especificada por el fabricante y agregar 991 mL de agua destilada/purificada;
- Calentar en baño maría hirviendo, con agitación constante hasta su total disolución, manteniendo el medio durante 15 minutos más para esterilizarlo;
- Estabilizar el medio de cultivo a una temperatura de entre 50 y 55 °C al baño maría;
- Añadir, asépticamente, 9 mL de cloruro de calcio ($CaCl_2$) al 1%;
- Ajustar el pH final a 8,4 ± 0,2;
- Distribuir volúmenes de 300 mL en bolsas plásticas esterilizadas de 20 L;
- Cerrar las bolsas y etiquetar con el nombre del medio de cultivo, nombre del responsable de la preparación, fechas de preparación y caducidad y número de lote;
- Conservar en un refrigerador entre 2 y 8 °C;
- Caducidad de 15 días.

2. SOLUCIÓN DE ACETATO DE ZINC ($ZN(C_2H_3O_2)_2$) 2M

- Pesar 220 g de acetato de zinc en un beaker de 1 litro;
- Agregar aproximadamente 500 mL de agua destilada/purificada;
- Agitar hasta que se disuelva;
- Transferir a un matraz aforado de 1 L;
- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada.

3. SOLUCIÓN DE ÁCIDO CLORHÍDRICO (HCL) AL 10% (1+9)

- En un matraz aforado de 1 L, agregar aproximadamente 600 mL de agua destilada/purificada;
- Agregar lentamente 100 mL de ácido concentrado;
- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada.

4. SOLUCIÓN DE ÁCIDO CLORHÍDRICO (HCL) AL 50% (1+1)

- En un matraz aforado de 1 L, agregar aproximadamente 400 mL de agua destilada/purificada;
- Agregar lentamente 500 mL de ácido concentrado;
- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada.

5. SOLUCIÓN DE ÁCIDO NÍTRICO (HNO_3) 10% (1+9)

- En un matraz aforado de 1 L, agregar aproximadamente 600 mL de agua destilada/purificada;
- Agregar, lentamente, 100 mL de ácido nítrico concentrado;
- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada.

6. SOLUCIÓN DE ÁCIDO NÍTRICO (HNO_3) 50% (1+1)

- En un matraz aforado de 1 L, agregar aproximadamente 400 mL de agua destilada/purificada;
- Agregar, lentamente, 500 mL de ácido nítrico concentrado;
- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada.

7. SOLUCIÓN DE ÁCIDO SULFÚRICO (H_2SO_4) AL 50% (1+1)

- En un matraz aforado de 1 L, agregar aproximadamente 400 mL de agua destilada/purificada;
- Agregar lentamente 500 mL de ácido sulfúrico concentrado;
- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada.

8. SOLUCIÓN DE ÁCIDO SULFÚRICO (H_2SO_4) AL 10% (1+9)

- En un matraz aforado de 1 L, agregar aproximadamente 600 mL de agua destilada/purificada;
- Agregar lentamente 100 mL de ácido sulfúrico concentrado;
- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada.

9. SOLUCIÓN DE ÁCIDO SULFÚRICO (H_2SO_4) / ÁCIDO NÍTRICO (HNO_3) AL 10% (6+1)

- Mezclar 6 partes de solución de ácido sulfúrico al 10% y 1 parte de solución de ácido nítrico al 10%.

10. SOLUCIÓN ÁLCALI-YODURO-AZIDA

- En un matraz aforado de 1 L, disolver 500 g de hidróxido de sodio (NaOH) P.A. y 150 g de yoduro de potasio (KI) P.A. en agua destilada/purificada (en un baño de agua fría o hielo);
- Añadir 10 g de azida sódica (NaN**3**) disueltos en 40 mL de agua destilada/purificada;
- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada.

NOTA: En el caso de uso en ensayos de muestras de agua de mar, no es necesaria la adición de azida sódica.

11. SOLUCIÓN ALCOHOL 70º GL

- Diluir alcohol comercial 96º GL en agua destilada/purificada;
- Medir su grado continuamente con un alcoholímetro (según Gay-Lussac), hasta alcanzar los 70º GL.

12. SOLUCIÓN DE ALMIDÓN AL 2%

- Pesar por separado 2 g de almidón soluble en P.A. y 0,2 g de ácido salicílico en P.A.;
- Transferir a beaker de 200 mL. Agregar 10 mL de agua destilada/purificada y agitar hasta la disolución;
- Agregar 95 mL de agua destilada/purificada caliente;
- Calentar hasta que hierva durante 5 minutos;
- Dejar enfriar y conservar en frasco de plástico inerte, resistente y alejado de la luz.

13. SOLUCIÓN DE CARBONATO DE MAGNESIO ($MGCO_3$) 1%

- Disolver 1 g de carbonato de magnesio finamente pulverizado en 100 mL de agua destilada/purificada.

14. SOLUCIÓN DE CLORURO DE CALCIO DIHIDRATADO ($CACL_2.2H_2O$) AL 1%

- En un matraz aforado de 100 mL, disolver 1 g de cloruro de calcio dihidratado en 100 mL de agua destilada/purificada;
- Homogeneizar hasta que la sal se disuelva por completo.

15. SOLUCIÓN DE COLORANTE DE ROSA DE BENGALA AL 0,1%

- Agregar 1 g de colorante a 1 L de solución de formol al 10 % o etanol al 70-95º GL.

16. SOLUCIÓN DE DETERGENTE ALCALINO AL 0,1%

- En un matraz aforado de 1 L, agregar aproximadamente 900 mL de agua destilada/purificada;
- Agregar 1 mL de detergente;
- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada.

17. SOLUCIÓN DE DETERGENTE ENZIMÁTICO AL 0,5%

- En un matraz aforado de 1 L, agregar aproximadamente 900 mL de agua destilada/purificada;
- Agregar 5 mL de detergente;
- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada.

18. SOLUCIÓN DE EDTA (C10H16N2O8) AL 15%

- En un matraz aforado de 1 L, disolver 150 g de EDTA en agua destilada/purificada;
- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada.

19. SOLUCIÓN DE FLUORURO DE POTASIO AL 20%

- En un matraz aforado de 1 L, disolver 200 g de fluoruro de potasio dihidratado (KF.2H) P.A. en agua destilada/purificada;
- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada.

20. SOLUCIÓN DE FORMOL NEUTRALIZADO

El formol tiene en su composición un 40% de formaldehído en promedio. Por esta razón, una solución de formol al 10% (también conocida como formalina al 10%) equivale a una solución de formaldehído al 4%. Por lo tanto, para fines de estandarización en el texto de esta Guía, todas las pautas de conservación se refieren a concentraciones de formol.

(a) Procedimiento de utilización de muestras de plancton (fitoplancton y zooplancton):

- Agregar 5 g de bicarbonato de sodio (o 20 g de tetraborato de sodio) a 1 L de formol P.A.

(b) Procedimiento para utilizar muestras de bentos:

- Medir el pH del formol con una tira indicadora de pH o un medidor de pH;
- Agregar gradualmente suficiente bicarbonato de sodio (o tetraborato de sodio) para que el pH sea 7.

21. SOLUCIÓN DE FORMOL NEUTRALIZADO, CON SACAROSA

- Diluir 40 g de sacarosa (azúcar) en 1 L de formol P.A. previamente neutralizado con bicarbonato de sodio o tetraborato de sodio.

22. SOLUCIÓN DE FORMOL AL 4%

- En un vaso de precipitados, diluir 1 parte de formol P.A. en 24 partes de agua destilada/purificada.

23. SOLUCIÓN DE FORMOL AL 5%

- En un vaso de precipitados, diluir 1 parte de formol P.A. en 19 partes de agua destilada/purificada.

24. SOLUCIÓN DE FORMOL AL 10%

- En un vaso de precipitados, diluir 1 parte de formol P.A. en 9 partes de agua destilada/purificada.

25. SOLUCIÓN DE FORMOL AL 20%

- En un vaso de precipitados, diluir 1 parte de formol P.A. en 4 partes de agua destilada/purificada.

26. SOLUCIÓN DE HIDRÓXIDO DE SODIO (NAOH) 10M

- Disolver 400 g de hidróxido de sodio (NaOH) en 500 ml de agua destilada/purificada;
- Transferir a un matraz aforado de 1 L;
- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada.

27. SOLUCIÓN DE LUGOL (YODO RESUBLIMADO Y YODURO DE POTASIO – KI)

- Añadir 20 g de yoduro de potasio a 200 mL de agua destilada/purificada;

- Añadir 10 g de yodo puro a 20 mL de ácido acético glacial;
- Mezclar y homogeneizar las dos soluciones;
- Mantener alejado de la luz.

28. SOLUCIÓN DE METANOL/AMONIO (50+1)

- Añadir 20 mL de hidróxido de amonio a 1 L de metanol.

29. SOLUCIÓN DE ROSA DE BENGALA AL 0,1%

- Disolver 0,1 g de colorante Rosa de Bengala en 100 mL de agua reactiva (agua destilada/purificada, por ejemplo);
- Transferir a un frasco oscuro y homogeneizar;
- Mantener alejado de la luz.

30. SOLUCIÓN DE SULFATO DE MANGANESO 2,14 M

- Disolver 400 g de $MnSO_4.2H_2O$ en agua destilada/purificada;
- Filtrar y completar el volumen con agua destilada/purificada hasta 1 L en un matraz aforado.

31. SOLUCIÓN ESTANDARIZADA DE TIOSULFATO DE SODIO ($NA_2S_2O_3$) 0,0125N

- Pesar 3,1025 g de tiosulfato de sodio P.A. en un beaker de 500 mL;
- Agregar aproximadamente 400 mL de agua destilada/purificada y agitar hasta que se disuelva;
- Transferir a un matraz de 1 L;
- Agregar 1 g de Hidróxido de Sodio P.A. y agitar hasta que se disuelva;

- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada, homogeneizar y almacenar en un frasco oscuro.

32. SOLUCIÓN DE TIOSULFATO DE SODIO ($NA_2S_2O_3$) AL 3%

- En un matraz aforado de 1 L, disolver 30 g de tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3$) en 100 mL de agua destilada/purificada;
- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada.

33. SOLUCIÓN DE TIOSULFATO DE SODIO (NA2S2O3) AL 10%

- En un matraz aforado de 1 L, disolver 100 g de tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3$) en 100 mL de agua destilada/purificada;
- Completar el volumen hasta 1 L con agua destilada/purificada.

34. SOLUCIÓN TRANSEAU

- Añadir 6 partes de agua destilada, 3 partes de etanol 95º GL y 1 parte de formol P.A.

APÉNDICE D – VIDEO

En conjunto con la primera edición de la Guía Nacional para la Recolección y Preservación de Muestras de Agua, Sedimento, Comunidades Acuáticas y Efluentes Líquidos, se ha preparado un video que muestra los principales procedimientos que integraron esa edición y presenta información sobre la elaboración del Panorama de la Calidad de las Aguas Superficiales de Brasil – 2010.

El video está disponible en la página de la Escuela Superior de la CETESB en YouTube (https://www.youtube.com/watch?v=AhhatXAJIdo) y se divide en 6 partes:

- Parte I: Introducción
- Parte II: Preparación
- Parte III: Análisis realizados en campo
- Parte IV: Toma de muestras en agua bruta
- Parte V: Conservación de muestras
- Parte VI: Acondicionamiento, transporte y recepción en laboratorio

Transcurridos más de 10 años, el material elaborado sigue siendo muy ilustrativo y didáctico como un contacto inicial con la temática. Sin embargo, recomendamos que el video se utilice en conjunto con la información contenida en esta edición actualizada de la Guía Nacional para la Recolección.]

APUNTES

En cooperación

unesco

ABC
AGENCIA BRASILEÑA DE COOPERACIÓN
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

CETESB

Secretaria de
Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística

SÃO PAULO
GOVERNO DO ESTADO

ANA
AGENCIA NACIONAL DE AGUAS Y SANEAMIENTO - BRASIL

MINISTERIO DE
INTEGRACIÓN Y
DESARROLLO
REGIONAL

GOBIERNO DE BRASIL
BRASIL
UNION Y RECONSTRUCCIÓN

9 786588 101520