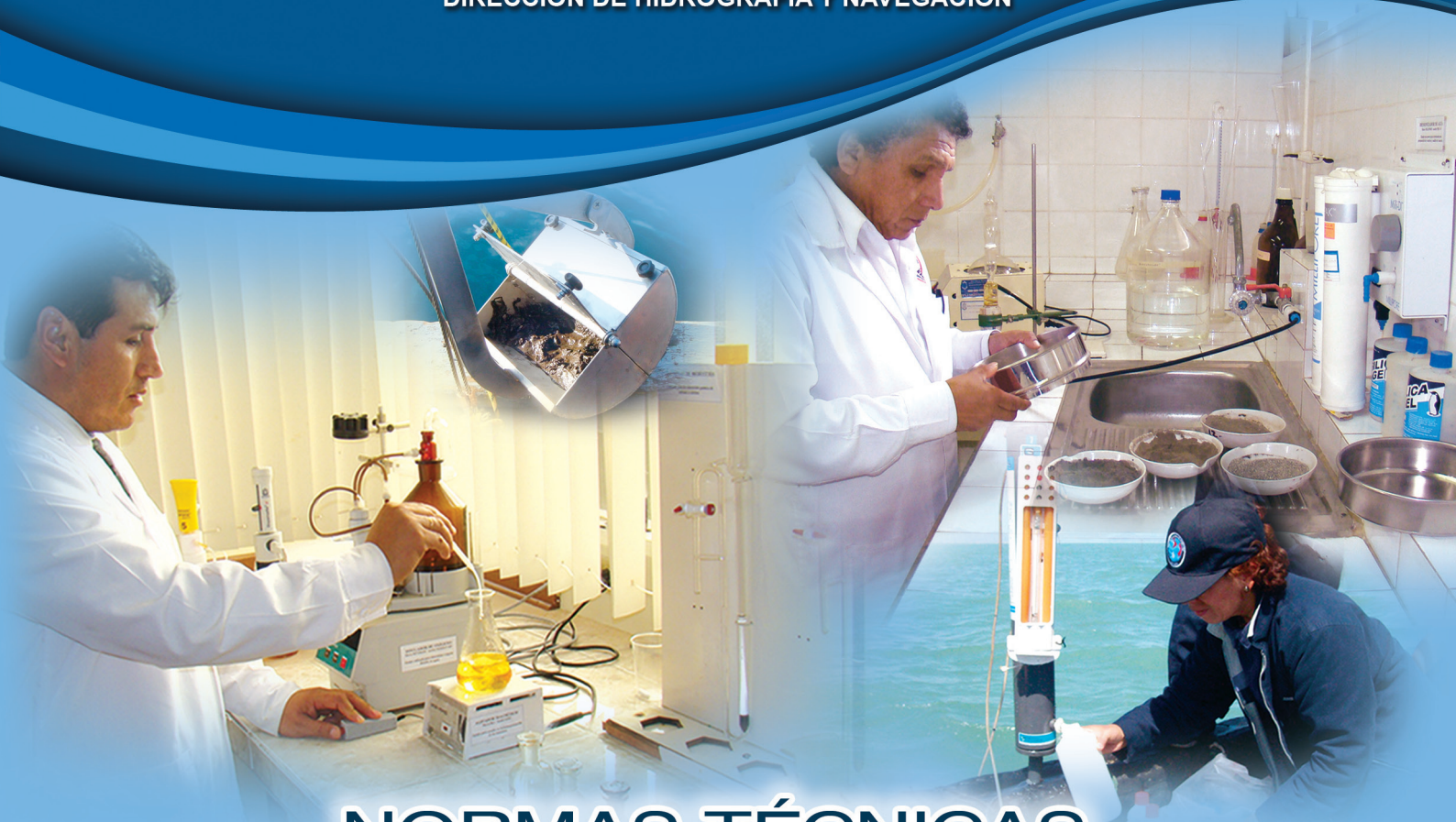


REPÚBLICA DEL PERÚ
MINISTERIO DE DEFENSA
MARINA DE GUERRA DEL PERÚ



DIRECCIÓN DE HIDROGRAFÍA Y NAVEGACIÓN



NORMAS TÉCNICAS HIDROGRÁFICAS N° 10

OCEANOGRAFÍA

NORMAS TÉCNICAS PARA EL PROCEDIMIENTO DE
MUESTREO Y ANÁLISIS DE AGUA DE MAR Y SEDIMENTO MARINO

HIDRONAV - 5139

**REPÚBLICA DEL PERÚ
MINISTERIO DE DEFENSA
MARINA DE GUERRA DEL PERÚ**



DIRECCIÓN DE HIDROGRAFÍA Y NAVEGACIÓN

NORMAS TÉCNICAS HIDROGRÁFICAS N° 10

OCEANOGRAFÍA

**NORMAS TÉCNICAS PARA EL PROCEDIMIENTO DE
MUESTREO Y ANÁLISIS DE AGUA DE MAR Y
SEDIMENTO MARINO**

HIDRONAV - 5139

1ra. Edición 2013

ÍNDICE

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	7
2. OBJETIVO.....	7
3. MEDIOS DISPONIBLES.....	7
3.1 Recursos Humanos.....	7
3.2 Equipos, Materiales y Reactivos	7
3.3 Instalaciones	8
4. METODOLOGÍAS	8
4.1 MUESTREO DE AGUA.....	8
4.1.1 Selección de Puntos de Muestreo	8
4.1.2 Preparación de Envases para toma de muestras.....	8
4.1.3 Procedimiento para Toma de muestra	9
4.1.4 Identificación y Control de muestras.....	9
4.1.5 Personal que ejecuta el muestreo	10
4.2 MUESTREO DE SEDIMENTOS	10
4.2.1 Equipo de muestreo de sedimento marino.....	11
4.3 ANALISIS DE MUESTRAS DE AGUA DE MAR	13
4.3.1 DETERMINACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO.....	13
Método de Winkler modificado por Carrit y Carpenter (1966)	
4.3.1.1 Alcance y campo de aplicación	13
4.3.1.2 Principio.....	13
4.3.1.3 Equipos y materiales	14
4.3.1.4 Reactivos.....	15
4.3.1.5 Toma y preservación de la muestra	15
4.3.1.6 Procedimiento analítico.....	16
4.3.1.6.1 Análisis (titulación).....	16
4.3.1.6.2 Determinación del blanco.....	16
4.3.1.6.3 Calibración	16
4.3.1.6.4 Cálculos.....	16
4.3.1.7 Presentación de Informe	17
4.3.2 DETERMINACIÓN DE SULFURO DE HIDRÓGENO	17
4.3.2.1 Alcance y campo de aplicación	17
4.3.2.2 Principio.....	17
4.3.2.3 Equipos y materiales	17
4.3.2.4 Reactivos.....	18
4.3.2.5 Toma y preservación de la muestra	19
4.3.2.6 Procedimiento analítico.....	19

4.3.2.6.1	Análisis.....	19
4.3.2.6.2	Calibración	19
4.3.2.6.3	Muestras estándares fotométricos.....	20
4.3.2.6.4	Cálculo y Reporte de Resultados.....	20
4.3.2.7	Presentación de Informe	21
4.3.3	DETERMINACIÓN DE POTENCIAL DE HIDRÓGENO – Ph.....	22
4.3.3.1	Alcance y campo de aplicaciones	22
4.3.3.2	Principio.....	22
4.3.3.3	Equipos, materiales y reactivos	22
4.3.3.4	Toma y preservación de la muestra	22
4.3.3.5	Procedimiento analítico.....	23
4.3.3.6	Calibración del potenciómetro portátil HANNA HI 9026	23
4.3.3.7	Presentación de Informe	24
4.3.4	DETERMINACIÓN DE FOSFATOS.....	24
	Método de F. Koroleff	
4.3.4.1	Alcance y campo de aplicación	24
4.3.4.2	Principio.....	24
4.3.4.3	Equipos y materiales	25
4.3.4.4	Reactivos.....	25
4.3.4.5	Toma y preservación de muestra	25
4.3.4.6	Procedimiento analítico.....	26
4.3.4.6.1	Análisis.....	26
4.3.4.6.2	Calibración	26
4.3.4.6.3	Observaciones	26
4.3.4.6.4	Cálculos y reporte de los resultados.....	27
4.3.4.7	Presentación de Informe	28
4.3.5	DETERMINACIÓN DE NITRITOS.....	28
	Método de Bendschneider y Robinson (1952)	
4.3.5.1	Alcances y campo de aplicación	28
4.3.5.2	Principio.....	29
4.3.5.3	Equipos y materiales	29
4.3.5.4	Reactivos.....	29
4.3.5.5	Toma y preservación de la muestra	30
4.3.5.6	Procedimiento analítico.....	30
4.3.5.6.1	Análisis.....	30
4.3.5.6.2	Calibración	31
4.3.5.6.3	Observaciones	31
4.3.5.6.4	Cálculos y reporte de resultados.....	31
4.3.5.7	Presentación de Informe	32
4.3.6	DETERMINACIÓN DE NITRATOS.....	33
	Método de Koroleff, 1973	
4.3.6.1	Alcances y campo de aplicación	33
4.3.6.2	Principio.....	33
4.3.6.3	Equipos y materiales	34

4.3.6.4	Reactivos.....	34
4.3.6.5	Toma y preservación de muestra	36
4.3.6.6	Procedimiento analítico.....	36
4.3.6.6.1	Preparación de las columnas de Reducción.....	36
4.3.6.6.2	Reducción de Nitratos.....	37
4.3.6.6.3	Calibración	38
4.3.6.6.4	Cálculo y reporte de resultados.....	38
4.3.6.7	Presentación de Informe	39
4.3.7	DETERMINACIÓN DE AMONIO	40
	Método de Koroleff	
4.3.7.1	Alcance y campo de aplicación	40
4.3.7.2	Principio.....	40
4.3.7.3	Equipos y materiales	40
4.3.7.4	Reactivos.....	41
4.3.7.5	Toma y preservación de muestra	41
4.3.7.6	Procedimiento analítico.....	42
4.3.7.6.1	Análisis.....	42
4.3.7.6.2	Calibración	42
4.3.7.6.3	Determinación del blanco.....	43
4.3.7.6.4	Observaciones	44
4.3.7.6.5	Efecto de la salinidad.....	44
4.3.7.6.6	Cálculo y reporte de resultados.....	44
4.3.7.7	Presentación de Informe	44
4.3.8	DETERMINACIÓN DE SILICATOS	45
	Método de Grasshoff.	
4.3.8.1	Alcance y aplicaciones	45
4.3.8.2	Principio.....	45
4.3.8.3	Equipos y materiales	45
4.3.8.4	Reactivos.....	46
4.3.8.5	Toma y preservación de la muestra	46
4.3.8.6	Procedimiento analítico.....	46
4.3.8.6.1	Análisis.....	46
4.3.8.6.2	Calibración	47
4.3.8.6.3	Observaciones	47
4.3.8.6.4	Cálculos.....	47
4.3.8.7	Presentación de Informe	48
4.3.9	DETERMINACIÓN DE SALINIDAD.....	48
4.3.9.1	Alcance y campo de aplicación	48
4.3.9.2	Principio.....	48
4.3.9.3	Equipos, materiales y reactivos	48
4.3.9.4	Toma y preservación de la muestra	49
4.3.9.5	Procedimiento analítico Equipo GUIDLINE 8410	49

4.3.9.5.1	Medición de la muestra.....	49
4.3.9.5.2	Calibración de Referencia.....	51
4.3.9.5.3	Calibración cero.....	51
4.3.9.5.4	Uniformización.....	51
4.3.9.5.5	Observaciones	51
4.3.9.7	Presentación de Informe	52
4.3.10	DETERMINACIÓN SÓLIDOS EN SUSPENSIÓN.....	53
4.3.10.1	Alcance y campo de aplicación	53
4.3.10.2	Principio.....	53
4.3.10.3	Equipos, materiales y reactivos	53
4.3.10.4	Toma y preservación de la muestra	53
4.3.10.5	Procedimiento analítico.....	53
4.3.10.5.1	Preparación de los filtros	53
4.3.10.5.2	Elección del volumen de muestra	54
4.3.10.5.3	Análisis.....	54
4.3.10.5.4	Cálculos.....	54
4.3.10.6	Presentación de Informe	54
4.4	ANÁLISIS DE SEDIMENTO MARINO.....	54
4.4.1	DETERMINACIÓN DE LA TEXTURA GRANULOMÉTRICA POR TAMIZADO	55
4.4.1.1	Alcance y campo de aplicación	55
4.4.1.2	Principio.....	55
4.4.1.3	Equipos y materiales	55
4.4.1.4	Toma y almacenamiento de muestra.....	55
4.4.1.5	Procedimiento analítico.....	56
4.4.1.6	Cálculos.....	56
4.4.1.7	Observaciones.....	57
4.4.1.8	Presentación de Informe	57
4.4.2	DETERMINACIÓN DE LA TEXTURA GRANULOMÉTRICA POR HIDRÓMETRO	58
4.4.2.1	Alcance y campo de aplicación	58
4.4.2.2	Principio.....	58
4.4.2.3	Equipos y materiales	58
4.4.2.4	Reactivos.....	59
4.4.2.5	Procedimiento analítico.....	59
4.4.2.6	Cálculos.....	60
4.4.2.7	Presentación de Informe	61
5.	PRESENTACION DE INFORME.....	61
5.1	Informe de Análisis o Estudio Técnico.....	61
6.	GLOSARIO DE TERMINOS.....	63
7.	BIBLIOGRAFIA.....	65
8.	ANEXOS	66

PROCEDIMIENTO DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE AGUA DE MAR Y SEDIMENTO MARINO

1. INTRODUCCIÓN

La Dirección de Hidrografía y Navegación a través del departamento de Oceanografía en el marco de sus funciones monitorea y/o estudia las condiciones oceanográficas químicas del litoral peruano y zonas costeras mediante la determinación de la calidad del agua y caracterización del lecho marino.

En este contexto, personal especializado del Laboratorio Químico, extraen las muestras de agua y sedimentos siguiendo protocolo o procedimiento internacionalmente aprobados, asegurando la confiabilidad y veracidad de los resultados. Paso siguiente, las muestras son analizadas siguiendo la metodología establecida por la Comisión Oceanográfica Intergubernamental (COI).

En el entendido que estos resultados contribuirán al conocimiento de las características químicas del agua de mar y del fondo marino, que permitan contar con elementos de juicio para la toma de decisiones en las actividades relacionadas al medio marino como son contaminación marina, construcciones náuticas, entre otros aspectos importantes, en este documento se compila las metodologías que se aplican para obtención de dichos resultados, es decir los análisis de los parámetros que en el caso particular se realiza a partir de la traducción e implementación del Manual de la COI denominado Chemical Methods for use in Marine Environmental Monitoring.

2. OBJETIVO

Normar los procedimientos técnicos empleados en prospecciones y/o Laboratorio para la determinación de los principales parámetros físicos químicos en aguas de mar y sedimento marino.

3. MEDIOS DISPONIBLES

Para la realización de los análisis físicos químicos la Sección Química cuenta con los siguientes medios:

3.1 Recursos Humanos

- Personal Profesional
- Dos Ingenieros Químicos
- Un Químico

- Personal Técnico
- Un analista Químico
- Un OM Hid.

- Personal Logístico
- Un Tec. Hid.
- Un OM Hid.

3.2 Equipos, Materiales y Reactivos

- Equipos de Muestreo: Botellas colectoras, roseta, dragas, piston corer
- Equipos Químicos: Espectrofotómetro UV/VIS, portasal, potenciómetro, balanza analítica, estufa, agitador de tamices entre otros equipos e instrumental de laboratorio.
- Equipos de Computo
- Reactivos Químicos diversos

3.3 Instalaciones

- Laboratorio de Química de la Dirección de Hidrografía y Navegación

4. METODOLOGÍAS

Los métodos descritos a continuación sólo incluyen los empleados en la Dirección de Hidrografía y Navegación en los siguientes análisis:

4.1 MUESTREO DE AGUA

Es fundamental cuando se planifica un muestreo precisar claramente cuál es el objetivo del mismo (análisis físico-químico, microbiológico u otro) ya que este define los elementos requeridos y las condiciones en que se realizara (envase, procedimiento y cuidados en la toma de muestra, condiciones de traslado y conservación, etc.) que se debe acordar previamente con el Laboratorio Químico.

El muestreo es el primer paso para la determinación de la calidad de una fuente de agua, por lo que la persona que recoge una muestra y la lleva al laboratorio es corresponsable de la validez de los resultados. En este sentido debe asegurarse que la muestra sea representativa de la fuente cuya calidad se desea evaluar, y que no se deteriore, ni se contamine antes de llegar al laboratorio, ya que la calidad de los resultados, depende de la integridad de las muestras que ingresan al mismo.

4.1.1 Selección de Puntos de Muestreo

La selección de puntos de muestreo debe considerarse individualmente para cada sistema a muestrear. Sin embargo, existen criterios que deben tomarse en cuenta para ello. Estos criterios son:

- Los puntos de muestreo deben ser representativos de las diferentes fuentes de agua, usualmente si ya existe un muestreo anterior se tomaran los mismos puntos para el nuevo estudio, incrementándose este si es que el estudio amerita.
- Debe haber una distribución uniforme de los puntos de muestreo a lo largo del sistema y, en su caso, considerar los lugares más susceptibles de contaminación.
- El muestreo en una zona costera,- como en un estudio de playas por ejemplo,- debe considerarse 10 puntos de muestreo como mínimo para cubrir el área de estudio. En casos de emisarios submarinos, dispersión de contaminantes sólidos o líquidos, instalación de hidrocultivos biológicos o de moluscos, construcción de puertos o muelles, será necesario muestrear alrededor del punto o zona a evaluar, considerando además en el muestreo la variabilidad estacional. Es por ello que se tendrá que realizar un monitoreo tanto en verano como en invierno, siguiendo la normativa contenida en esta publicación.
- Para la ejecución de los muestreos en campo, se llenará el formato que se presenta adjunto en el anexo B de esta norma, el cual deberá llenarse con datos como hora de muestreo, posiciones geográficas de cada punto, mediciones in situ y muestras que serán llevadas a laboratorio para su análisis.

4.1.2 Preparación de Envases para Toma de Muestras

Para análisis bacteriológico

Deben esterilizarse frascos de muestreo en estufa a 170° C, por un tiempo mínimo de 60 min o en autoclave a 120° C durante 15 min.

Antes de la esterilización, con papel resistente a ésta, debe cubrirse en forma de capuchón el tapón del frasco.

Para análisis físico-químico

Los envases deben lavarse perfectamente y enjuagarse a continuación con agua destilada o desionizada.

4.1.3 Procedimiento para Toma de Muestra

Para análisis bacteriológico.

Con los guantes puestos, (a fin de evitar contaminación cruzada), tomar la muestra directamente del cuerpo de agua, para ello se utilizan frascos de vidrio de 205 – 500 ml., boca ancha, con tapa rosca, los cuales han sido previamente lavados, secados, esterilizados y cubiertos con papel kraft para su mejor conservación. Una vez obtenida la muestra se colocara en un cooler, a una temperatura menor a 10°C hasta llegar al laboratorio. La muestra deberá ser analizada dentro de las 24 horas luego de haber sido recolectada.

Para el muestreo debe sumergirse el frasco en el agua con el cuello hacia abajo hasta una profundidad de 15 a 30 cm, abrir y enderezar a continuación con el cuello hacia arriba (en todos los casos debe evitarse tomar la muestra de la capa superficial o del fondo, donde puede haber nata o sedimento y en el caso de captación en cuerpos de agua superficiales, no deben tomarse muestras muy próximas a la orilla o muy distantes del punto de extracción); si existe corriente en el cuerpo de agua, la toma de muestra debe efectuarse con la boca del frasco en contracorriente. Efectuada la toma de muestra debe colocarse el tapón, sacar el frasco del agua y colocar el papel de protección.

Para análisis físico-químico, la cantidad a recolectar depende del tipo de análisis a realizar, por lo que se recomienda revisar la tabla del anexo A, de esta norma.

4.1.4 Identificación y Control de Muestras

Los recipientes deben ser identificados antes de la toma de muestra con una etiqueta, escrita con letra clara y legible la cual debe ser protegida con una cinta adhesiva transparente conteniendo la siguiente información:

- Numero de Muestra (referido al orden de toma de muestra)
- Código de identificación (punto y/o estación de muestras)
- Origen de la fuente
- Descripción del punto de muestreo
- Ubicación geográfica (latitud, longitud) del punto
- Fecha y hora de la toma de muestra
- Preservación realizada, tipo de preservante utilizado
- Tipo de análisis requerido
- Nombre del responsable del muestreo

Cerrar herméticamente el frasco, usar cinta adhesiva para sellar la tapa (del frasco).

Ejemplo de etiqueta:

PARAMETRO PARA ANALISIS: ACEITES Y GRASAS
 LUGAR DE MUESTREO: LA PUNTA – CALLAO
 ESTACION: E: 8 A
 CODIGO DE MUESTRA: 8-S
 FECHA /HORA MUESTREO: 03.01.11 H.:10:00
 PRESERVANTE UTILIZADO: ----
 MUESTREADO POR:
 OBSERVACIONES: Muestra de derrame con Olor fétido, color amarillo, derrame de la E/P “x” , de sus tanques de combustible tipo: xxxxxxx.

Para el control de la muestra debe llevarse un registro con los datos indicados en la etiqueta del frasco o envase referida anteriormente, así como la información presentada en el registro de muestreo del anexo B.:

4.1.5 Personal que ejecuta el Muestreo

Una vez elegido los puntos se debe conformar el plan de trabajo, los cuales se detallan en un documento llamado instrucciones especiales, detallándose ahí el cronograma y secuencia de los trabajos a realizar, entre ellos el muestreo. Cabe destacar que el personal a ejecutar el muestreo debe ser personal capacitado de laboratorio ya que estos tienen la experiencia y el criterio necesarios para realizar un muestreo de agua y/o sedimentos.

4.2 MUESTREO DE SEDIMENTOS

El estudio de la calidad de fondo tendrá como objetivo el caracterizar componentes del fondo marino del área, necesitando que el muestreo de sedimentos se tomen las siguientes consideraciones:

- a) Se deberán tomar muestras de sedimento marino dentro del área del proyecto, considerándose a lo menos 10 puntos de muestreo, con espaciamiento adecuado que cubra toda el área de estudio.
- b) Las muestras se deberán analizar en laboratorios especializados debidamente calificados y el certificado correspondiente para cada muestra deberá formar parte del informe.
- c) La escala a utilizar para el análisis granulométrico será la de Wentworth (1922).
- d) En el caso de instalaciones de hidrocultivos biológicos o de moluscos, se exigirán mediciones de materia orgánica, fósforo total, nitrógeno total y carbono total en las muestras de sedimentos en el área de estudio.
- e) En el caso de proyectos en los que se requiera conocer las características del fondo bajo el piso marino, tales como proyectos de fondeo de anclas de naves, boyas u otros, se deberá complementar las muestras superficiales de sedimento con muestreo subsuperficial, utilizando métodos instrumentales, tales como corer o lanzas de agua, a profundidad mínima de 6 metros bajo el lecho del fondo o hasta la roca dura en caso de encontrarla antes. Cuando esto no sea técnicamente posible, se deberá proponer algún método alternativo para cumplir el objetivo de determinar el espesor de la capa de fondo.
- f) Cuando en el proyecto se contemple la ejecución de estudios de mecánica de suelos, los resultados obtenidos en dicho estudio serán válidos para la determinación de la calidad del fondo y su espesor, siempre que cumplan con lo establecido en las letras a, b y c antes mencionado.

4.2.1 Equipo de muestreo de sedimento marino

Las muestras del fondo marino se obtienen con unos equipos denominados dragas y sacatestigos (corer). Estas técnicas permiten conocer los tipos de sedimento que conforman el fondo marino y el subfondo. La definición de los tipos de sedimento así como su distribución vertical, es decir a lo largo del tiempo, y superficial permitirán conocer los procesos sedimentarios más recientes que han controlado la evolución reciente del fondo marino.

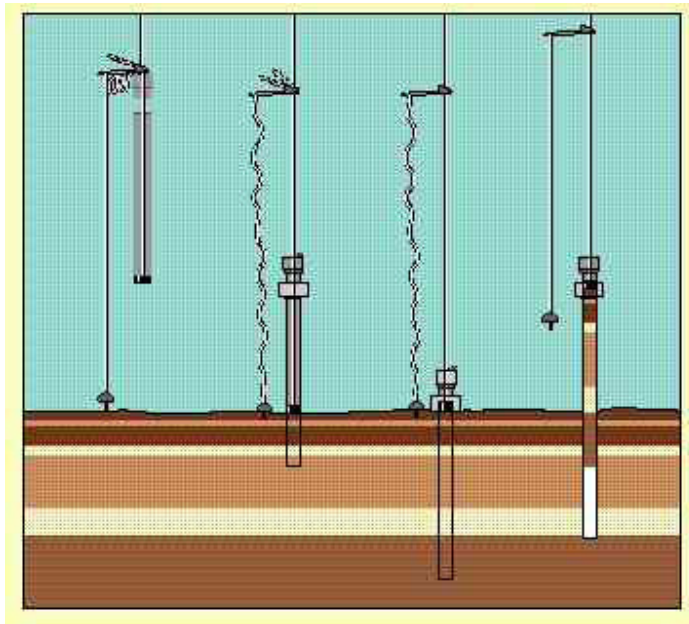
Las dragas permiten una obtención superficial del sedimento, pero sin una preservación de los primeros centímetros de su estratigrafía ya que aparece totalmente removilizado. La draga consiste en dos muelas o cucharas que penden de un cable, y permanecen separadas cuando descienden por la columna de agua. Cuando la draga toca fondo, las muelas o cucharas se hincan en el sedimento superficial y el dispositivo que las separa se libera. El sedimento es recogido o bien porque las muelas se cierran con presión, o bien cuando se iza a la draga. Representa una técnica pionera empleada en las primeras expediciones para conocer como era el sedimento que recubría los fondos marinos. Su utilización se remonta al siglo XIX. Actualmente se siguen empleando, ya que tienen la ventaja de ofrecer una primera visión del tipo de sedimento y procesos sedimentarios que caracterizan los ambientes sedimentarios modernos. Además, desde el punto de vista tecnológico su utilización y manejo a bordo es fácil por lo que puede ser empleado incluso en condiciones de mala mar.

Los sacatestigos permiten la obtención de testigos continuos de sedimento que conservan las estructuras y las secuencias sedimentarias. El más simple de todos es el Corer de gravedad, que consiste en una cabeza cilíndrica de gran peso (<500 kg o más), con lanzas de acero de varios centímetros (9, 11 cm) de diámetro y varios metros de longitud, con ojivas de acero en su extremo y sistema para retención de sedimento en flejes de acero inoxidable. Para la toma de muestras el equipo se utiliza una camisa interna de PVC. Este sistema de muestreo funciona mediante la adquisición de energía cinética en su caída libre hasta el fondo durante un recorrido de 25-40 m. Una vez alcanza el fondo y debido a la energía acumulada el equipo penetra en el sedimento, que queda dentro de la camisa interna de PVC siendo retenido por el sistema de cierre de lanza. El sedimento es recogido y conservado dentro de los cilindros de PVC, previamente cerrados herméticamente para su mejor preservación y convenientemente etiquetados.

Otro sistema de sacatestigos, pero más sofisticado, es el sacatestigo de caja (Boxcorer), que tiene un diámetro mayor para reducir la fricción, hecho que favorece además que se puedan tomar varias muestras del mismo nivel de sedimento. Este sistema no se hinca en el sedimento por gravedad, sino que dispone de una guillotina que se acciona cuando el sacatestigo toca fondo. La guillotina secciona el sedimento por la parte inferior de la caja, quedando el sedimento atrapado dentro de la misma. Este sistema de guillotina y el amplio diámetro permite que la interfase agua-sedimento quede bien preservada, pudiendo incluso estudiarse las estructuras sedimentarias superficiales. La longitud de sedimento obtenido es de varias decenas de centímetros.

Un sistema similar al sacatestigos de caja pero aun más complejo es el sistema de multicorer, que consiste en un trípode multitubo de muestreo del sedimento superficial (hasta 40 cm) y de la interfase agua-sedimento con un alto grado de preservación. Tras depositarse el sistema sobre el fondo, el equipo entra en funcionamiento introduciendo hasta ocho tubos de metacrilato dentro del sedimento gracias a un dispositivo hidráulico de pistón. Estos tubos quedan herméticamente cerrados por su base y techo.

El sacatestigos de pistón fue diseñado para la obtención de testigos largos de sedimento, de hasta 50 m.



La acción del pistón dentro de la camisa reduce la fricción interna, succionando el sedimento dentro la camisa. Los sacatestigos de pistón, al igual que los de gravedad, pierden la interfase agua-sedimento, el cual al ser material no consolidado es expulsado al exterior.



Muestreando testigos de pistón

El primer requisito para cualquier estudio del fondo marino es contar con una plataforma de investigación, que permita contener y operar el instrumental científico y que posea la habitabilidad necesaria para el personal. La plataforma clásica para los estudios marinos es el buque de investigación. Ellas deben contar con un sistema de posicionamiento adecuado, para georreferenciar correctamente cualquier muestreo que se obtenga. Actualmente, la mayoría de los buques cuentan con el Sistema de Posicionamiento Global (GPS). En este sistema, una red de satélites artificiales, entregan información a equipos de a bordo para determinar la posición del buque con gran exactitud.

Para la toma de muestra de sedimentos considere asimismo los pasos anteriormente descritos del 4.1.1 al 4.1.4.

4.3 ANALISIS DE MUESTRAS DE AGUA DE MAR:

A continuación se detallan las metodologías para los análisis físicos químicos en agua de mar que se realizan en el Laboratorio Químico y/o prospecciones de la Dirección de Hidrografía y Navegación.

- Oxígeno disuelto
- Sulfuro de Hidrógeno
- Potencial de Hidrógeno – pH
- Fosfatos
- Nitritos
- Nitratos
- Amonio
- Silicatos
- Salinidad
- Sólidos en Suspensión

4.3.1 DETERMINACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO

Método de Winkler modificado por Carrit y Carpenter (1966)

4.3.1.1 Alcance y campo de aplicación

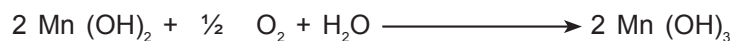
El oxígeno disuelto en el agua de mar es producto del oxígeno absorbido de la atmósfera y el producido en la fotosíntesis por el fitoplancton. Es importante porque ayuda a comprender la distribución de los organismos marinos en el océano, la calidad de agua de una determinada área y para los estudios de descomposición y oxidación de la materia orgánica. Se han desarrollado varios métodos para su determinación, entre ellos tenemos los volumétricos, gasométricos y la cromatografía de gases; siendo el caso presente el primero. El método es aplicable para la medición de niveles de oxígeno en agua de mar no contaminados.

4.3.1.2 Principio

El siguiente procedimiento describe un método manual basado en el método Winkler modificado por Carrit y Carpenter para la determinación de oxígeno disuelto en agua de mar. Asimismo, el método de análisis requiere que la muestra sea tratada con una solución alcalina de sal manganosa, al mismo tiempo que se le protege del aire para evitar su oxigenación, formándose al principio un precipitado blanco de hidróxido manganoso.



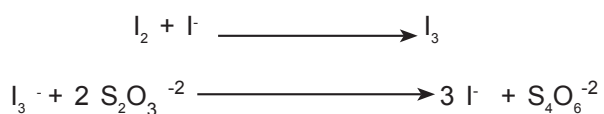
Este precipitado en presencia del oxígeno disuelto de la muestra, reacciona con el hidróxido manganoso transformándose en hidróxido mangánico (de color marrón).



Esta solución es acidulada en exceso en presencia de un yoduro, el yodo es liberado en una cantidad equivalente al oxígeno disuelto en la muestra.



El yodo liberado es titulado con una solución valorada de tiosulfato de sodio. Conociendo el volumen y la normalidad del tiosulfato consumido en la titulación, se calcula el contenido de oxígeno en la muestra.



4.3.1.3 Equipos y materiales

- Botellas de 100 ml de capacidad color blanco transparente con tapa esmerilada.
- Frascos erlenmeyer de 250 ml
- Bureta automática de 10 ml en unidad de 0.05 ml
- Pipetas Volumétricas de 10.0 ml
- Pipetas automáticas de 1.0 ml
- Agitador magnético con sus respectivos imanes



Bureta automática para titulación



Bureta automática para titulación

4.3.1.4 Reactivos

- **Cloruro manganoso:** 40 g de cloruro manganoso $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ es disuelto a 100 ml con agua destilada.
- **Ioduro alcalino:** 60 g de ioduro de sodio (NaI), 32 g de hidróxido de sodio (NaOH) y 1 g azida de sodio (NaN_3) son disueltos separadamente en una mínima cantidad de agua y luego se mezclan estas soluciones. La solución se lleva a 100 ml con agua destilada.
- **Acido sulfúrico:** 50 ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) es agregado a 50 ml de agua destilada. La mezcla debe ser enfriada durante la preparación.
- **Solución de tiosulfato:** 5.000g de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) es disuelto en un litro de agua destilada previamente hervida con el fin de eliminar los carbonatos. Para preservar la solución agregar 10 ml de isobutanol.
- **Solución de almidón:** 3 g de almidón es disuelto en 100 ml de glicerina. Para ayudar a la disolución calentar la mezcla a temperatura moderada hasta que adquiera un color traslúcido.
- **Solución estándar:** Se disuelve en agua destilada 0.367 g de yodato de potasio (KIO_3), se completa a 1L en una fiola y se mezcla fuertemente. La normalidad es exactamente 0.0100 N, esta solución es estable indefinidamente.

4.3.1.5 Toma y preservación de la muestra

La muestra para el análisis de oxígeno disuelto deber ser tomada antes que otras muestras de la botella NISKIN, en un frasco de vidrio ámbar de 100 ml aproximadamente con tapa esmerilada y volumétricamente graduada, usando un tubo de jebe, evitando las burbujas de aire. La botella debe ser enjuagada por lo menos con un volumen igual al de la capacidad de esta. En caso que la muestra sea tomada de un balde (muestras superficiales), sumergir suavemente el frasco e introducir por la boca de este la muestra de agua evitando la formación de burbujas y turbulencia, tapar luego que la botella este completamente llena.

Destapar la botella y agregar con la pipeta automática 1 ml del reactivo I (cloruro manganoso) por el cuello de la botella, seguidamente agregar 1 ml. del reactivo II (yoduro alcalino), luego se tapa la botella y se agita enérgicamente. Esperar que el precipitado se asiente (2–3 minutos) y agitar nuevamente la botella. Finalmente se deja que el precipitado formado se sedimente y deje una tercera parte de la botella con una solución transparente. Se coloca la botella con la muestra en un lugar frío y oscuro.

Después de por lo menos 30 minutos de digestión, se agrega 1 ml del reactivo III (ácido sulfúrico) y se agita enérgicamente hasta la total disolución del precipitado y se procede inmediatamente a la titulación con tiosulfato.

4.3.1.6 Procedimiento analítico

4.3.1.6.1 Análisis (titulación)

- (a) El contenido del frasco de la muestra se pasa a un erlenmeyer de 250 ml.
- (b) Se titula con una solución estándar de tiosulfato de sodio hasta que tome un color amarillo pálido.
- (c) Se agrega 2 gotas del indicador (solución de almidón) y se continúa la titulación hasta que el color amarillo desaparezca.
- (d) Se anota el volumen gastado de tiosulfato y se corrige éste con el factor de normalidad para el tiosulfato.

4.3.1.6.2 Determinación del blanco

En un erlenmeyer que contiene 50 ml de agua destilada se agrega 1.0 ml de H_2SO_4 y 1 ml de la solución NaOH- NaI, se agita y después se agrega 1 ml de la solución de Cl_2Mn . Si no aparece coloración azul los reactivos están libres de oxidantes. Si aparece este color se titula. Si se gasta más de 0.05 ml de la solución de tiosulfato de sodio se verificará cual de los elementos contiene sustancias oxidantes.

4.3.1.6.3 Calibración

Con una pipeta volumétrica se agrega 10 ml de KIO_3 0.01 N a un erlenmeyer, luego se añade 50 ml de agua destilada, enseguida se le agrega 1.0 ml de reactivo H_2SO_4 y 1 ml de solución de NaOH- NaI. El yodo liberado es titulado con la solución de tiosulfato de sodio.

El factor (f) es calculado de la siguiente manera:

$$F = 5/V$$

Donde:

V= Consumo de tiosulfato para 10 ml de yodato de potasio.

El factor no varía por muchos días, pero debe ser determinado, usando el promedio de por lo menos 5 titulaciones.

La solución estándar y las muestras de agua de mar deben estar a una temperatura aproximadamente iguales durante las titulaciones.

4.3.1.6.4 Cálculos

El contenido de oxígeno de la muestra es calculado en la siguiente forma:

1 equivalente de tiosulfato = 8 g de oxígeno

1 ml 0.02 N = 0.112 ml de oxígeno

Una botella contiene:

$(a \times f \times 8 \text{ mg oxígeno}) / 50 \text{ ml} = \text{mg} / \text{ml}$

En un litro habrá

$a \times f \times 8 \times 1000 / 50 (b-2) = \text{mg} / \text{litro}$

$a \times f \times 112 / (b - 2) = \text{ml} / \text{litro oxígeno}$

Donde:

a = Consumo de tiosulfato en la titulación

b = Volumen de la botella

f = Factor del tiosulfato

4.3.1.7 Presentación de Informe

El informe de laboratorio comprenderá los elementos descritos en el capítulo 5, parte 5.1.

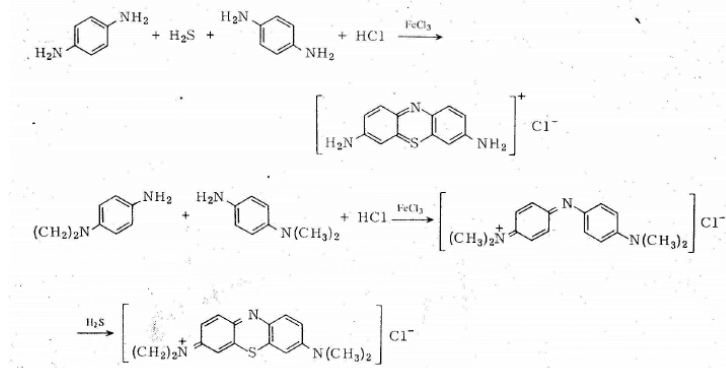
4.3.2 DETERMINACIÓN DE SULFURO DE HIDRÓGENO Método de H. Fonselius

4.3.2.1 Alcance y campo de aplicación

El sulfuro de hidrógeno se encuentra en aguas anóxicas, donde se forma por reducción microbiológica de los iones sulfato. El método descrito, depende de la formación del azul de metileno a partir del dimetil p-fenildiamina y es una simple aplicación de un método colorimétrico para sulfuros. El método es de tal sensibilidad como teóricamente posible sea y es aplicable para la determinación directa de concentraciones menores 100 moles / litro. Para concentraciones mayores de sulfuro de hidrógeno la muestra tiene que ser diluida con agua destilada libre de oxígeno antes del análisis.

4.3.2.2 Principio

La muestra acidificada se hace reaccionar con dimetil fenildiamina, empleándose iones férricos como catalizadores. Produciéndose una oxidación compleja que da lugar a una incorporación cuantitativa de algún azufre presente como sulfuro en un colorante heterocíclico llamado azul de metileno. La absorción de luz para la muestra es medida después de la dilución en celdas de 1, 5 ó 10 cm. La reacción puede formularse de la siguiente manera:



4.3.2.3 Equipos y materiales

- Botellas Winkler de volumen calibrado o fiolas de 100 ml
- Espectrofotómetro con filtro de 670 nm con celdas de 1, 5 y 10 cm.
- Pipetas automáticas de 1 ml.

4.3.2.4 Reactivos

Parece ser imposible obtener una solución de diamina que sea más o menos decolorada. Sin embargo, esto parece no afectar los resultados. Pruebas ocasionales usando soluciones oscuras de diamina, por tener un año de antigüedad, produjeron resultados que difirieron ligeramente de los resultados obtenidos con una solución recién preparada.

- **N-N dimetil p-fenil diamina:** Se disuelve 1 g en 500 ml de HCl 6 M.
HCl. 6M: Se diluye HCl concentrado (37%, densidad 1.19) con igual cantidad de agua.
- **Cloruro férrico p.a. (FeCl₃):** Se disuelve 8 g de FeCl₃ en HCl (6 moles/litro).
- **Agua destilada libre de oxígeno:** Un volumen apropiado de agua destilada es llevado a ebullición. Cuando el agua comienza a hervir se burbujea gas nitrógeno por 30 minutos, luego de los cuales se continúa burbujeando este gas hasta que el agua se enfríe y alcance la temperatura del ambiente.
- **Solución stock de sulfuro:** Se prepara una solución de sulfuro con agua destilada libre de oxígeno. Los cristales de Na₂S·9H₂O p.a. son rápidamente lavados con agua destilada de una pisceta. Se secan los cristales con papel filtro y se colocan en un vaso de vidrio tarado, 0.750 g son pesados en una balanza analítica y se disuelven en agua destilada libre de oxígeno adicionando con la ayuda de un sifón a una fiola de 1000 ml.
- **Solución de trabajo de sulfuro:** Sé sifonea un volumen adecuado de agua destilada libre de oxígeno en una fiola de 500 ml. A este pipetear 25 ml de la solución stock de sulfuro y se agrega agua libre de oxígeno hasta la marca de enrase. Para una mayor exactitud, la concentración se determina por titulación como se describe abajo. La solución es estable por solamente 15 a 30 minutos.
- **Solución de tiosulfato de sodio 0.02 M:** Se disuelve 5 g de Na₂S₂O₃ en 1000 ml de agua destilada. Se adiciona 5 ml de alcohol isobutil antes de la dilución a todo el volumen de la fiola.
- **Solución yodato de Potasio (0.0055 moles/l):** Pesar con exactitud 1.1891 g de KIO₃ grado analítico (Peso molecular 214.04), secado a 180 °C por 1 hora.
- **Solución ácido sulfúrico:** La misma solución de oxígeno disuelto.
- **Solución de almidón:** De igual forma que para la determinación de oxígeno disuelto.
- **Yoduro de potasio: Cristales de KI p.a.**
Solución de acetato de zinc: 10.44 g de acetato de zinc dihidratado es disuelto en 1000 ml de agua destilada libre de oxígeno que contiene 2 g de gelatina. El agua es preparada desde agua libre de oxígeno con 2 g de gelatina.

4.3.2.5 Toma y preservación de la muestra

Las muestras deben ser obtenidas inmediatamente después de la muestra para oxígeno, empleando muestreadores de agua de plástico. Si no se dispone de esta, pueden usarse de metal con tal que las superficies internas estén recubiertas con plástico. La muestra se obtiene de la misma manera que para el análisis de oxígeno. Se puede sospechar de la presencia del sulfuro de hidrogeno cuando el precipitado de hidróxido de manganeso es totalmente blanco en lugar de marrón. Asimismo, puede asociarse altas concentraciones cuando las muestras tienen un desagradable olor.

4.3.2.6 Procedimiento analítico

4.3.2.6.1 Análisis

A una botella winkler común se llena con la muestra exactamente de la misma manera como la que se describe para la determinación del oxígeno disuelto. Los reactivos cloruro diámino y férrico (1 y 2) son adicionados inmediatamente con pipetas automáticas o dispensadores de 1 ml. Se deja que el extremo o tip de la pipeta llegue casi al fondo de la botella. Luego se coloca la tapa evitando las burbujas de aire. El color azul empieza a revelarse en pocos minutos y 30 minutos después la muestra esta lista para ser medida en un espectrofotómetro. Sin embargo, si las muestras contienen altas concentraciones de sulfuro de hidrógeno, debe dejarse desarrollarse todo el color. La intensidad del color es constante por lo menos 24 horas. La intensidad de color de la muestra se mide contra agua destilada a 670 nm, usando celdas de 1 ó 5 cm según la intensidad del complejo.

4.3.2.6.2 Calibración

Estandarización de la solución de tiosulfato de sodio: Se procede como para el caso de oxígeno disuelto

Estandarización de la solución de trabajo de sulfuro: Este se lleva a cabo unos minutos después de la preparación de la solución de trabajo y al mismo tiempo que la preparación de las muestras estándares fotométricos.

Tomar 6 erlenmeyer con tapones de vidrio esmerilados y adicionar a cada uno aproximadamente 10 ml. De agua destilada y 1 -2 g. de yoduro de potasio. Echar en cada erlenmeyer 10 ml de solución de yodato medidos con una pipeta. Agregar 1 ml de ácido sulfúrico en cada frasco y verter en tres de los erlenmeyer 50 ml de solución de trabajo de sulfuro y en los otros restantes adicionar 50 ml de agua destilada. Colocar los frascos a un lado en un lugar frío mientras se inicia la estandarización colorimétrica, luego se titula el contenido de los frascos con tiosulfato, usando almidón como indicador.

$$221.40 \times M \times (A-B) / 22.14 \times 0.02 \times 50 = 10 \times M \times (A-B)$$

A= Promedio de las titulaciones de las 3 soluciones, sin adición de sulfuro en ml

B= Promedio de las titulaciones de las 3 soluciones conteniendo sulfuro en ml

M= Concentración de la solución de tiosulfato, moles / litro.

4.3.2.6.3 Muestras estándares fotométricas

A partir de la solución de trabajo se prepara la siguiente serie de estándares

A una fiola de 100 ml ó una botella winkler de volumen calibrado se agrega los volúmenes siguientes de soluciones de trabajo por medio de una pipeta o bureta tabla N°1.

TABLA N° 1
Preparación de los Estándares de Trabajo de
Sulfuro de Hidrógeno

ml de la solución de Trabajo/ H ₂ O libre de oxígeno	μ moles/litro de S ²⁻
20	27.45
16	21.96
12	16.47
8	10.98
4	5.49
0	0.00

Estas concentraciones corresponden a una solución de trabajo de sulfuro con exactamente 0.137 μmoles/litro. Por lo tanto tienen que ser corregida de acuerdo al valor real encontrado por titulación.

Si se usan las botellas winkler, los valores de concentración dados arriba tiene que ser calculados de acuerdo al gráfico de calibración descrito en el siguiente párrafo.

Con la ayuda de un sifón se llenan las botellas con agua destilada libre de oxígeno, hasta la marca de los 100 ml, o en caso de las botellas calibradas hasta el cuello. En el caso último se debe hacer una corrección de volumen para cada botella.

Tan pronto como se llena la botella, se adiciona 1 ml de cada reactivo mediante una jeringa automática y el contenido de la botella se mezcla bien. Después de 60 minutos, se miden las muestras contra el blanco a 670 nm con celdas de 1 cm y/o 5 cm como sea conveniente.

De los resultados se prepara una gráfica de calibración, el gráfico debe ser una línea recta y debe pasar por el origen.

Si se analizan concentraciones más altas, el gráfico empezará a desviarse a partir de los 40 - 50 μmoles/litro. El punto exacto de la desviación depende de la calidad de la solución de amina. Sin embargo, si esto es tomado en cuenta cuando se haga el cálculo de los resultados analíticos, así en el gráfico el rango puede ser extendido hasta cerca a 100 μmoles/litro.

4.3.2.6.4 Cálculo y Reporte de Resultados

Se ajusta la curva de calibración por mínimos cuadrados y se calcula la pendiente e intercepto de la recta con el eje, luego se calcula la concentración en una muestra.

Ecuación de la recta ajustada:

$$A = mC + b$$

$$b = (\sum y - b \sum x) / n$$

$$m = (n \cdot \sum xy - \sum x \sum y) / n \cdot \sum x^2 - (\sum x)^2$$

Por lo tanto:

$$C = (A - b) / m$$

Donde:

A = Absorbancia

m = Pendiente de la recta

b = Intercepto de la recta con el eje de abscisa

C = Concentración

Por ejemplo: En una celda de 1 cm, los estándares preparados tienen las siguientes lecturas de absorbancia.

Concentración μ moles/l X	Absorbancia Y
0.00	0.00
5.49	0.065
10.98	0.155
16.47	0.238
21.96	0.325
27.45	0.3925

$$C = (A - 0.0058077) / 0.014691$$

En una muestra donde su absorbancia es 0.032 y su concentración es desconocida, mediante un cálculo se puede determinar esta:

$$C = (0.032 - 0.0058077) / 0.014691$$

$$C = 2.57 \mu\text{moles/l}$$

4.3.2.7 Presentación de Informe

El informe de laboratorio comprenderá los elementos descritos en el capítulo 5, parte 5.1.

4.3.3 DETERMINACIÓN DE POTENCIAL DE HIDRÓGENO - pH

4.3.3.1 Alcance y campo de aplicaciones

El potencial de hidrógeno (pH) es una medida de la acidez o alcalinidad de una solución y varía en relación inversa a la concentración de hidrogeniones según $\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$. En el agua de mar es la resultante de fenómenos diversos y normalmente oscila entre 7.8 a 8.3. En litorales rocosos con intensa vida vegetal puede subir a 9.0 y en aguas profundas donde hay consumo de O_2 y producción de CO_2 puede bajar a 7.6

4.3.3.2 Principio

El pH de una muestra se determina electrónicamente, usando un electrodo combinado de membrana de vidrio y calomel como referencia. Este método es aplicable a todo tipo de aguas naturales y efluentes domésticos e industriales.

4.3.3.3 Equipos, materiales y reactivos

- Potenciómetro
- Electrodo para el tipo de agua a determinar
- Botellas de plástico de 50 ml
- Pisceta
- Vasos d precipitado de 50 ml
- Solución buffer de 4.0, 7.0 y 10.0
- Solución de almacenamiento del electrodo

4.3.3.4 Toma y preservación de la muestra

Las muestras deben ser tomadas de las botellas NISKIN inmediatamente después de las muestras de oxígeno y sulfuro, llenando una botella de 50 ml de polietileno hasta el tope y cerrándola de inmediato con una tapa rosca. Se almacenan. Estas deben ser analizadas tan pronto como sea posible, preferiblemente en el momento del muestreo. En ninguna circunstancia debe demorarse la medida del pH más de dos horas, durante este lapso las muestras puede n ser almacenadas a la temperatura del laboratorio en la oscuridad y a baja temperatura hasta el momento del análisis, siempre evitando el intercambio con la atmósfera, sobre todo si se trata de aguas de alta pureza o que no estaban en equilibrio con la atmósfera.

4.3.3.5 Procedimiento Analítico

- (a) Para realizar una medición de pH retire la tapa protectora del electrodo y simplemente sumerja la punta del electrodo (unos 4 cm.) y la sonda de temperatura en la muestra a ser medida.
- (b) Si es necesario presione RANGO hasta que la pantalla cambie a modo pH.
- (c) Permita que el electrodo se ajuste y que la medición se estabilice (el reloj de arena de la pantalla se apaga). La pantalla mostrará ahora la medición de pH junto con la temperatura de la muestra.
- (d) Para realizar mediciones más precisas, asegúrese de que el instrumento está calibrado.

4.3.3.6 Calibración del potenciómetro portátil HANNA HI 9026

- (a) Seleccione el primer buffer con las teclas flecha arriba y abajo y/o con la tecla CUSTOM BUFF (valores personalizados).
- (b) Sumerja el electrodo aproximadamente 4 cm. En la solución y ubique la sonda de temperatura lo más cerca posible del electrodo y revuelva delicadamente.
- (c) En la pantalla parpadeará NOT READY por 12 segundos, luego; si la lectura no se acerca al buffer seleccionado la pantalla mostrará el mensaje WRONG; si la lectura es estable y corresponde al buffer seleccionado el equipo emitirá un sonido y la pantalla mostrará el texto READY fijo y el texto CFM parpadeando.
- (d) Presione la tecla CFM para confirmar la calibración; el medidora almacenará el primer punto de calibración. La parte principal de la pantalla mostrará el valor del primer punto de calibración, mientras que la parte zona secundaria de la pantalla el valor de pH del segundo buffer a ser usado en la calibración. Si va a usar un valor distinto utilice las teclas flecha arriba y abajo para cambiar el valor.
- (e) Sumerja el electrodo aproximadamente 4 cm en la solución y ubique la sonda de temperatura lo más cerca posible del electrodo y revuelva delicadamente.
- (f) En la pantalla parpadeará NOT READY por 12 segundos, luego; si la lectura no se acerca al buffer seleccionado la pantalla mostrará el mensaje WRONG; si la lectura es estable y corresponde al buffer seleccionado el equipo emitirá un sonido y la pantalla mostrará el texto READY fijo y el texto CFM parpadeando.
- (g) Presione la tecla CFM; el valor se almacena en la memoria y el equipo va al modo normal de medición. Las etiquetas correspondientes a los buffer usados para la calibración se encenderán junto con la barra de "condición"



Potenciómetro portátil HANNA HI 9026

4.3.3.7 Presentación de Informe

El informe de laboratorio comprenderá los elementos descritos en el capítulo 5, parte 5.1.

4.3.4 DETERMINACIÓN DE FOSFATOS Método de F. Koroleff

4.3.4.1 Alcance y campo de aplicación

Los fosfatos inorgánicos se encuentran en el agua de mar disponibles para uso inmediato de todas las especies fitoplanctónicas, son importantes ya que son un factor limitante en el crecimiento del plancton en los océanos. Asimismo, las altas concentraciones de fosfatos son indicadoras de contaminación. En la costa peruana a nivel superficial los fosfatos oscilan entre 0.2 a 2.45 $\mu\text{g-at/L}$. Esta es una modificación del método de Murphy y Riley (1962), en el cual se emplea una sola solución. Sin embargo, el empleo de dos soluciones, en lugar de una, hace los reactivos más estables.

No existe error debido a la salinidad en las determinaciones, ya que esta desviación es menos de 1%. La interferencia por calcio, hierro y silicato, sólo ocurre en concentraciones más altas a las encontradas en agua de mar.

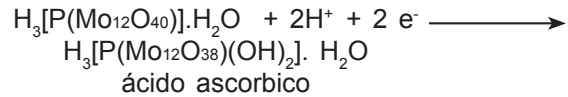
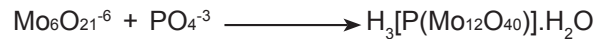
El arsenato reacciona dando un color semejante, pero se considera que existe en cantidades mínimas en agua de mar. Sin embargo, en los experimentos realizados por Johnson (1971) se indica que la concentración de arsenato es más alta de los que se creía. En períodos de alta producción primaria y por lo tanto de bajas concentraciones de fosfato - arsenato y fosfatos, se dice que ambas concentraciones son iguales y a veces el arsenato puede ser dominante.

La determinación en una muestra sin filtrar, da la concentración de fosfato inorgánico disuelto en verdadera solución y probablemente también incluye una pequeña fracción de estos iones que son absorbidos en partículas y son disueltos por el ácido en el reactivo mezclado. Esta última fracción no se incluye si el análisis es hecho sobre una muestra filtrada.

4.3.4.2 Principio

Se permite que reaccione el fosfato del agua mar con el molibdato de amonio, formando un ácido heteropolicomplejo. Este ácido es reducido por el ácido ascórbico a un complejo coloreado azul, al que se le mide la absorbancia en un espectrofotómetro.

Esta reducción, normalmente es lenta pero añadiendo un catalizador (tartrato antimonil) la reducción procede más rápido. Este método que es una modificación del método de Murphy y Riley (1962) en la cual se emplea una sola mezcla de soluciones. El uso de dos soluciones diferentes, permite que los reactivos sean más estables. De acuerdo a la experiencia de inter calibraciones, es necesario medir las muestras de agua de mar contra agua de las mismas profundidades para compensar la variable turbidez. Esta turbidez se debe en medida al ácido en el reactivo de molibdato. Por esta razón el blanco de turbidez debería tener la misma acidez que la muestra. Por lo tanto es conveniente usar dos soluciones de reactivo: una que contenga todos los componentes excepto el ácido ascórbico y una segunda que sea la solución de ácido ascórbico.



4.3.4.3 Equipos y materiales

- Espectrofotómetro UV/VIS
- Celda de 1 cm de paso.
- Frascos de 250 ml de polietileno, con tapa hermética.
- Pipeta de 5 ml.
- Erlemeyer de 150 ml.
- Probeta de 50 ml.

4.3.4.4 Reactivos

- **Solución ácido ascórbico 0.4 M:** 7.0 g de ácido ascórbico en 100 ml de H₂O destilada, esta solución debe ser guardada en una botella oscura y es estable aproximadamente por dos semanas.
- **Acido sulfúrico 4.75 M:** 253 ml H₂SO₄ concentrado en 1000 ml H₂O destilada.
- **Solución heptamolibdato de amonio:** 9.0 g de heptamolibdato en 100 ml de H₂O destilada.
- **Solución antimoniltartrato de potasio 0.1 M:** 3.25 g de antimoniltartrato en 100 ml de H₂O destilada
- **Solución ácido molibdato:** 200 ml de la solución (2) + 45 ml de la solución (3) + 5 ml de la solución (4)
- **Solución Stock de Fosfato:** Se seca a 100 °C potasio dihidrógeno fosfato p.a, se pesa exactamente 0.3403 g y es disuelto con agua destilada hasta un litro en una fiola aforada. Preservar la solución con algunas gotas de cloroformo. Esta solución contiene 2.5 μmol de P-PO₄ y es estable por meses si se mantiene refrigerada.
- **Solución de trabajo de Fosfato:** 10 ml de la solución stock es diluido con agua destilada a un litro. Cada ml contiene 0.025 μmol de P-PO₄. Esta solución no puede almacenarse para un futuro uso.

4.3.4.5 Toma y preservación de muestra

La colección de muestra se realiza mediante el uso de la botella NISKIN, de ésta se transfiere a una botella de polietileno de 250 ml. Previamente lavada y purgada con muestra.

La técnica que se emplea en este Laboratorio para la preservación de la muestra es la de congelarla inmediatamente después de su toma para su posterior análisis. La temperatura promedio de congelamiento debe de ser de -20°C. No se debe alargar el tiempo de almacenamiento. Como máximo las muestras pueden almacenarse por espacio de 20 a 25 días. Las muestras deben ser debidamente rotuladas, para evitar errores por este motivo.

4.3.4.6 Procedimiento analítico

4.3.4.6.1 Análisis

- (a) Medir en una probeta de 35 ml de la muestra, y vaciarlo a un erlemeyer para realizar el análisis.
- (b) Añadir 1 ml del reactivo ácido molibdato.
- (c) Seguidamente, agregar 1 ml del reactivo del ácido ascórbico. Agitar bien. Esperar unos 10 minutos para que se forme el complejo y no un tiempo mayor de 30 minutos para evitar la formación del arsenomolibdato.
- (d) Leer la absorbancia a 880 nm en celda de 1 cm ó 5 cm, dependiendo de la concentración de fosfatos en la muestra.

4.3.4.6.2 Calibración

Se prepara una serie de estándares desde la solución de trabajo por dilución con agua destilada. Se puede utilizar la siguiente tabla para fioles de 100 ml.

TABLA N° 2
Preparación de los Estándares de Trabajo de Fosfato

ml de la solución de Trabajo/ 100 ml de H ² O	μ moles / litro de P-PO ₄
0.00	0.00
0.80	0.20
1.6	0.40
2.4	0.60
3.2	0.80
4.0	1.00
8.0	2.00
16	4.00

Como se describe en el procedimiento de análisis 35 ml de cada disolución se transfieren a un erlemeyer y se agregan los reactivos. Para la calibración de la turbidez se agrega a las muestras sólo el reactivo de molibdato. El blanco de reactivo es preparado con el mismo volumen de agua destilada y los reactivos.

Después de la medición de la absorbancia (corregida con el blanco de reactivo) plotear este valor versus la concentración teórica. El gráfico debe ser lineal.

4.3.4.6.3 Observaciones

- (a) Procesar un blanco de reactivos en agua destilada junto con la muestra, para corregir la absorción de las muestras.
- (b) A este blanco se le agrega la misma cantidad de reactivos, como a la muestra.
- (c) Todo el material de vidrio que se emplee, debe ser usado absolutamente limpio y debe ser usado sólo para este propósito.
- (d) Los detergentes contienen fosfato en su formulación y no deben ser empleados para la limpieza del material de vidrio.

4.3.4.6.4 Cálculos y reporte de los resultados

Con los datos obtenidos en la calibración plotear absorbancia versus concentración de los estándares, obteniéndose una recta, se hallan los valores de la pendiente y de la intersección de la recta con el eje y, luego se calcula la concentración desconocida en una muestra, conociendo su absorbancia.

La recta puede ser ajustada por mínimos cuadrados con la siguiente ecuación lineal:

$$A = mC + b:$$

$$b = (\sum y - b \sum x) / n$$

$$m = (n \cdot \sum x - \sum y) / n \cdot \sum x^2 - (\sum x)^2$$

Despejando:

$$C = A - b / m$$

Donde:

A = Absorbancia

m = Pendiente de la recta

b = Intercepto de la recta con el eje de abscisa y

C = Concentración

Por ejemplo:

En una celda de 5 cm, los estándares preparados tienen las siguientes lecturas de absorbancia:

Concentración μ Eje x	Absorbancia Eje y
0.00	0.00
0.20	0.019
0.40	0.040
0.60	0.059
0.8	0.079
1.0	0.101
2.0	0.211
4.0	0.418

$$C = A + 0.0024968/0.1052194$$

En una muestra donde la absorbancia a 880 nm es 0.046, su concentración se puede determinar de la siguiente manera:

$$C = 0.046 + 0.0024968/0.1052194$$

$$C = 0.46 \mu\text{g-at/l}$$



4.3.4.7 Presentación de Informe

El informe de laboratorio comprenderá los elementos descritos en el capítulo 5, parte 5.1.

4.3.5 DETERMINACIÓN DE NITRITOS Método de Bendschneider y Robinson (1952)

4.3.5.1 Alcances y campo de aplicación

Los nitritos en el mar son una forma intermedia en la reducción microbiana del nitrato o en la oxidación del amonio. Además el nitrito puede ser desechado por el fitoplancton, especialmente durante los periodos de abundante alimentación, una sobre cantidad de nitrato y fosfatos estimula a un copioso afloramiento del plancton (Martín, 1968; Grasshoff, 1967). Los niveles naturales de nitritos en el agua son usualmente bajos ($< 0.1 \mu\text{g at NO}_2^- - \text{N/l}$) pero en zonas donde las condiciones nóxicas cambian a condiciones anóxicas puede generarse una capa delgada de alta concentración de nitritos ($> 2 \mu\text{g-at NO}_2^- - \text{N/l}$) junto con bajas concentraciones de oxígeno disuelto ($> 0.15 \text{ ml/l}$) como fue reportado en el Pacífico Este Tropical por Brandhort (1959).

En áreas de afloramiento, elevados valores de nitritos ($1-2 \mu\text{g-at NO}_2^- - \text{N}$) indican alta productividad primaria (Grasshoff), se ha observado valores mayores de $9 \mu\text{g-at NO}_2^- - \text{N/l}$ en el Straits of el Mandeb, (Grasshoff, 1975). Los altos valores de nitritos pueden además indicar contaminación de aguas en las cercanías de colectores submarinos y estuarios.

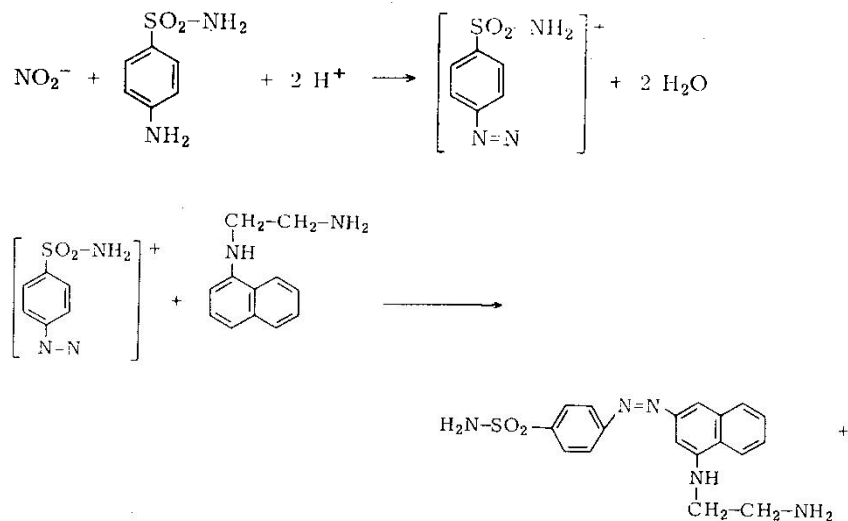
El método es aplicable a todo tipo de aguas, especialmente agua de mar. La reacción colorimétrica es específica para iones nitrito, sin embargo, puede causar interferencias, los iones Cu^{++} en concentraciones mayores de 0.5 mg/l , los iones sulfuros en concentraciones superiores a $60 \mu\text{g de S=1}$. Las interferencias causadas por iones Cu^{++} y materia orgánica se eliminan por

tratamiento con EDTA (US.EPA, 1979). La interferencia de los iones sulfuro requiere de un tratamiento con Cd^{++} o Hg^{++} (TIMMER TEN HOOR, 1974). La mínima cantidad de nitrito detectable por este método, usando celda de 10 cm es $0.01 \mu\text{g-at.N-NO}_2\text{I}$.

4.3.5.2 Principio

La determinación del nitrito esta basada en la clásica reacción de Griess, en la cual el ion nitrito a pH entre 1.5 y 2.0 es diazotada con sulfanilamida para dar un compuesto azo, el cual en presencia de diclorhidrato de N-(1-naftil) etilendiamina forma un compuesto azoico altamente coloreado, cuya absorbancia se mide espectrofotométricamente a 545 nm.

La reacción se puede formular de la siguiente manera:



4.3.5.3 Equipos y materiales

- Espectrofotómetro VIS, con rango espectral de 400 - 900nm
- Celdas de 1 y 5 cm de paso óptico
- Tubos de ensayo.
- Dosificadores o pipetas de 1 ml.
- Probeta de 50 ml.
- Botellas de 250 ml de polietileno.
- Frasco lavador o pisceta
- Papel tissue tipo Kleenex.

4.3.5.4 Reactivos

- **Reactivo sulfanilamida:** 8 g de sulfanilamida es disuelta con 80 ml HCl concentrado y se enrasa hasta 500 ml con H_2O destilada. El reactivo es estable varios meses.
- **Reactivo n-(1-naftil) etilendiamina dicloruro:** 0.8 g de n-(1-naftil) etilendiamina dicloruro es disuelto en 500 ml de agua destilada. La solución debe guardarse en una botella oscura y puede durar meses sin sufrir ninguna alteración.

- **Solución stock de nitrito:** Secar por varias horas a 110°C NaNO_2 p.a. Disolver 0.3449 g de la sal en agua destilada y diluir a 1000 ml. Almacenar la solución en un frasco ámbar con 1 ml de cloroformo para su preservación.
- **Solución de trabajo de nitrito:** Transferir 10 ml de la solución stock a una fiola y diluir a 1000 ml con agua destilada. La solución debe ser usada el mismo día. 1 ml contiene 0.05 $\mu\text{moles N-NO}_2$.

4.3.5.5 Toma y preservación de la muestra

La colección de muestras se realiza mediante el uso de botellas NISKIN, de ésta se transfiere a una botellas de polietileno de 250 ml, previamente lavada y purgada con muestra. Normalmente, la cantidad colectada en la última botella, sirve para efectuar todos los análisis de nutrientes.

Es conveniente efectuar el análisis inmediatamente después de realizada la colección, pero si esto no es posible se deben almacenar en un sitio oscuro y congeladas a -20°C . Es preferible el uso de congelación instantánea con CO_2 .

Se debe evitar la filtración de muestras turbias, y usar un pretratamiento de la muestra sólo en caso extremo: Agregar 0.2 ml de sulfato de magnesio y 0.2 ml de una solución de hidróxido de sodio 4 Molar por cada 100 ml de muestra agitar y después de 30 minutos, tomar para el análisis la parte decantada.

4.3.5.6 Procedimiento analítico

4.3.5.6.1 Análisis

- (a) Medir 25 ml de muestra y transferirla a un tubo de ensayo.
- (b) Adicionar 1 ml de reactivo de sulfanilamida y agitar.
- (c) Esperar por espacio de 3 a 7 minutos para que reaccione completamente la solución con la sulfanilamida.
- (d) Adicionar 1 ml de reactivo N (1-Naftil) etilendiamina dicloruro y agitar.
- (e) Esperar 10 minutos para que se establezca el complejo formado.
- (f) Leer la absorbancia a 545nm usando celda de 1 cm ó 5 cm según sea la concentración del nitrito.
- (g) Realizar un blanco con agua destilada, y agregarle los mismos reactivos y en la misma proporción que en la muestra.

4.3.5.6.2 Calibración

Usando la solución de trabajo para nitritos se preparan estándares con agua destilada, para lo cual se puede emplear la siguiente tabla:

TABLA N° 3
Preparación de los Estándares de Trabajo de Nitrato

ml de la solución de Trabajo/ 100 ml de H ₂ O destilada	μ moles / litro N-NO ₂
0.10	0.05
0.20	0.10
0.50	0.25
1.00	0.50
2.00	1.00

Se transfieren 25 ml de los estándares preparados a un erlenmeyer. Se emplea agua destilada como blanco. Se agregan los reactivos como se indica en el siguiente párrafo. La absorbancia corregida por el blanco de reactivos es planteada y debe ser una ecuación lineal. En una celda de 10 cm la concentración de 1 μmmole/litro N-NO₂ tiene una absorbancia de 0.500.

4.3.5.6.3 Observaciones

- (a) Se recomienda mantener el ambiente en un rango de 15 a 20°C.
- (b) El desarrollo de la coloración se completa a los 10 minutos y permanece constante por lo menos 2 horas, después de los cuales puede haber alteración.

4.3.5.6.4 Cálculos y reporte de resultados

Con los datos obtenidos en la calibración plotear absorbancia versus concentración de los estándares, en la ecuación lineal obtenida, se halla los valores de la pendiente y intercepto de la recta con el eje y, con el gráfico obtenido se puede hallar la concentración para cada absorbancia. Sin embargo, ya que esta recta obedece a la fórmula de una ecuación lineal, matemáticamente se puede calcular la pendiente por la intercepción y conociendo la absorbancia en una muestra se puede calcular su concentración.

Ecuación de la recta ajustada:

$$A = mC + b$$

Despejando

$$C = A - b / m$$

$$b = (\sum y - b \sum x) / n$$

$$m = (n \cdot \sum x - \sum y) / n \sum x^2 - (\sum x)^2$$

Donde:

A = Absorbancia

m = Pendiente de la recta

b = Intercepto de la recta con el eje de abscisa y

C = Concentración

Por ejemplo: En una celda de 5 cm, los estándares preparados tienen las siguientes lecturas de absorbancia

Concentración µg-at/l X	Absorvancia Y
0.00	0.00
0.005	0.020
0.10	0.033
0.25	0.069
0.50	0.136
1.00	0.250

$$C = A - 0.0057782/0.2491213$$

En una muestra donde su absorbancia a 545 nm es 0.036, su concentración se puede determinar de la siguiente manera:

$$C = 0.036 - 0.0057782/0.2491213$$

$$C = 0.12 \text{ µg-at/l}$$

4.3.5.7 Presentación de Informe

El informe de laboratorio comprenderá los elementos descritos en el capítulo 5, parte 5.1.

4.3.6 DETERMINACIÓN DE NITRATOS Método de Koroleff, 1973

4.3.6.1 Alcances y campo de aplicación

El nitrato es el producto final de la oxidación de los compuestos de nitrógeno con el agua de mar y es importante porque es necesario en el intercambio continuo y balanceado de nitrógeno entre los organismos residentes y su medio ambiente. Este método basado en una publicación previa (Koroleff, 1973) es aplicable para la determinación de la suma de nitrato y nitrito, en aguas naturales. Si la muestra contiene considerable cantidad de nitrito, se debe hacer una determinación separada y el resultado restarlo del obtenido con este método.

Concentraciones de nitrato hasta 40 $\mu\text{g-moles/L}$ de nitrógeno ($\text{NO}_3\text{-N}$) puede determinarse sin dilución previa de la muestra.

La reacción colorimétrica es casi específica para los iones nitritos; sin embargo, puede ocurrir interferencias causadas por aminas aromáticas, cobre ($>0.5 \text{ mg/L}$) y ion yoduro ($>0.1 \text{ mg/L}$), materia suspendida y un fuerte color en la muestra también pueden interferir. En lugar de filtrar la muestra usar la técnica de precipitación. Así moderadas cantidades de material suspendido pueden ser tolerados, ya que será atrapado en la columna de reducción.

En concentraciones más altas que 15 $\mu\text{-moles/L}$ de $\text{NO}_3\text{-N}$ en agua de mar las sales disueltas causan una desviación de la relación lineal entre la concentración y la intensidad complejo nitrito coloreado.

4.3.6.2 Principio

El nitrato es reducido a nitrito cuantitativamente (cerca de 90 a 95%) mediante cadmio amalgamado. Se determina entonces el nitrito de acuerdo a la clásica reacción de Gries como se describe en el método para análisis de nitrito.

La reacción se lleva a cabo en un pH aproximado de 8.5, un buffer de cloruro de amonio se adiciona a la muestra para controlar el pH y acomplejar los iones de cadmio liberado.

El nitrato de agua de mar es reducido cuantitativamente a nitrito cuando la muestra pasa a través de una columna que contienen amalgama de cadmio cubierto con cobre metálico. La principal reacción así producida es:



El campo de la reducción del nitrato a nitrito depende del metal utilizado en la reducción, del pH de la solución y de la actividad de la superficie del metal. La fuerza electromotriz del estándar en un medio alcalino o neutro. La fuerza estándar en un medio alcalino o neutro es



La empaquetadura de cadmio limado o granular con cobre es muy aplicable para una reducción heterogénea, pero en un medio neutro o débilmente alcalino los iones cadmios formado durante la reducción del nitrato reaccionan con los iones hidróxidos y forman un precipitado. Además el potencial de

reducción necesario para la reducción de nitrato a nitrito es dependiente de la actividad de los iones hidrógenos de acuerdo a la siguiente ecuación de Nerst:

$$E = E_0 - [RT \div nF] \cdot \ln [a_{\text{NO}_2^-} \cdot a_{\text{OH}^-}^2 \div a_{\text{NO}_3^-}]$$

Esto implica que el pH cambia si la solución no ha sido bufferizada especialmente en la proximidad de la superficie del metal. El agua de mar tiene una capacidad límite de buffer, sin embargo, esta no es suficiente. El cloruro de amonio es agregado como un complejante y un buffer.



Lo que determina que la reducción proceda de acuerdo a la reacción



Como se puede observar para estas dos últimas ecuaciones (2) y (4) los dos iones hidroxilos formados están estequiometricamente balanceados y el amonio es limitante en el complejo diamino.

El tiempo durante el cual el nitrato (reducido a nitrito) está en contacto con el metal debe ser; sin embargo, controlado con ciertos límites. Bajo condiciones controladas, el nitrito original presente en la muestra de agua pasa al reductor sin aproximarse a la reducción. Esta cantidad de nitrito debe ser considerada y sustraída de la cantidad total medida. El nitrito así producido es determinado por diazotación con sulfanilamida y copulación con N-(1-naftil) etilendiamina al formar un tinte altamente coloreado cuya extensión es medida.

4.3.6.3 Equipos y materiales

- Columnas reductoras
- Probetas de 50 ml de capacidad
- Espectrofotómetro UV/VIS, para uso a 545 nm provistos con celdas de 1 cm y/o 5 cm de longitud.
- Dispensadores de 0.5 ml y 1 ml.
- Fiolas de 50 ml de capacidad

4.3.6.4 Reactivos

Generalmente el uso de agua destilada o desionizada, debería ser la apropiado para el análisis de nitritos así como para el de nitratos. Por lo tanto si se encuentran problemas en la calidad del agua debe prepararse agua libre de nitrógeno. El agua es destilada en un equipo todo de vidrio, para lo cual se adiciona por cada litro, 2 ml de ácido sulfúrico concentrado y 1g de persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$). Todos los reactivos deben ser de grado p.a. (para análisis).

- **Acido clorhídrico 0.5 moles/L:** Se diluye 10 ml de ácido clorhídrico, de densidad 1.19 g/ml en 250 ml de agua destilada.
- **Solución de cloruro mercúrico al 1%:** Se disuelve 1 g de HgCl_2 en 100 ml de agua destilada

- **Acido clorhídrico 2 moles/L:** Se diluye 166 ml de HCl concentrado, de densidad 1.19 g/ml en 1 litro de agua destilada.
- **Solución buffer concentrada-cloruro de amonio:** Se disuelve 250 g de NH_4Cl en agua destilada; se adiciona 25 ml de hidróxido de amonio concentrado de densidad 0.91 g/ml y se diluye a 1 litro.
- **Solución buffer diluida:** Se diluye 20 ml de buffer concentrado en 1 litro de agua destilada. Se renueva diariamente.
- **Solución ácida de lavado:** Se disuelve 4 g de NH_4Cl en agua destilada, se adiciona 15 ml de HCl 2 moles/ L y se diluye a 1 litro.
- **Reactivo sulfanilamida:** (el mismo reactivo para la determinación de nitrito). Se disuelve 8 g de sulfanilamida $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$, en una mezcla de 80 ml de HCl concentrado (densidad 1.19 g/ml) y 400 ml de agua destilada y se diluye a 500 ml. El reactivo es estable por varios meses.
- **Solución N (1-Naftil)-dicloruro etilendiamina:** Se disuelve 0.8 g $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2\text{HCl}$ en agua y se diluye a 500 ml. Se debe almacenar la solución en una botella oscura. Renovar la solución una vez al mes o cuando aparece un fuerte color marrón.
- **Solución sulfato de magnesio (2 moles/L):** Se disuelve 50 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y se diluye a 1 litro.
- **Solución hidróxido de sodio 4 moles/L:** Se disuelve 160 g de NaOH en agua destilada y se diluye a 1 litro.
- **Solución Stock de nitrato:** Se disuelve 1.0111 g de nitrato de potasio KNO_3 en agua destilada y se diluye a 1 litro. Se adiciona 1 ml de cloroformo como preservante. La solución es estable por varios meses si se previene la evaporación. 1 ml = 10.0 $\mu\text{g-at}$ = 140 μg $\text{NO}_3^- \text{N}$
- **Solución de nitrato diluido:** 10 ml de la solución stock se diluye en 1 litro de agua destilada. 1 ml = 0.1 $\mu\text{g-at}$ = 1.4 μg $\text{NO}_3^- \text{N}$
- **Agua de mar sintética:** Se disuelve 310 g de cloruro de sodio, NaCl, 100 g de sulfato de magnesio $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 0.5 g de bicarbonato de sodio $\text{NaHCO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en 10 ml de agua destilada. La salinidad de esta agua es aproximadamente 33.7%
- **Cadmio Amalgamado:** Advertencia.- El cadmio es un metal venenoso. Por razones de salud ocupacional y de seguridad debería ser manipulado con cuidado. Ejecute todas las operaciones con el metal seco, particularmente los granulados y en un área bien ventilada, por ejemplo con una campana extractora. Nunca inhale el polvo. Si no se dispone de cadmio granulado (por ejemplo Merck cadmio grobgepulvert, zur fullung von reduktoren) tiene que ser preparado de la siguiente forma.
 - (a) Limar las barras del metal cadmio puro (grado reactivo) con una lima de metal de superficie gruesa y coleccionar la fracción que pasa en un tamiz con aberturas de 1 mm y que sea retenido en un tamiz con abertura de 0.5 mm. Se calcula la cantidad requerida de cadmio cerca a 35 g por columna de reducción. Se enjuaga rápidamente las limaduras con solución de HCl 0.5 moles/L y luego con agua

destilada hasta que el agua de enjuague no de reacción de cloruro con el nitrato de plata.

- (b) Transferir cerca de 35 g del metal lavado con una botella de vidrio y llenar la botella con solución de cloruro mercúrico de tal forma que el aire sea excluido de la botella. Sellar la botella con un tapón de vidrio. Después de esta etapa evitar todo contacto entre el aire y el metal. Girar la botella por 90 minutos en una posición horizontal con un equipo adecuado. Abrir la botella y enjuagar por fuera la solución sublimada con agua destilada que es introducida a través de un tubo de vidrio en el fondo de la botella. Colectar la solución sublimada.

4.3.6.5 Toma y preservación de muestra

Las muestras son estables por varias horas en un ambiente frío y en la oscuridad pero el análisis no debe ser demorado por más de 12 horas aproximadamente. Si es inevitable esperar un tiempo mayor debido a la cantidad de muestras, estas deben ser congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un congelador donde no ocurran cambios de temperaturas durante el tiempo de congelamiento después de la toma de la botella NISKIN y de haberla codificado correctamente.

4.3.6.6 Procedimiento analítico

4.3.6.6.1 Preparación de las columnas de reducción

Coloque una pequeña bola de alambre de cobre fino o delgado en el fondo de la columna de reducción. Abrir la botella conteniendo el cobre amalgamado y poner un dedo (o una lámina de jebe) sobre la abertura girar la botella oblicuamente hacia abajo y colocar la abertura debajo de la superficie del agua en la columna reductora. El metal deberá fluir hacia abajo de la columna reductora sin que entre en contacto con el aire. Asegúrese que no se forme cavidades en el reductor. Llène la columna con el metal hasta cerca de 1 cm por debajo del reservorio y coloque en la parte superior fibra de vidrio. Esta operación deberá llevarse a cabo antes ya que todo el líquido que fluye de la columna puede ser colectado y precipitado como se describe abajo. Llenar la columna varias veces con la solución ácida de lavado y con la solución buffer diluida hasta que el efluente de una reacción de una reacción débilmente alcalina, por ejemplo una coloración azul con azul de bromotimol. La columna nunca debe permanecer con la solución ácida de lavado. Una columna recién preparada reduce el nitrato casi inmediatamente con una eficacia del 97 al 100%. Si la eficiencia de reducción decrece por debajo del 85% veces la columna, lave las limaduras rápidamente con 2 moles /litro de HCl y enjuague muy rigurosamente con agua destilada. Seque las limaduras, tamice otra vez y remalgame como se describe anteriormente. Si la columna no da una reducción apropiada cuando está recién preparada puede ser "iniciado" por una corrida de una solución estándar de nitrato, ejemplo $10\text{ }\mu\text{-moles/litro}$. En la mayoría de los casos bastará menos de un litro.

4.3.6.6.2 Reducción de nitrato

- (a) Llenar el reservorio de la columna de reducción con la solución buffer diluida y se deja que fluya. Descartar la solución.
- (b) Llenar el reservorio otra vez con 50 ml de agua destilada y 1 ml de solución buffer. Descartar los primeros 20 ml, el que fluye a través de la columna y coleccionar 25 ml en una fiola volumétrica o tubo de prueba. Proceder en la misma manera con todas las columnas para obtener un valor blanco. Estas muestras son entonces analizadas como se procede para nitrito.
- (c) La eficiencia de reducción de cada columna debe ser controlada para cada batch analítico. La concentración del estándar usado depende de los tipos de rango de concentración de las muestras.
- (d) Se toma 50 ml de muestra, se adiciona 1 ml de la solución buffer concentrada y se mezcla; usar una pipeta automática.
- (e) Decantar la solución en exceso en el reductor, usando un tubo capilar con la punta del capilar de vidrio conectado a una bomba de succión y se procede inversamente al paso siguiente.
- (f) Transferir la muestra completa al reservorio del reductor. Desechar los primeros 10 ml que fluye a través de la columna, y usar 10 ml para enjuagar un frasco volumétrico de 25 ml (o tubo de prueba). Luego coleccionar 25 ml en el frasco o tubo. 50 ml debería fluir a través de la columna en 10 ó 12 minutos. La determinación deberá ser llevada a cabo dentro de 1 hora como máximo.
- (g) Decantar la muestra remanente del reductor y empezar directamente con la siguiente muestra.
- (h) La columna reductora debe ser lavada inmediatamente después de cada batch analítico. Llenar los reservorios dos veces con la solución buffer diluida cubrir los reductores y asegurar que no se sequen.
- (i) A 25 ml de la muestra reducida, previamente del reductor, adicionar a las muestras, soluciones estándares y muestras blancas 0.5 ml de solución sulfanilamida y mezclar. Después de no menos de 3 minutos y no más de 8 minutos, adicionar 0.5 ml de N-(1-naftil)-etilendiamina en solución y mezclar nuevamente.
- (j) La absorbancia de la muestra coloreada se mide después de 10 minutos; pero dentro de las 2 horas contra la muestra de referencia a 545 nm. Usar una celda de 1 cm o 2 cm dependiendo de la intensidad del color. (la absorbancia de la muestra blanca contra el agua no debería excederse en 0.010; medida en una celda de 1 cm).

4.3.6.6.3 Calibración

Se prepara una serie de concentraciones de estándares de la solución stock de nitrato y la solución de nitrato diluida por dilución con agua destilada, o con agua de mar sintética. Cuando no hay errores por sales una concentración por debajo de 15 μ moles/litro no necesitará agua de mar sintética.

Cuando se calibre varias columnas se debe preparar las soluciones estándares en cantidades de por lo menos 1 litro de acuerdo a la tabla 4.

TABLA N° 4
Preparación de los Estándares de Trabajo de Nitrato

ml Solución de nitrato diluido / 1000 ml	μ moles / litro
1.00	0.10
5.00	0.50
10.00	1.00
50.00	5.00
2.00	1.00
ml Solución de nitrato diluido / 1000 ml	μ moles / litro
1.00	10.00
2.00	20.00
3.00	30.00
4.00	40.00

Las soluciones estándares se analizan como se describen abajo. Se debe analizar cada solución por duplicado.

Se plotea absorbancia versus concentración para cada una de las columnas de reducción. Si los resultados son muy uniformes de columnas a columnas, puede usarse un gráfico de calibración para la subsecuente evaluación de las muestras. Sin embargo en la mayoría de las veces se requerirá un gráfico para cada columna.

Si las muestras han sido tratadas de acuerdo al procedimiento de precipitación en el párrafo 9.5, entonces las soluciones de calibración y las muestras en blanco deberían ser tratadas en la misma forma.

4.3.6.6.4 Cálculo y reporte de resultados

Restar la absorbancia de la muestra en blanco de las absorbancias de las muestras y evaluar sus concentraciones del gráfico de calibración. Para análisis de rutina, se calcula un factor de calibración seleccionando del gráfico, un valor de absorbancia (ejemplo 0.715) y encontrar su correspondiente concentración (por ejemplo 13.9 μ moles/ litros) y calcular:

$$F_{1\text{cm}} = 13.9/0.715 \quad \text{que da} \quad F_{1\text{cm}} = 19.44$$

Por lo tanto la concentración de una muestra; en μ moles/litro, se encuentra multiplicando su absorbancia, corregida por la absorbancia causada por el blanco por el factor F.

El resultado obtenido es la suma de la concentración de nitrógeno como nitrito y nitrato en cada muestra. Si una muestra contiene una concentración significativa de nitrito, este debe ser compensado restando el resultado encontrado de una determinación separada para nitrito de acuerdo a los métodos previos.

Si la muestra fue diluida antes de la reducción este debe ser tomado en cuenta en el cálculo:

$$\mu \text{ moles /litro NO}_3 \text{ -N} = AXB/V$$

Donde:

A = Concentración de nitrato, μ moles/litro, como se obtiene del gráfico de calibración.

B = Volumen final, después de la dilución.

V = ml de la muestra original ante de la dilución.

Por ejemplo:

De 25 ml de muestra que fue diluida a 100 ml y de este se analizo 50 ml. El resultado obtenido del gráfico de calibración fue 26 μ moles.

Luego: $26 \times 100/25 = 104 \mu\text{moles/litro NO}_3\text{-N}$

Para chequear la eficiencia de la reducción del reductor se analiza una solución estándar de nitrato de concentración de 1 μ moles/litro y una absorbancia de 0.241 usando una celda de 5 cm, un análisis de la solución de nitrito con la misma concentración da una absorbancia de 0.258 bajo las mismas condiciones. La eficiencia de reducción es entonces:

$$0.241 \times 100/0.258 = 93 \%$$



4.3.6.7 Presentación de Informe

El informe de laboratorio comprenderá los elementos descritos en el capítulo 5, parte 5.1.

4.3.7 DETERMINACIÓN DE AMONIO Método de Koroleff

4.3.7.1 Alcance y campo de aplicación

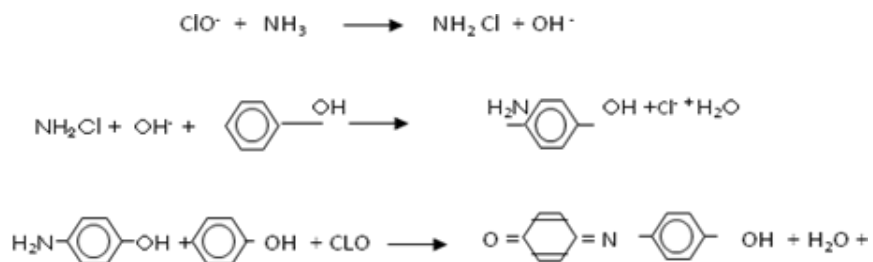
El conocimiento del contenido de amonio en agua de mar es de valor considerable para el estudio del ciclo del nitrógeno en los océanos. El amonio en el mar proviene principalmente de las excreciones de animales marinos y descomposición de compuestos orgánicos nitrogenados, provenientes a su vez de organismos muertos. Diversos organismos fitoplanctónicos utilizan el amonio y lo convierten nuevamente en compuestos orgánicos nitrogenados, o puede ser oxidado por acción química fotoquímica o bacteriana a nitrito, y luego a nitrato.

Aunque en la actualidad, existen diversos métodos para determinación de amonio, el método propuesto por Riley (1953) y modificado por Strickland y Parsons (1968- 1972) es el de más uso y se conoce ampliamente como el método de azul de indofenol.

4.3.7.2 Principio

El método es específico para ión amonio y aplicable a todo tipo de aguas naturales. La mínima cantidad de amonio detectable en celda de 10cm es de 0.1 ug.at.N-NH₄⁺/l.

El ión amonio presente en el agua de mar, se hace reaccionar con una solución alcalina que contiene hipoclorito de sodio para formar monocloroamina, la cual en presencia de fenol cataliza cantidades de nitroprussiato y en exceso de hipoclorito forma el indofenol azul y un complejo de citrato con los iones Ca⁺⁺ y Mg⁺⁺, eliminando así, la interferencia que éstos puedan causar al precipitarse durante el análisis.



4.3.7.3 Equipos y materiales

- Espectrofotómetro UV/VIS con un rango de 400-900nm
- Celda de vidrio de 10 cm (celdas de paso óptico).
- Tubos de ensayo # 9820.
- Pipetas automáticas.
- Probeta de 50 ml.
- Kleenex (papel Tissú).
- Frasco lavador
- Botellas de polietileno de 250 ml.

4.3.7.4 Reactivos

- **Agua libre de amonio:** Es muy difícil obtener agua destilada libre completamente de amonio. La siguiente preparación es usada para este fin. Agregar junto al agua destilada con 15 ml de NaOH y 1 g de $K_2S_2O_8$ por cada litro de agua que se emplee a un balón apropiado de destilación. Llevar a ebullición sin cerrar el sistema de destilación y hervir por 10 minutos, entonces conecte el condensador y destile, los primeros 150 ml eliminarlos y continúe la destilación. E preferible usar un sistema cerrado de destilación. Cuando el agua obtenida esta recientemente preparada es libre de amonio y nitrito.
- **Hidróxido de sodio 0.5 N:** Disolver 20 g de hidróxido de sodio en agua libre de NH_3 , diluir a un litro. Almacenar en botella de polietileno.
- **Solución de fenol:** Disolver 38g de fenol y 400 mg de nitroprusiato de disodio dihidratado $Na_2Fe(CN)_5NO \cdot 2H_2O$, en agua libre de amonio y diluir a un litro. El fenol puede tener un color pálido. Almacenar en un refrigerador en una botella ámbar. El reactivo es estable por meses.
- **Hipoclorito de sodio solución stock:** Se puede emplear una solución blanqueadora común, usualmente de 5% y 0.4 N de NaOH. El contenido de cloro puede ser determinado como de la siguiente manera: Agregar 1.0 ml de la solución de hipoclorito y titular el yodo liberado con 0.1 N tiosulfato en la manera usual.
- **Reactivo de hipoclorito:** Diluir la solución stock con Hidróxido de sodio 0.5 N hasta obtener una solución 0.15 % ó 150 mg de cloruro por 100 ml. Almacenar la solución en una botella de vidrio con tapa de plástico.
- **Solución de tri-sodium citrato:** Disolver los 240 g de trisodium citrato dihidratado en $C_6H_5NaO_7$, en 500 ml de agua destilada. Hacer la solución alcalina con 20 ml de 0.5 N NaOH. Agregar perlas de ebullición y eliminar el amonio por ebullición. Hervir hasta un volumen inferior de 0.5 litros. Enfriar y diluir a 500 ml con agua libre de amonio. Almacenar en una botella con tapa de plástica. La solución es estable.
- **Solución stock estándar:** Secar cloruro de amonio NH_4Cl a 100 °C. Disolver 53.5 mg en agua libre de amonio y diluir a 100 ml. Preservar con unas gotas de cloroformo. Mantener la solución en una botella de vidrio la solución es estable si se mantiene refrigerada. El estándar contiene 10 μ g-at = 140 μ g N por ml.

4.3.7.5 Toma y preservación de muestra

La colección de muestras se realiza mediante el uso de botellas Niskin, de ésta se transfiere a una botella de polietileno de 250 ml, previamente lavada y purgada con muestra.

Se toma la muestra seguidamente de la toma de sulfuros, hasta el enrase y tapar inmediatamente, para evitar que la muestra coja del ambiente amoniaco.

Es conveniente coleccionar la muestra en una botella de vidrio o polietileno diferente que para las muestras par nutrientes de 0.5 litros medido directamente de la botella muestreadora. La muestra se guardara en un refrigerador hasta que el análisis sea ejecutado. Sin embargo, para el amonio este análisis debe ser ejecutado sin demora entre las tres horas de colección de la muestra.

Si las muestras no son frías deben ser analizadas inmediatamente después de la colección. Esto es muy importante en zonas de alta productividad.

4.3.7.6 Procedimiento analítico

4.3.7.6.1 Análisis

Normalmente la concentración de amonio en aguas naturales es de tal orden que el siguiente procedimiento puede ser aplicado a muestras no diluidas. Como regla general, para aguas oxigenadas si después de 5 minutos de agregar los reactivos esta aún permanece sin colorear no es necesario diluir la muestra. Para aguas anóxicas, que contiene cantidades de hidrógeno de sulfuro, debe sin embargo diluirse la muestra hasta que contenga cerca de 2 mg/L de sulfuro.

- (a) Medir con una pipeta 35ml de muestra.
- (b) Transferirla a un tubo de ensayo # 9820.
- (c) Adicionar 1 ml de solución de citrato, 1 ml de fenol y 1 ml de hipoclorito a la muestra contenida en el tubo de prueba.
- (d) Después de agregar los reactivos tapar herméticamente con un tapón inmediatamente el tubo con la muestra y reactivos con un tapón y agitar suavemente.
- (e) Realizar un blanco, con agua bidestilada libre de amoniaco, agregar los mismos reactivos como a las muestras y tapar el frasco o tubo que contiene la muestra y reactivos con un tapón de caucho.
- (f) Dejar a que se forme el complejo por lo menos 3 horas para agua dulce y no menos de seis horas para agua de mar a una temperatura entre 20 a 27°C en absoluta oscuridad. Una vez formado el complejo este es estable por lo menos 30 horas si el tubo donde se ha producido la reacción esta bien sellado.
- (g) Medir la absorbancia de la solución a 630 nm en una celda de 10 cm.

4.3.7.6.2 Calibración

El análisis debe ser ejecutado en un ambiente bien ventilado donde no existan soluciones amoniacaes. Se debe prohibir estrictamente fumar en este ambiente.

Diluir la solución estándar de con agua libre de amonio hasta obtener 1 µg-at NL-1. Esta solución debe ser utilizada el mismo día de preparación. Tomar por lo menos tres porciones de 35 ml cada una con una probeta graduada de 50 ml y vaciar el volumen medido en un tubo de prueba el cual ha sido limpiado previamente con ácido y enjuagado rigurosamente. Adicionalmente tomar tres porciones de 35 ml de agua libre de amoniaco como blanco de reactivo. Esta agua debe ser tomada de la misma empleada para la preparación de los estándares de trabajo. Agregar a cada muestra: 1 ml de solución de citrato, 1 ml de reactivo de fenol y 1 ml de reactivo de hipoclorito. Mezclar bien por agitación entre adiciones. Cerrar los tubos y dejar en la oscuridad por lo menos 3 horas. Medir la absorbancia en una celda de 10 cm a 630 nm. Emplee una celda de similar longitud con agua acidificada como referencia.

Calcular el factor de calibración F desde la siguiente expresión:

$$F \cdot 10_{\text{cm}} = 1.0 / A_{\text{st}} - A_{\text{b}}$$

Donde A_{st} es la absorbancia promedio de los estándares y A_{b} el promedio de los blancos. El valor de F debe ser cercano a 5.0 y necesita ser chequeado temporalmente. Para más altas concentraciones donde una celda de 1 cm es usada, el factor de ser asumido igual a 10. F10. Sin embargo, este factor solo es valido para absorbancias menores a 0.750. Para cantidades mayores, una curva de calibración debe ser elaborada en la forma usual.

Para trabajos exclusivamente en aguas oceánicas, el factor de calibración es determinado usando la solución estándar diluida con agua de mar de bajo contenido en amonio. Se procede de la misma forma que en el procedimiento anterior, pero dejando que las muestras formen el complejo en un tiempo no menor de 6 horas o preferiblemente toda una noche antes de medir su absorbancia. El valor de F debe ser cerca a 5.3, en caso que se emplee una celda de 10 cm.

4.3.7.6.3 Determinación del blanco

Blanco de celda a celda

Debido al defecto óptico de las cubetas de absorbancia la lectura entre la muestra y la celda de referencia con agua destilada casi nunca es cero. Esta pequeña absorbancia A_{c} debe ser restada de la lectura de la muestra.

Blanco de reactivo

Si el agua destilada esta recientemente preparada y se considera que esta libre de amonio, el blanco de absorbancia A_{b} en la calibración incluye solo la absorbancia que surge desde los reactivos del blanco de celda a celda, así:

$$A_{\text{rb}} = A_{\text{b}} - A_{\text{c}}$$

Con trazas de amonio en el agua bidestilada el blanco de reactivo es determinado de la siguiente manera:

Determinar A_{b} como se describe en la calibración. Determinar además $A_{1.5\text{b}}$ agregando 1.5 ml de cada uno de los reactivos a 33.5 ml de la misma muestra de agua. El blanco de reactivo será $A_{\text{rb}} = 2 (A_{1.5\text{b}} - A_{\text{b}})$. El blanco de reactivo debe ser determinado en intervalos regulares desde que los reactivos pueden adsorber amonio de la atmósfera. Si se emplea el factor de aguas oceánicas, la absorbancia del blanco de reactivo es $A_{\text{rb}} \cdot 10^8$.

4.3.7.6.4 Observaciones

- (a) Si el análisis no se puede realizar inmediatamente después de tomadas las muestras, es necesario almacenarlas completamente congeladas.
- (b) Todo el material de vidrio a ser utilizado debe lavarse con ácido clorhídrico diluido (1%), y enjuagarse con agua bidestilada libre de amonio.
- (c) Bajo ninguna circunstancia se debe abrir un frasco que contenga amoniaco cuando esté efectuando el análisis de amonio.
- (d) Se debe de realizar inmediatamente el análisis y tapar las muestras herméticamente para reducir el peligro de contaminación de amoniaco de la atmósfera.

4.3.7.6.5 Efecto de la salinidad

En la calibración del factor desde agua destilada y agua de mar, el color producido por la misma cantidad de amonio es reducido por efecto de la salinidad. Este efecto de la salinidad es debido: a) La concentración de magnesio y b) La capacidad buffer del agua de mar. Incrementándose en presencia de magnesio y la capacidad buffer, decreciendo la reacción final. Consecuentemente el efecto de la salinidad puede ser asumido como un efecto del pH. Los cloruros no producen ningún efecto.

Para trabajos sobre muestras salobres, donde se espera que haya variaciones grandes de salinidad este efecto puede ser determinada por el factor SEF dado en la siguiente tabla:

S ‰	O-8	11	14	17	20	23	27	30	33	36
PH	11.4 A 10.8	10.6	10.5	10.4	10.3	10.2	10.0	9.95	9.90	9.80
SEH	1.00	1.01	1.02	1.03	1.04	1.05	1.06	1.07	1.08	1.09

4.3.7.6.6 Cálculos y reporte de los resultados

$$\mu\text{g-at NH}_3\text{-N/L} = F_{\text{H}_2\text{O}} [\text{SEF} (A_s \cdot A_c \text{ o } A_t) - A_{\text{tb}}]$$

Donde A_t es la turbidez medida en la muestra y SEF el efecto de la salinidad de la tabla anterior.

La muestra para la determinación de A_t es preparada por adición de 1 ml de la solución de citrato y 2 ml de agua destilada a la muestra de 35 ml. Para mediciones precisas, esta lectura debe ser tomada usando una celda de 10 cm o 5 cm.

4.3.7.7 Presentación de Informe

El informe de laboratorio comprenderá los elementos descritos en el capítulo 5, parte 5.1.

4.3.8 DETERMINACIÓN DE SILICATOS Método de Grasshoff.

4.3.8.1 Alcance y aplicaciones

La sílice se considera un nutriente porque es un constituyente de las diatomeas y otros organismos fitoplanctónicos.

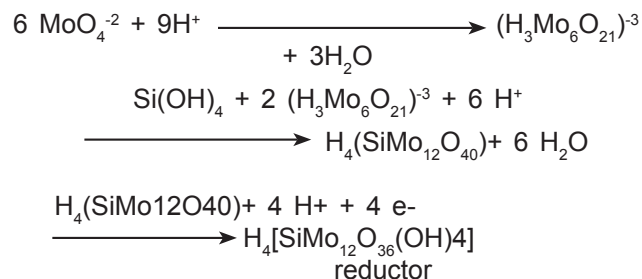
Grasshoff (1984) ha desarrollado un método basado en la formación del ∞ isómero a un pH entre 3.7 a 4.0, y la estabilidad del color en agua de mar es estable (después de dos horas) por días.

Este método es aplicable sólo a silicato reactivo en todo tipo de aguas naturales, especialmente agua de mar. También para desechos domésticos e industriales. La mínima cantidad de silicato detectable por este método, usando celda de 1cm es de $0,1\mu\text{g-at SiO}_3/\text{L}$.

4.3.8.2 Principio

La determinación de silicato disuelto en aguas naturales esta basado en la formación del ácido amarillo de silicomolibdato, cuando una muestra ácida en mayor o menor grado es tratada con reactivo de molibdato. Solo el ácido silícico y sus dimeros reaccionan con el reactivo de molibdato a una apreciable velocidad y el método por lo tanto da solamente la cantidad de silicato reactivo, el cual es probablemente una medida razonable del silicato posible del crecimiento del fitoplancton.

En este método el ácido ascórbico actúa como reductor.



4.3.8.3 Equipos y materiales

- Espectrofotómetros UV/VIS
- Celda de 1cm de paso
- Frascos de 250 ml de polietileno, con tapa hermética.
- Pipeta de 5 ml.
- Erlenmeyer de 150 ml
- Probeta de 50 ml

4.3.8.4 Reactivos

- **Heptamolibdato de amonio 0,16M:** Diluir 49.5 g de heptamolibdato de amonio con 250 ml de agua destilada, la solución se puede llevar a calor moderado.
- **Acido sulfúrico 3.7 M:** 99 ml de H_2SO_4 son agregados lentamente a 401 ml H_2O destilada.
- **Reactivo molibdato:** Para 250 ml mezclar 125ml de Heptamolibdato de amonio 0.16M +125ml de solución H_2SO_4 3.7 M.
- **Solución de ácido oxálico anhidro 0,7 M:** Disolver 31.5 g de ácido oxálico en 500 ml H_2O destilada
- **Solución ácido ascórbico 0.1 M:** Disolver 4.4 g de ácido ascórbico en 250 ml de agua destilada. Guardar en botella ámbar, el reactivo es estable por semanas.
- **Solución stock de silicato:** Secar a $100^\circ C$ Na_2SiF_6 p.a. Pesar 0.401 g de esta sal y disolverla con agua destilada en un vaso de plástico. Transferir a una fiola de 500 ml y diluir la solución. Finalmente, transferir a una botella de plástico 1 ml contiene 5.0 μ moles de Si. La solución es estable por muchos meses.
- **Solución de sílice de trabajo:** Diluir 50 ml de la solución stock con agua destilada a un volumen de 500 ml en una fiola de plástico. 1 ml de esta solución contiene 0.5 μ moles/litro de Si. Esta solución debe ser usada el mismo día.

4.3.8.5 Toma y preservación de la muestra

La colección de muestra se realiza mediante el uso de botella NISKIN, de ésta se transfiere a una botella de polietileno de 250 ml. Previamente lavada y enjuagada con la muestra.

Se almacena la muestra debidamente rotulada en la congeladora, para su posterior análisis.

La temperatura promedio de congelamiento debe de ser de $-20^\circ C$.

No excederse del tiempo de almacenamiento. Como máximo puede almacenarse la muestra por espacio de 20 a 25 días.

4.3.8.6 Procedimiento analítico

4.3.8.6.1 Análisis

- (a) Medir en una probeta 35 ml de la muestra, y echar este volumen a un erlemeyer para realizar el análisis.
- (b) Añadir 1 ml del reactivo molibdato y agitar, dejar en reposo por espacio de 10 a 20 minutos para agua destilada y 5 a 10 minutos para agua de mar.
- (c) Agregar 1 ml de ácido oxálico.
- (d) Seguidamente añadir 1 ml de ácido ascórbico.
- (e) Esperar por lo menos 30 minutos.
- (f) Leer la absorbancia a 810 nm en celda de 1 cm.

4.3.8.6.2 Calibración

Se prepara estándares a partir de la solución de trabajo de silicato por dilución con agua destilada o agua sintética de mar en fioles aforadas. La tabla siguiente puede ser empleada para fioles de 100 ml. Para análisis de agua de mar de rutina es suficiente preparar las diluciones con la solución de agua sintética de mar que contiene una salinidad representativa y valor promedio de la salinidad del área de trabajo. Sin embargo, para una mayor precisión, este debe ser calibrado con agua destilada y corregir con el error de la salinidad. Esto es de particular importancia en área donde la concentración de silicato en superficie es muy baja como resultado de la producción primaria.

TABLA N° 5
Preparación de los Estándares de Trabajo
para Silicato

ml Solución de trabajo / 1000 ml (diluido con agua sintética de mar o agua destilada)	μ moles / litro Si
0.0	0.0
0.5	2.5
1.0	5.00
2.0	10.0
5.0	25.0
10.0	50.00
20.0	100.00
25.0	125.00
30.00	150.00

4.3.8.6.3 Observaciones

Procesar un blanco de reactivos en agua destilada junto con la muestra, para corregir la absorción de las muestras.

4.3.8.6.4 Cálculos

Para lograr una mayor precisión se debe ajustar la curva de calibración por mínimos cuadrados, calcular de la pendiente e intercepto de la recta ajustada y con esta formula se calcula la concentración desconocida en una muestra.

Ecuación de la recta ajustada:

$$b = (\sum y - b \sum x) / n$$

$$m = (n \cdot \sum x - y) / n \cdot \sum x^2 - (\sum x)^2$$

$$A = mC + b$$

$$C = A - b / m$$

Donde:

A = Absorbancia

m = Pendiente de la recta

b = Intercepto de la recta con el eje de abscisa

C = Concentración

Por ejemplo:

En una celda de 1 cm, los estándares preparados tienen las siguientes lecturas de absorbancia.

Concentración µg-at/l Eje X	Absorbancia Eje Y
0.00	0.00
0.250	0.056
5.00	0.088
10.00	0.179
25.00	0.415
50.00	0.836

En una muestra donde su absorbancia a 810 nm es 0.96 su concentración se puede determinar de la siguiente manera:

$$C = 0.60 - 0.0073416/0.0.165441$$

$$C = 3.18 \text{ µg-at/L}$$

4.3.8.7 Presentación de Informe

El informe de laboratorio comprenderá los elementos descritos en el capítulo 5, parte 5.1.

4.3.9 DETERMINACIÓN DE SALINIDAD

4.3.9.1 Alcance y campo de aplicación

El conocimiento de la salinidad en los estudios oceanográficos tiene importancia, pues es imprescindible para la determinación de corrientes, identificación de masas de aguas transmisión del sonido bajo el agua, etc. Muchos métodos se han desarrollado para su determinación, especialmente a través de la clorinidad, el índice de refracción y la conductividad eléctrica. Brown y Hamon (1961), diseñaron el salinómetro de inducción, que determina la salinidad del agua mediante la medición de la conductividad.

Este método es aplicable a todo tipo de aguas naturales, agua de mar, efluentes domésticos e industriales.

4.3.9.2 Principio

El salinómetro de inducción determina la salinidad del agua de mar mediante la medición de la conductividad eléctrica, la cual tiene relación constante con la clorinidad. Este método esta libre de errores volumétricos, es de fácil aplicación tanto en alta mar como en tierra y su precisión es de 0.0003.

4.3.9.3 Equipos, materiales y reactivos

Salinómetro de inducción: Portasal Guidline 8410
 Botellas plásticas de 250 ml.
 Mangueras de ½ pulgada – balde de plástico
 Agua de mar estándar de aproximadamente 35 ups

4.3.9.4 Toma y preservación de la muestra

De la botella NISKIN, la muestra se pasa a una botella plástica de 250 ml. Lavándola previamente con la muestra.

Las botellas deben cerrarse herméticamente para evitar la evaporación, se transportan al laboratorio donde se dejan temperar como mínimo unas cinco horas para proceder a su análisis.

4.3.9.5 Procedimiento analítico Equipo GUILDLINE 8410

4.3.9.5.1 Medición de la muestra

Las muestras hasta de 15°C menos que la temperatura del baño ó 5°C más que la temperatura del baño se pueden medir si la velocidad de circulación se reduce lo suficiente para permitir que la muestra alcance la temperatura del baño mientras está en el intercambiador de calor, sin embargo, esta práctica puede no dar los resultados más exactos obtenibles. Para medir la conductividad de una muestra dada efectúe lo siguiente:

1. Instale la botella de muestra efectuando los siguientes pasos:
 - (a) Almacene la información pertinente acerca de la muestra de la botella
 - (b) Sacuda suavemente la muestra para eliminar los gradientes
 - (c) Abra la botella y colóquela en el portabotellas, insertando el tubo de recolección en el cuello de la botella y sostenga la boca de la botella sobre el tapón de jebe.1 Asegure que el tubo de recolección llegue casi hasta el fondo de la botella de modo que esa circulación no sea restringida.
 - (d) Eleve la plataforma de la botella para presionar la boca de la botella contra el tapón de jebe haciendo un sello hermético. Asegure la plataforma ajustando el tornillo de mariposa.

Se debe tener cuidado de no contaminar la muestra. Emplee una tela limpia de seda libre de hilachas para limpiar el tubo de recolección, tapón de jebe o cuello de la botella así como guantes quirúrgicos para manipularlos. Eleve el extremo del tubo de recolección para permitir que el agua de muestra en el tubo de recolección sifonee lejos del extremo del tubo.

2. Conecte la **VELOCIDAD DE CIRCULACIÓN** a una velocidad de circulación media y permita que la celda de conductividad se llene con agua de muestra. Si la celda no se llena por completo, cubra el orificio de **DESCARGA** en forma momentánea con la punta del dedo luego deje que se vuelva a llenar luego de incrementar la velocidad de circulación, si es necesario al máximo. Un cambio marcado en el ciclo de servicio de las lámparas calentadoras indica que la velocidad de circulación es demasiado rápida. Lentamente reduzca la velocidad de

circulación hasta que las lámparas del calentador realizan un ciclo a una velocidad regular lenta.

3. Descargue el agua de muestra de la celda colocando la punta del dedo sobre el orificio de aire de **DESCARGA**.
4. Llene y descargue nuevamente
5. Deje que la celda de conductividad se vuelva a llenar y el agua de muestra fluya fuera del **DRENAJE DE LA CELDA**. Asegúrese que no existan burbujas de aire en la celda de conductividad. Luego coloque el switch **FUNCTION en READ**.
6. Presione la tecla **COND**. Deje que se establezca la medición del porcentaje. Observe la medición del porcentaje.
7. Regule el switch **FUNCTION en STDBY**. Descargue y llene la celda de conductividad. Coloque el switch **FUNCTION en READ**. Deje que la medición del porcentaje se establezca. Repita este proceso hasta que la medición concuerde con la descarga previa.
8. Para visualizar la salinidad de muestra en las Unidades de Salinidad Práctica presione la tecla **SAL**.
9. Para filtrar la medición presione la tecla **FLT**.
10. Registre la medición. Para la salida de los datos de muestra del sector a distancia presione la tecla **ENTER** (nota: tanto el porcentaje de conductividad como la salinidad se actualizan cuando cualquiera de los dos es visualizado).
11. Si otra muestra no se va a medir de inmediato deje la botella de muestra en el portabotellas de muestra, coloque el switch **FUNCTION en STDBY** y apague la velocidad de circulación. Si no se va a medir otra muestra por los menos durante 12 horas coloque el switch **FUNCTION en STDBY**, retire la botella de muestra, instale una botella de agua destilada, llene y descargue la celda de conductividad por lo menos durante 3 meses, con la celda de conductividad llena, apague la velocidad de circulación.
12. Retire la botella de muestra efectuando los siguientes pasos:
 - (a) Coloque el switch function en **stdby**
 - (b) Reduzca la velocidad de circulación al mínimo
 - (c) Descargue la celda de conductividad
 - (d) Baje la plataforma de la botella y retire la botella de muestra
 - (e) Limpie el tubo de recolección
 - (f) Eleve y mantenga el extremo del tubo de recolección por encima de la altura del tapón de la botella

4.3.9.5.2 Calibración de Referencia

El instrumento se debe haber activado hasta por un mínimo de 3 horas después que la temperatura del baño empieza a regularse antes de que se efectúe cualquier calibración.

Coloque el switch **FUNCTION** en **STDBY** y presione la tecla **REF**. Después de un retardo de aproximadamente 8 segundos en la visualización se leerá **-REFERENCE xxxxx** y se actualizará por 16 segundos. Luego, en la visualización se leerá **+REFERENCE XXXXX** y se actualizará por 7 segundos, después de lo cual en la visualización se leerá **REFERENCE XXXXX** durante 8 segundos.

Este procedimiento se repetirá por sí mismo hasta que se presione alguna tecla. Cuando se esté satisfecho de que el valor de **-REFERENCE** es el mismo que el valor de **+REFERENCE** presione la tecla **COND**. Los números **-REFERENCE** y **+REFERENCE** deben estabilizarse entre 19750 y 19999.

4.3.9.5.3 Calibración cero

Antes que se efectúe cualquier calibración el instrumento debe estar funcionando por un mínimo de 3 horas estando regulada la temperatura del baño.

Coloque el switch **FUNCTION** en **ZERO** y presione la tecla **COND**. Cuando es satisfactorio que la medición del porcentaje de conductividad cero es estable presione **ZERO**. Entonces en el visor se leerá **ZERO X.XXXXX**. El valor **ZERO** no debe exceder $+ 0.00075$. Cuando se está satisfecho de que este número no está flotando presione la tecla **COND**. Entonces en el visor se leerá **RATIO 0.000 00**.

4.3.9.5.4 Uniformización

Efectúe la Calibración de Referencia y la Calibración Cero descrita anteriormente. Empleando un frasco de Agua de mar Standard², obtenga una buena medición de conductividad según lo descrito en el procedimiento de Medición de Muestras, pasos del 1 al 7 (ver sección 3.5.1). Reduzca la velocidad de circulación al mínimo.

4.3.9.5.5 Observaciones

Una vez que se ha iniciado el siguiente procedimiento no descargue la celda y no mueva el **switch FUNCTION de READ**. Para abrir un frasco, haga una incisión en el vidrio y rómpalo bruscamente. Coloque el adaptador del frasco standard sobre el extremo abierto.

- 1) Deje el switch **FUNCTION** en **READ** y presione **STD**
- 2) Aparecerá lo siguiente:
std standarize
Presione la tecla enter
- 3) Luego se le indicará, por ejemplo:
COND NO 0.99984
Ingrese el porcentaje de conductividad del Agua de Mar Estándar

Luego se le indicará, por ejemplo:

BATCH NO P113

Ingrese al número de lote del Agua de Mar Estándar

4) Luego se le indicará:

INGRESE CUANDO ESTE LISTO

Coloque la velocidad de circulación a una velocidad adecuada, y cuando se encuentre satisfecho que la celda de conductividad está llena y la muestra está circulando, presione la tecla **ENTER**.

5) Brevemente aparecerá midiendo... seguido de, por ejemplo:
STANDARD 4.22000

Cuando está satisfecho que el número **STANDARD** visualizado es estable, presione la tecla **COND**. Esto dará por terminado la operación STD y visualizará el porcentaje de conductividad usando los nuevos valores de calibración.

6) Si no se va a medir de inmediato otra muestra deje el frasco en el porta botellas de muestra, coloque el switch **FUNCTION** en **STDBY** y apague la velocidad de circulación. Si no se va a medir otra muestra por lo menos durante 12 horas coloque el switch **FUNCTION** en **STDBY**, retire el frasco, instale una botella de agua destilada, llene y descargue la celda de conductividad por lo menos 3 veces, luego con la celda de conductividad llena, apague la velocidad de circulación.

7) Retire el frasco efectuando los siguientes pasos:

- (a) Coloque el switch **FUNCTION** en **STDBY**
- (b) Reduzca la velocidad de circulación al mínimo
- (c) Descargue la celda de conductividad
- (d) Baje la plataforma de botellas y retire el frasco
- (e) Limpie el tubo de recolección
- (f) Eleve y mantenga presionado el tubo de recolección por encima de la altura del tapón de la botella

- Botella de 100 ml de capacidad color ámbar, con tapa esmerilada.
- Frascos erlenmeyer de 250 ml
- Bureta automática de 10.0 ml en unidad de 0.05 ml
- Pipetas Volumétricas de 10.0 ml
- Pipetas automáticas de 1.0 ml
- Agitador magnético con sus respectivos imanes

8) Estando el switch **FUNCTION** en **STDBY** registre el porcentaje de conductividad. Si este número cambia en forma significativa el instrumento deberá ser nuevamente estandarizado.

4.3.9.6 Presentación de Informe

El informe de laboratorio comprenderá los elementos descritos en el capítulo 5, parte 5.1.

4.3.10 DETERMINACIÓN SÓLIDOS EN SUSPENSIÓN

4.3.10.1 Alcance y campo de aplicación

Los sólidos en suspensión en el agua de mar son importantes ya que dependiendo de la cantidad existente en un área específica van a permitir el paso de la luz para la realización de las reacciones fotosintéticas.

El siguiente método detallado es aplicable a agua de mar, superficiales, domésticas e industriales.

4.3.10.2 Principio

Los sólidos en suspensión son definidos como los sólidos los cuales son retenidos en un filtro de fibra de vidrio y secados a peso constante a 103 –105 °C.

4.3.10.3 Equipos, materiales y reactivos

- Filtros de fibra de vidrio tales como Millipore AP-40, Reeves Angel 934-AH, Gelman tipo A/E ó equivalente.
- Equipo de filtración, embudos etc.
- Pinzas
- Estufa 103-105 °C
- Desecador
- Balanza Analítica.
- Papel tissue

4.3.10.4 Toma y preservación de la muestra

La colección de la muestra se realiza mediante el uso de botella NISKIN para muestras sub superficiales o un balde para muestras superficiales, se transfiere a una botella de polietileno de 250 ml, previamente lavada y purgada con la muestra. La muestra debe ser excluida de partículas no representativa como escamas, materia fecal, restos de pescado etc.

La botella debe ser rotulada con el nombre de sólidos en suspensión (S.S), fecha, profundidad, y lugar.

La preservación de la muestra no es práctica, los análisis deberían realizarse tan pronto como sea posible, de no ser posible estas deben congelarse a 4 °C para minimizar la descomposición microbiológica de sólidos.

4.3.10.5 Procedimiento analítico

4.3.10.5.1 Preparación de los filtros

Colocar el filtro en el equipo de filtración y lavar por tres veces con 20 ml de agua destilada. Sacar el filtro con ayuda de una pinza del equipo de filtración y secar a una temperatura de 103-105 °C por una hora. Llevarlo al desecador hasta que alcance la temperatura del ambiente y pesar en una balanza analítica. Volver a colocarlo en la estufa por una hora, enfriar y pesar, repetir este procedimiento hasta lograr un peso constante. Pesar el filtro antes de ser utilizado.

4.3.10.5.2 Selección del volumen de muestra

Para un filtro de 4.7 de diámetro es suficiente 100 ml de muestra. Si el peso del residuo capturado es menor que 1.0 mg, el volumen de muestra debe ser incrementado para proveer por lo menos 1.0 mg de residuo.

4.3.10.5.3 Análisis

- (a) Se deja que la muestra alcance la temperatura ambiente
- (b) Colocar un filtro preparado, humedecido con una pequeña cantidad de agua destilada en el equipo de filtración.
- (c) Agitar la muestra de agua vigorosamente y verter el volumen determinado usando una probeta graduada.
- (d) Remover todas las trazas de agua por aplicación continua de vacío después de haber pasado la muestra y lavar el filtro seguidamente con 30 ml de agua destilada en porciones de 10 ml cada una.
- (e) Sacar el filtro con la ayuda de una pinza y secarlo en una estufa por espacio de 2 horas a 103 –105 °C.
- (f) Colocar el filtro en el desecador por espacio de 45 minutos ó hasta que alcance la temperatura ambiente.
- (g) Se pesa el filtro con los sólidos capturado en una balanza analítica.
- (h) Repetir desde 5 – 7 hasta obtener un peso constante.

4.3.10.5.4 Cálculos

Sólidos en Suspensión mg/l = (A –B) x 1000/C

Donde:

A = Peso de filtro (o filtro y cápsula) + Residuo en mg
B = Peso de filtro (o filtro y cápsula) en mg
C = ml de la muestra filtrada

4.3.10.6 Presentación de Informe

El informe de laboratorio comprenderá los elementos descritos en el capítulo 5, parte 5.1.

4.4 ANALISIS DE SEDIMENTO MARINO:

A continuación se detallan las metodologías para los análisis físicos químicos en los sedimentos marinos, la cual se realiza en el Laboratorio Químico y/o prospecciones de la Dirección de Hidrografía y Navegación.

- Textura granulométrica por tamizado
- Textura granulométrica por hidrómetro

4.4.1 DETERMINACIÓN DE LA TEXTURA GRANULOMÉTRICA POR TAMIZADO

4.4.1.1 Alcance y campo de aplicación

En la clasificación de los suelos para los estudios de ingeniería es universalmente acostumbrado utilizar algún tipo de análisis granulométrico. La información obtenida del análisis granulométrico puede en ocasiones utilizarse para predecir movimientos del agua a través del suelo, aún cuando los ensayos de permeabilidad se utilizan más comúnmente.

El proceso de tamizado no provee información sobre la forma de los granos de suelos, si ellos son angulares o redondeados. Solamente da información sobre los granos que pueden pasar, o que orientación adecuada pasa, a través de una malla de abertura rectangular de un cierto tamaño. Obviamente, en muestras de un cierto tamaño no siempre es posible que todas las partículas pasen a través de su tamiz correspondiente.

4.4.1.2 Principio

El análisis granulométrico es un intento de determinar las proporciones relativas de los diferentes tamaños de grano presentes en una masa de suelos dada. Obviamente para obtener un resultado significativo la muestra debe ser estadísticamente representada de la masa de suelos. Como no es físicamente posible determinar el tamaño real de cada partícula independiente de suelo la práctica solamente agrupa los materiales por rangos de tamaño.

Para lograr esto se obtiene la cantidad de material que pasa a través el tamiz con una malla dada pero que es retenido en un siguiente tamiz cuya malla tiene diámetros ligeramente menores a la anterior y se relaciona esta cantidad retenida con el total de a muestra pasada a través de los tamices. Es evidente que el material retenido de esta forma en cualquier tamiz consiste de partículas de muchos tamaños todos los cuales son menores al tamaño de la malla a través de la cual todo el material pasó para mayores que el tamaño de la malla del tamiz en el cual el suelo fue retenido.

4.4.1.3 Equipos y materiales

- Recipientes medianos de polietilenos
- Bolsas de polietileno
- Mortero con pilón
- Guantes
- Brocha de grosor medio
- Cinta adhesiva
- Cápsulas
- Mascarillas
- Draga Van Veen
- Tamizador eléctrico
- Tamices de diferente diámetro de abertura
- Estufa
- Balanza

4.4.1.4 Toma y almacenamiento de muestra

La muestra es extraída con una draga VAN VEEN, se sugiere que la muestra sea lavada antes de ser preservada por congelamiento según el procedimiento analítico para evitar la proliferación de bacterias que usualmente contiene el

fondo marino, en caso contrario la muestra es guardada en una congeladora debidamente rotulada hasta el momento de su análisis.

4.4.1.5 Procedimiento analítico

- (a) Inmediatamente extraída la muestra se lava en un recipiente mediano rotulado (para evitar confusión entre cada muestra) con la finalidad de disminuir la salinidad y se deja con agua hasta que sedimente por un período de tiempo (de preferencia 24 horas).
- (b) Una vez decantada la muestra, se elimina el agua y la muestra se guarda en una bolsa debidamente rotulada, manteniéndose refrigeradas hasta su análisis.
- (c) Se descongela la muestra en el laboratorio, y la muestra se coloca en una cápsula N° 109-6 rotulada, teniendo cuidado de tomar porciones de muestra de diferentes lugares mientras se remueve continuamente hasta lograr la cantidad necesaria.
- (d) Llevar la cápsula con la muestra ha secar en una estufa a una temperatura de 60°C por espacio de 36 horas.
- (e) Una vez seca la muestra pulverizar en un mortero.
- (f) Pesar una cantidad aproximadamente entre 100 a 150 g.
- (g) Colocar la muestra en el tamiz de mayor abertura de la serie de tamices colocados en el agitador electrónico y tamizar aproximadamente durante 5 a 10 minutos, dependiendo de una inspección visual sobre la dificultad probable dada la cantidad de material. En caso de que la serie de tamices no quepa físicamente dentro del agitador automático, es posible hacer el tamizado manual a través de los tamices superiores de diámetro más grueso y removerlos de la serie, ayudándose con una brocha; colocar los tamices restantes en el agitador mecánico. Si no se dispone de agitador mecánico puede hacerse el tamizado impulsando manualmente por cerca.
- (h) Quitar la serie de tamices del agitador mecánico y obtener el peso del material que quedó retenido en cada tamiz.

4.4.1.6 Cálculos

- (a) Sumar los pesos de cada tamiz y comparar el total con el peso total obtenido (el residuo del material procedente del secado al horno con el cual se comenzó). Esta operación permite detectar cualquier pérdida de suelo durante el proceso de tamizado mecánico. Si se tiene una pérdida de más del 2% con respecto al peso original del residuo se considera que el análisis no es satisfactorio y por consiguiente debe repetirse.
- (b) Calcular el porcentaje en cada tamiz dividiendo el peso retenido en cada uno de ellos por el peso de la muestra original. Esto es realizable, ya que el material que haya pasado a través del tamiz 200 pasaría cualquier otro tamiz por encima del tamiz 200 en la serie.

(c) Calcular el porcentaje que pasa comenzando por 100% y sustraer el porcentaje retenido en cada tamiz como un proceso acumulativo.

(d) En general, el porcentaje que pasa se calcula como:

$$\% \text{ que pasa} = \% \text{ que llega} - \% \text{ retenido}$$

4.4.1.7 Observaciones

Si en la bandeja existe más de 50 g. que ha pasado el tapiz N° 200, necesariamente se debe realizarse el método del hidrómetro. Para continuar con el análisis granulométrico.

Porcentaje Retenido: el peso (g) del material que queda retenido en cada tamiz se multiplica por 100 g y se divide por el peso total.

Acumulado del Retenido: Es la suma del porcentaje retenido en cada tamiz

Porcentaje que Pasa: Es el % que no es retenido, comenzando por el 100 % (% más fino).



4.4.1.8 Presentación de Informe

El informe de laboratorio comprenderá los elementos descritos en el capítulo 5, parte 5.1.

Adicionalmente, en el informe deberá ir la Caracterización Mineralógica y Granulométrica de los Sedimentos, tal como se muestra en el anexo D y E, en el que se presenta el formato en el que se vaciara la información de la caracterización mineralógica y granulométrica de los sedimentos, realizada de acuerdo a lo señalado en esta norma. Se entregará la curva granulométrica, dibujando, sobre papel semilogaritmico, el diámetro del material contra el porcentaje que pasa.

4.4.2 DETERMINACIÓN DE LA TEXTURA GRANULOMÉTRICA POR HIDROMETRO

4.4.2.1 Alcance y campo de aplicación

Este método básicamente sirve aproximadamente para la distribución granulométrica de suelos en los cuales existe una cantidad apreciable de partículas inferiores al tamiz N° 200.

El principal objetivo del análisis de hidrómetro es obtener el porcentaje de arcilla (porcentaje mas fino que 0,002 mm) ya que la curva de distribución granulométrica cuando más del 12% del material pasa a través del tamiz N° 200 no es utilizada como criterio dentro de ningún sistema de clasificación de suelos y no existe ningún tipo de conducta de la fracción de suelo cohesivo del suelo dado depende principalmente del tipo y porcentaje de arcilla de suelo presente, de su historia geológica y del contenido de humedad mas que de la distribución misma de los tamaños de la partícula.

4.4.2.2 Principio

El análisis de hidrómetro utiliza la relación entre la velocidad de caída de esferas en un fluido, el diámetro de la esfera, el peso específico tanto de la esfera como del fluido, γ ; a viscosidad del fluido en la forma expresada por del físico Ingles G.G. Stokes.

Al mezclar una cantidad de suelo con agua un pequeño contenido de un agente dispersante para formar una solución de 1,000 cm³, se obtiene una solución con gravedad específica ligeramente mayor que 1,000 (ya que G del agua destilada es 1,000 a 4° C).

El agente dispersante (también llamado defloculante) se añade a la solución para neutralizar las cargas sobre las partículas más pequeñas suelos, que a menudo tienen cargas negativas. Con orientación adecuada, estos granos cargados eléctricamente se atraen entre sí con fuerza suficientes para permanecer unidos, creando así unidades mayores que funcionan como partículas. De acuerdo con la ley de Stokes, estas partículas mayores sedimentarán más rápidamente a través del fluido que las partículas aisladas. El hexametáfosfato de sodio, también llamado metafosfato (Na₆Po₃), y el silicato de sodio o vidrio líquido (Na₃SiO₃), son dos materiales usados muy a menudo como agentes dispersores para neutralizar la carga eléctrica de las partículas de suelos. La cantidad exacta y el tipo de agente dispersantes requeridos dependen del tipo de suelos y pueden ser determinados por ensayo y error.

El metafosfato de sodio produce una solución ácida y por consiguiente se puede esperar una mayor eficacia como agente dispersivo en suelos alcalinos. El silicato de sodio por otra parte, produce una solución alcalina y debería ser más eficiente en suelos ácidos o suelos cuyo pH es menor de 7. Para ser estrictos se debería determinar el pH de la solución antes de utilizar arbitrariamente algún agente dispersante.

4.4.2.3 Equipos y materiales

- Probeta de 1,000 ml (cilindro de sedimentación)
- Vaso de precipitado
- Tapón de caucho N° 1
- Cronómetro

- Termómetro
- Hidrómetro
- Agitador magnético
- Balanza
- Potenciómetro

4.4.2.4 Reactivos

- NaPO_3 (hexa-metafosfato de sodio)
- Na_2SiO_3 (silicato de sodio)

4.4.2.5 Procedimiento analítico

- Tomar Exactamente 50 g de suelo secado al horno y pulverizado (como el que se utilizó en el análisis por tamizado o el que ha quedado en la bandeja).
- Mezclarlo en un vaso precipitado con 125 ml. De solución al 4% de NaPO_3 . Debe de ser agitado por espacio de 2 a 3 minutos con el agitador magnético de preferencia. Lavar las paredes del vaso con agua destilada para no perder muestra.
- Preparar el cilindro patrón de control con agua destilada hasta la marca de 1000 ml. En ella tener el termómetro y el hidrómetro.
- Transferir el contenido del vaso de precipitado al cilindro de sedimentación (probeta de 1,000 ml), teniendo mucho cuidado de no perder material en el proceso. Añadir agua destilada hasta completar la marca de 1000 ml. Del cilindro.
- Tomar un tapón de caucho N° 12 (usar la palma de la mano si no hay un tapón disponible) para tapar la boca del cilindro donde se encuentra la suspensión de suelo y agitarla cuidadosamente. Poner sobre la mesa el cilindro remover el tapón, inmediatamente insertar el hidrómetro y tomar lecturas con los siguientes intervalos de tiempo.
1, 2, 3 y 4 minutos.
- Tomar igualmente lectura del termómetro.
- Colocar el hidrómetro y el termómetro en el recipiente de control (El cual debe encontrarse a una temperatura que no difiera en más de 1°C del suelo). Es usual dejar el hidrómetro metido dentro de la solución de suelo durante las primeras 3 mediciones. Es necesario evitar en lo posible la agitación de la suspensión cuando se coloca el hidrómetro dentro de ella, colocándolo tan suavemente como para requerir alrededor de 10 segundos en realizar dicha operación.
- Se deben tomar medidas adicionales a los siguientes intervalos de tiempo:
- 8, 15, 30, 60 minutos y 2, 4, 8, 16, 32,64, 96 horas.
- No olvidar que entre lectura y lectura del hidrómetro se debe guardar éste y el termómetro en el cilindro de control (el cual debe estar a la misma temperatura).
- Pasar a la sección de “cálculos”

4.4.2.6 Cálculos

- **Gravedad específica (Gs):** Se obtiene de los siguientes valores:

Tipo de Suelo	Gs
Arena	2.65 - 2.67
Arena Limosa	2.67 - 2.70
Arcilla Inorgánica	2.70 - 2.80
Suelos con micas o hierro	2.75 - 3.00
Suelos Orgánicos	Variable puede ser inferior a 2.00

- **Factor de corrección (α):** se obtiene empleando la formula:

$$\alpha = 0.6226 \times Gs / (Gs - 1)$$

- **Corrección del cero (Cc):** Para hallar este valor, se utiliza un cilindro de sedimentación de 1000 ml, 125 ml de solución al 4% de NaPO_3 . Se lleva a 1000 ml con agua destilada, introducir el hidrómetro 152 H, el que se desplazara en forma vertical, efectuar una lectura a la parte superior del hidrómetro (menisco) el valor a leer se le tomara como corrección del cero (Cc).
- **Corrección del menisco (Cm):** Este será siempre +1, para efectuar los cálculos.
- Con la siguiente tabla se anotan los siguientes datos, con los que se realiza los cálculos de Lectura Corregida (Lc) y % más fino.

Pm	H _L	T	T °C	L _r	LC	%Fino	L _m	L	L/T	K	D	R	R Neto %

Donde:

- Pm = Peso de muestra
- HL = Hora de Lectura
- T = Tiempo transcurrido en minutos
- t°C = Temperatura en ° centígrados
- Lr = Lectura del hidrómetro
- Lc = Lectura corregida del hidrómetro
- Ct = Factor de corrección por temperatura (se obtiene de la tabla 2)
- L = Longitud (se obtiene de la tabla 3)
- K = Constante (se obtiene de la tabla 4)
- D = Diámetro mm
- MF = % Más fino
- R = % Retenido

4.4.2.7 Presentación de Informe

El informe de laboratorio comprenderá los elementos descritos en el capítulo 5, parte 5.1.

Adicionalmente en el informe deberá ir la Caracterización Mineralógica y Granulométrica de los Sedimentos, tal como se muestra en el anexo D y E en el que se presenta el formato en el que se vaciara la información de la caracterización mineralógica y granulométrica de los sedimentos, realizada de acuerdo a lo señalado en esta norma. Se entregará la curva granulométrica, dibujando, sobre papel semilogaritmico, el diámetro del material contra el porcentaje que pasa.

5. PRESENTACION DE INFORME

El reporte de análisis de muestras será realizado por un Ingeniero colegiado, ya que este documento forma parte en la mayoría de casos, de estudios ambientales u otros informes, el cual se presentará tomando en cuenta lo que se detalla a continuación:

5.1 Informe de Análisis o Estudio Técnico

El Estudio Técnico para ser evaluado deberá contener, de acuerdo a lo indicado en cada capítulo, la siguiente información.

CARÁTULA:

Es la parte de presentación del Estudio Técnico, contiene información general que facilita una rápida identificación de la misma. La información mínima que debe contener es la siguiente:

- Nombre de la Institución que realiza el estudio.
- Dirección de la Institución que realiza el estudio.
- Título del Estudio realizado (colocar lo general a lo específico)
- Nombre, cargo y firma de las personas que elaboraron el estudio, así como la fecha respectiva.

ÍNDICE:

Incluirá el contenido del Estudio Técnico, a través de la referencia de capítulos, anexos, etc. Señalando las páginas correspondientes, para cada uno de ellos.

INTRODUCCIÓN:

Se incluirá información en la que se indique aspectos resaltantes del estudio técnico elaborado, tales como una reseña histórica, necesidad de su elaboración/importancia, antecedentes, etc.

CUERPO DEL ESTUDIO

Es la parte principal del estudio y comprenderá los siguientes capítulos:

OBJETIVO

Se señalará el propósito del estudio indicando donde se aplica, y los casos, circunstancias y condiciones en que su aplicación no es válida.

MARCO TEÓRICO

El marco teórico genera una referencia general del tema a tratar en una descripción concisa que permite entenderlo claramente.

METODOLOGÍA

Se deberá señalar los procedimientos aplicados a fin realizar las acciones propias de una investigación. En decir se trata de la guía que va indicando qué hacer y cómo actuar cuando se quiere obtener algún tipo de investigación.

RELACIÓN DE PERSONAL PARTICIPANTE Y FUNCIONES

Deberá considerar la relación del personal participante así como las funciones que cumplen cada unos de ellos, para la ejecución de los trabajos.

MATERIALES Y EQUIPOS UTILIZADOS

Deberá considerar la relación completa y detallada de los materiales y equipos utilizados para la ejecución de los trabajos.

RESULTADOS

En esta parte del estudio se analizará los resultados de los datos recabados u obtenidos de los equipos y los trabajos de campo, es decir, lo que se observó las cantidades que se obtuvieron, lo que se descubrió, lo que se averiguo, etc.

DISCUSIÓN

Es la parte más importante del estudio, aquí se ve la calidad tanto de la investigación como de los investigadores. Se debe analizar el cumplimiento de los objetivos a la luz de los nuevos conocimientos generados.

CONCLUSIONES

Estarán ligadas a los objetivos que se ha propuesto, y en las cuales se comparan con lo obtenido en los resultados, es decir a lo que se llegado al final del estudio.

RECOMENDACIONES

Se hacen al final del informe, cuando se han presentado todos los datos, cómo se han obtenido y a qué conclusiones se llegan.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

ANEXOS

Adjuntar los siguientes Formatos y Registros:

- Gráfico de los parámetros hallados en el área de estudio.
- Distribución espacial de cada parámetro usando como relieve base, el área de estudio.
- Libretas y Registro de Campo
- Formato de medición de campo
- El informe fotográfico, con fotografías a color, debidamente identificadas y haciendo una breve descripción de lo que represente.
- Certificado de calibración de equipos, indicando la Marca, Nro. De Serie de cada equipo calibrado.
- Registros de datos sin procesar obtenidas de los equipos utilizados en medio digital y formato TXT.
- Glosario de términos

6. GLOSARIO DE TERMINOS

Absorbancia. Logaritmo de la relación entre la intensidad de una radiación antes y después de atravesar un medio absorbente.

Ácido. Toda sustancia que en solución puede donar protones. El papel tornasol azul se vuelve rojo al humedecerlo con una solución ácida.

Adsorción. Ocurre cuando un gas se deposita sobre la superficie de un sólido mediante enlaces débiles tipo Van der Waals. El carbón activado actúa como buen adsorbente.

Agente oxidante. Sustancia que provoca la oxidación de otra. Corresponde a la sustancia que se reduce, es decir, la que gana electrones en una reacción redox.

Agente reductor. Sustancia que provoca la reducción de otra. Corresponde a la sustancia que se oxida, es decir, la que pierde electrones en una reacción redox.

Agua de cristalización. Agua que se encuentra presente en un hidrato, en proporciones definidas. Esta agua se puede separar del hidrato mediante calentamiento.

Análisis cualitativo. Conjunto de procedimientos que buscan identificar el tipo de componentes presentes en una muestra de materia. Éste no determina cantidades.

Análisis cuantitativo. Conjunto de procedimientos para determinar la cantidad relativa de un componente en una muestra de materia. Por ejemplo, estimar el porcentaje de Cu en un mineral.

Analito. Especie o especies de una muestra que van a ser objeto de un análisis químico.

Anión. Especie química cargada negativamente debido a que presenta exceso de electrones. Los aniones son atraídos por el ánodo o electrodo (+).

Baño maría. Consiste en calentar un objeto o sistema con el empleo de agua como medio de calentamiento. Se cree que lo ideó una alquimista llamada María.

Bentos. Organismos que viven en el fondo de los mares, lagos y ríos.

Concentración. Cantidad relativa de soluto presente en una solución. Existen varias formas de expresarla: molaridad, normalidad, molalidad, porcentaje por peso, etc.

Conductividad. Facilidad relativa con la que se transmite el calor o la electricidad a través de un medio. Las soluciones de electrolitos fuertes conducen la corriente eléctrica muy bien.

Cromatografía. Método de separación en la que los componentes de una muestra líquida se absorben en diferentes puntos de una superficie sólida.

Disolución. Proceso que consiste en mezclar una sustancia con un solvente apropiado hasta que se disuelva. A veces se calienta para agilizar la operación. El componente de interés se solubiliza en el solvente.

Draga. Aparato que se utiliza para colectar muestras de fondo en cuerpos de agua.

Embudo Buchner. Tipo especial de embudo que se utiliza para realizar filtraciones al vacío. Los embudos de filtración suelen utilizar un papel de filtro apropiado.

Estándar primario. Solución cuya concentración se conoce con un alto grado de exactitud y se prepara al disolver un peso exacto del soluto puro hasta un volumen exacto.

Estandarización. Determinación de la concentración de una solución mediante la utilización, directa o indirecta, de un patrón o estándar primario.

Extracción. Separación de un componente de una solución por medio de un solvente en el cual es soluble. El solvente extractor no es soluble en el solvente original.

Filtración. Técnica que utiliza un medio filtrante, en general papel de filtro, para retener el sólido. El solvente y las sustancias disueltas pasan a través del papel.

Granulometría. Estudio del tamaño y las características de los componentes de los sedimentos.

Hidrocarburo. Compuesto químico constituido por carbono e hidrógeno. Éstos se subdividen en varias series según las cadenas de carbono: alcanos, alquenos, alquinos, hidrocarburos cíclicos.

Hidróxido. Compuesto metálico que contiene el grupo -OH (grupo hidroxilo) enlazado al átomo de un metal. Los hidróxidos de los metales son básicos.

Indicador. Compuesto químico, por lo general de naturaleza orgánica, que tiene la propiedad de manifestar un cierto tipo de color según el pH de la solución en la que está disuelto.

Longitud de onda. Propiedad característica de la luz, similar a su color, y equivalente a la longitud de la onda completa entre cresta y cresta consecutivas. Se expresa en nm o en Å.

Molalidad. Unidad de concentración que corresponde al número de moles de soluto por kilogramo de solvente. Para soluciones diluidas, la molalidad es aproximadamente igual a la molaridad.

Molaridad. Unidad de concentración que corresponde al número de moles de especie química en solución por litro de solución.

Normalidad. Unidad de concentración que corresponde al número de equivalentes de soluto por litro de solución. La normalidad se calcula tomando como referencia una reacción determinada

Oceanografía. Ciencia que estudia los mares en los aspectos físico, químico, biológico y geológico. La oceanografía física tiene por objeto el estudio de la dinámica de los mares, de su fisiografía, de las profundidades y variaciones de temperatura, presión y densidad, etc. La oceanografía química se ocupa de la composición del agua del mar y la oceanografía biológica estudia la fauna y la flora marinas.

pH. Forma de expresar la concentración de iones hidronio (H_3O^+) en una solución. Matemáticamente: $\text{pH} = -\log[\text{H}_3\text{O}^+]$.

Precipitado. Sustancia química muy poco soluble que se forma en una solución como producto de una reacción química. El precipitado se separa de la solución por filtración o decantación.

Reactivo. Sustancia que se transforma en otras nuevas al descomponerse o combinarse químicamente. Véase: reactivo límite.

Salinómetro. Este salinómetro es un aparato de gran utilidad para la determinación de la salinidad del agua de mar ya que lo hace con un elevado grado de exactitud. Las medidas siempre se hacen en comparación con una patrón de salinidad conocida.

Solución patrón. Solución de concentración exactamente conocida que se usa en un proceso de valoración para determinar la concentración de otra.

Soluto. Componentes de una solución que de manera arbitraria se considera presentes en ella en menor cantidad. Véase: solvente, solución.

Solvente. Componente de una solución que de manera arbitraria se considera presente en ella en mayor cantidad. En soluciones acuosas el solvente es el agua.

7. BIBLIOGRAFIA

- Intergovernmental Oceanographic Commission (COI), Edit. Unesco 1983: Chemicals Methods for use in Marine Environmental Monitoring
- Gilcline Manual, 1998: Technical Manual for Model 8410A Portasa
- Jean Rodier, Bernard Legube, Nicole Merlet, Edit. Omega 2011: Análisis del Agua
- Joseph E. Bowles, Edit. Mc Graw Hill, 1982: Manual de Laboratorio de Suelos en Ingeniería Civil

8. ANEXOS

ANEXO A. Tabla para Preservación de muestras

DETERMINACIÓN	MATERIAL DE ENVASE	VOLUMEN MÍNIMO (ml)	PRESERVACIÓN	TIEMPO MÁXIMO DE ALMACENAMIENTO
Cloro residual	p.v	50	Analizar inmediatamente	
Cloruros	p.v	200	Refrigerar de 4 a 10°C y en la oscuridad	48 horas
Color	p.v	500	Refrigerar de 4 a 10°C y en la oscuridad	48 horas
Dureza total	p.v	100	Adicionar HNO ₃ o H ₂ SO ₄ a pH<2 (*)	14 días
Fenoles	p, v PTFE	500	Adicionar H ₂ SO ₄ a pH<2 y refrigerar de 4 a 10°C	Analizar tan pronto sea posible
Fluoruros	P	500	Refrigerar de 4 a 10°C	28 días
Hidrocarburos aromáticos (BTEX)	S	25	Refrigerar de 4 a 10°C y en la oscuridad	7 días
Metales en general	p, v (A)	1000	Adicionar 1 ml. de ácido nítrico concentrado cada 100 ml de muestra.	180 días Sólo para la determinación de mercurio almacenar por un máximo de 4 semanas
Nitratos	p. v	100	Refrigerar de 4 a 10°C y en la oscuridad	48 horas
Nitritos	p. v	100	Refrigerar de 4 a 10°C y en la oscuridad	
Nitrógeno amoniacal	p. v	500	Adicionar H ₂ SO ₄ a pH<2 y refrigerar de 4 a 10°C	7 días
Olor	V	500	Analizar tan pronto como sea posible. Refrigerar	6 hrs.
pH	p, v	50	Analizar inmediatamente	
Plaguicidas	s	1000	Refrigerar de 4 a 10°C	7 días Extraídos los plaguicidas con solventes el tiempo de almacenamiento máximo será de 40 días
Sólidos	p, v	200	Refrigerar de 4 a 10°C y en la oscuridad	7 días
Sulfatos	p. v	100	Refrigerar de 4 a 10°C y en la oscuridad	28 días
Temperatura	p. v		Determinar inmediatamente	
Trihalometanos	s	25	Refrigerar de 4 a 10°C y en la oscuridad	7 días
Turbiedad	p.v	100	Refrigerar de 4 a 10°C y en la oscuridad	24 horas

Glosario:

p - plástico

p(A) enjuagado con HNO₃ 1 + 1

pH - potencial de hidrógeno

s - vidrio enjuagado con solventes orgánicos; interior de la tapa del envase recubierta con teflón

v - vidrio

v(A) - enjuagado con HNO₃ 1 + 1

PTFE - tapa de politetrafluoroetileno

BTEX - benceno tolueno, etilbenceno, xileno

- 1.- Para que la muestra no sea insuficiente, en las determinaciones de cloro residual, nitratos, nitrógeno amoniacal, pH sólidos, turbiedad y yodo, se recomienda que el volumen mínimo se multiplique por 4 para que el laboratorio tenga la posibilidad de realizar en caso necesario, una repetición.
- 2.- La preservación de la muestra en la determinación de dureza total, es exclusivamente para aguas contaminadas y residuales, ya que en aguas naturales no es necesario adicionar ácido como preventivo.

ANEXO C. Tabla de Resultados de Muestreo de Agua

PARÁMETRO	UNIDAD	MUESTRAS			COMPARACIÓN	MÉTODO DE ANÁLISIS
		1	2	3	NORMA ECA / LMP QUE REGULA LA ZONA / TIPO CONTAMINANTE	

ANEXO D. Tabla de Resultados de Muestreo de Sedimentos

**COMPOSICIÓN GRANULOMÉTRICA DEL SEDIMENTO
DEL FONDO SUPERFICIAL MARINO**

LUGAR	MUESTRA	GRAVA %	ARENA %	LIMO %	CLASIFICACIÓN SUCS	DESCRIPCIÓN (FOLK)

*Mallas empleadas:

