GUIA PARA EL FUNCIONAMIENTO DE LOS LABORATORIOS DE ENSAYO DE AGUAS

PARTE III

CRITERIOS PARA LA TOMA DE MUESTRAS – Revisión 1

Aeas
Asociación Española de Abastecimientos de Agua y Saneamiento

FECHA: abril 2019

ÍNDICE

1 INTRODUCCIÓN 5
2 OBJETO 5
3 DEFINICIONES 6
4 DESARROLLO 8
4.1 ASPECTOS GENERALES 8
4.1.1 Cualificación del personal 8
4.1.2 Medidas de seguridad 9
4.1.3 Condiciones Ambientales 9
4.1.4 Limpieza de material 9
4.2 PREPARACION DE LA TOMA DE MUESTRA 10
4.2.1 Objetivo de la toma de muestra 10
4.2.2 Identificación del punto de toma de muestra 10
4.2.3 Documentación y registros 11
4.2.4 Reactivos, envases y equipos 11
4.2.5 Trazabilidad 14
4.3 SISTEMATICA DE TOMA DE MUESTRA PUNTUAL 15
4.3.1 Parámetros 15
4.3.2 Matriz, punto de toma y objetivo 17
4.4 SISTEMÁTICA DE TOMA DE MUESTRA COMPUESTA 23
4.5 CONSERVACIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS 25
4.5.1 Adición de reactivos de conservación 25
4.5.2 Tiempo entre la toma de muestra y el análisis 25
4.5.3 Temperatura de transporte 27
4.5.4 Temperatura de conservación durante la toma automática 28
4.6 RECEPCION EN EL LABORATORIO 28
4.7 CONTROL DE CALIDAD 29
4.7.1 Análisis de blancos 29
4.7.2 Análisis de duplicados 31
4.7.3 Muestras adicionadas 32

4.7.4 Análisis de los datos de control de calidad 33
4.8 INFORMACIÓN QUE INCLUIR EN LOS INFORMES DE RESULTADOS 34
5 REFERENCIAS 35
6 ANEXOS 37

EQUIPO REDACTOR

El Grupo de Trabajo que ha realizado este documento se compone de los siguientes miembros:

Coordinador:

Pedro Pablo Morillas Bravo	CANAL DE ISABEL II, S.A.

Miembros activos:

Carmen Moreno Camacho	AGUAS MUNICIPALIZADAS DE ALICANTE
Itziar Larumbe Hernández	AGUAS-AÑARBE
Josepa Fàbregas Serrà	C. DE AGUAS DE TARRAGONA
Manuel Borrego Herrera	EMASESA
Jesús Manuel Esteban Rodríguez	FCC-AQUALIA
Carina González Taboas	GAMASER
Mª José Vázquez García	INTERLAB
Begoña García Asensi	IPROMA
Carlos Nebot Martínez	IPROMA
Marta Pedemonte Almirall	LAB. Dr. OLIVER RODES
María Pilar González Valdés	LABAQUA
Olga Gutiérrez González	LABORATORIO LGA
Ramón Bouza Deaño	LABS & TECHNOLOGICAL SERVICES AGQ SL
Mikel Manzanos Areta	MANCOMUNIDAD COMARCA DE PAMPLONA
José Luis Alarcón Escribano	PROAGUAS COSTA BLANCA, S.A.

La primera edición de esta guía fue elaborada por el Grupo de Trabajo de Acreditación de Laboratorios de la AEAS en el que participaron además Joan Boix Berna y Lluís Vázquez Millá (Aguas de Barcelona), Isabel de Blas Bravo (Aguas Municipalizadas de Alicante), Isabel Echarri Gurtubay (Consorcio de Aguas de Bilbao) y Consuelo Juan Rodríguez (EMASESA).

1 INTRODUCCIÓN

Este documento constituye la tercera parte de la Guía para el funcionamiento de los Laboratorios de Ensayos de Aguas, editada por la Asociación Española de Abastecimientos de Agua y Saneamiento (AEAS) a través de sus Comisiones Segunda y Quinta.

La recogida de una muestra representativa constituye uno de los elementos fundamentales de un programa de control de calidad a fin de obtener datos reales de las características físicas, químicas, biológicas, microbiológicas y radiológicas de una determinada masa de agua.

Es importante que la muestra de agua tomada sea homogénea y representativa, y que el proceso de toma, transporte y conservación no modifiquen las propiedades a analizar.

Este proceso es esencial para evitar resultados de ensayo cuya fiabilidad pueda ser cuestionada a consecuencia de procesos de toma incorrectos.

De manera general, se conocen diferentes tipos de toma de muestras basados esencialmente en la forma en la que se obtiene la porción que será sometida a ensayo, hablándose así de toma de muestra puntual, compuesta o integrada, manual o automática, continua o intermitente, isocinética o proporcional.

2 OBJETO

El **objeto** del presente documento es proponer una sistemática que permita llevar a cabo las actuaciones necesarias para la **realización de toma de muestras puntuales y compuestas** en diferentes matrices de agua (continental, consumo, residual y marina), aunque normalmente la toma de muestras compuesta se suele realizar sólo sobre aguas residuales. No se incluyen por tanto características asociadas al muestreo, tales como plan estadístico de toma de muestra, frecuencias de toma de muestras y distribución espacial de las mismas.

No es objeto de este documento establecer directrices de obligado cumplimiento, pero sí aportar criterios homogéneos de funcionamiento basados en la experiencia, y buena práctica de los laboratorios integrantes del Grupo de Trabajo, de tal forma que el mismo pueda ser un referente a tener en cuenta.

Los ejemplos incluidos en esta guía deben interpretarse como tal, ya que pueden existir otras alternativas igualmente válidas.

3 DEFINICIONES

Alícuota

Parte o porción que se toma de un volumen (alícuota líquida) o de una masa (alícuota sólida) inicial, para ser usada en un ensayo de laboratorio, cuyas propiedades y composición representan las de la sustancia original.

Almacenamiento de la muestra

Proceso, y resultado, de mantener una muestra disponible, en condiciones predefinidas durante un intervalo de tiempo (generalmente) especificado, entre la recogida de la muestra y el posterior tratamiento de la misma. (15)

Blanco

Valor observado obtenido cuando se realiza una medición en una muestra idéntica a la muestra de interés, pero en ausencia del analito.

Pueden consultarse diferentes tipos de blancos en la norma UNE EN ISO 5667-14. (14)

Conservación de la muestra

Cualquier procedimiento utilizado para estabilizar una muestra, de forma que las propiedades objeto de examen se mantengan estables, desde la etapa de la toma de muestra hasta la preparación para el análisis. (15)

Envase

Recipiente en que se conservan y transportan las muestras.

Equipo

Dispositivos y accesorios utilizados en el proceso de toma de muestra.

Integridad

Propiedad que implica que el (los) parámetro(s) de interés, la información o el contenido de los recipientes de muestra no han sufrido alteración o pérdida de forma no autorizada, ni han estado sujetos a pérdida de representatividad. (15)

Toma de muestra

Acción consistente en extraer una porción considerada como representativa de una masa de agua con el propósito de examinar diversas características definidas. Puede ser manual, automático, continuo, intermitente, isocinético y proporcional.

Muestra

Porción/Alícuota, idealmente representativa, extraída de una masa de agua definida, ya sea intermitentemente o continuamente, con el fin de examinar varias características especificadas.

Muestra integrada

Es la mezcla de proporción conocida de muestras individuales recogidas en diferentes sitios en el menor intervalo de tiempo posible.

Muestra puntual

Muestra discreta tomada de una masa de agua de forma aleatoria, en relación con el momento o el emplazamiento.

Muestra compuesta

Dos o más muestras o submuestras mezcladas en proporciones adecuadas (discreta o continuamente) y de donde puede obtenerse el valor medio de la característica deseada. Las proporciones de la muestra están generalmente calculadas sobre medidas de tiempo o de caudal. (4)

Punto de toma de muestra

Posición precisa dentro de un emplazamiento de toma de muestra desde el que se toman las muestras (16).

Periodo (tiempo) de almacenamiento

Periodo de tiempo transcurrido entre el llenado del recipiente de muestra y el tratamiento posterior de la muestra en el laboratorio, si se almacena bajo condiciones predefinidas (15).

4 DESARROLLO

4.1 ASPECTOS GENERALES

4.1.1 Cualificación del personal

El personal que realiza toma de muestras debe cumplir los requisitos mínimos, en cuanto a formación, cualificación y experiencia, definidos por el laboratorio.

Las habilidades del personal de toma de muestra son un factor importante para la fiabilidad y trazabilidad de los resultados, por lo que el proceso de cualificación debe programarse y llevarse a cabo teniendo en cuenta la formación y experiencia de este.

El proceso de cualificación en toma de muestra consta, normalmente, de las siguientes etapas:

1. Una primera etapa que consiste en la lectura y comprensión de los procedimientos a seguir.
2. Una etapa de observador, mediante su presencia en una serie de trabajos de toma de muestra llevados a cabo por personal cualificado.
3. Una etapa de evaluación por personal cualificado mientras realiza toma de muestras.

En dicho proceso de cualificación se ha de garantizar que se tienen en cuenta todos los aspectos necesarios como preparación de envases, toma de muestra, transporte, controles de calidad, etc.

Este proceso debe acompañarse con actividades de formación, cuyo contenido mínimo debe tener en cuenta aspectos como [6]:

- Principios y prácticas de distribución del suministro de agua.
- Principios y prácticas de higiene del suministro de agua.
- Introducción al conocimiento de la química del agua y la microbiología.
- Conocimientos sobre la importancia de la contaminación sobre el agua suministrada a los consumidores, con ejemplos de contaminación con énfasis en la contaminación fecal.

Se considera que el tomador de muestra está cualificado, cuando al evaluar la realización de la toma de muestras esta se considera adecuada. Con el fin de asegurar que se mantiene dicha cualificación a lo largo del tiempo, todo el personal cualificado ha de ser supervisado periódicamente. Tanto la evaluación inicial como la supervisión periódica anual la debe realizar personal responsable con la suficiente capacidad técnica.

El laboratorio debe mantener los registros pertinentes tanto del proceso de formación, cualificación, supervisiones periódicas anuales, fechas y su resultado, y las actualizaciones pertinentes.

4.1.2 Medidas de seguridad

Es necesario que todo el personal afectado esté formado e informado sobre la Evaluación de Riesgos para la seguridad y salud en el trabajo inherente a esta actividad.

El personal que realiza la toma de muestra deberá contemplar todas las precauciones de seguridad necesarias para la prevención de daños que puedan resultar de esta actividad, por ejemplo, ingestión o invasión de agentes infecciosos y microorganismos, inhalación o absorción de sustancias corrosivas o tóxicas a través del contacto con la piel, o asfixia. Deberán tener en cuenta también las condiciones de uso de vehículos a motor, embarcaciones, manipulación de cargas, acceso a espacios confinados y condiciones meteorológicas.

En todo caso, se deben atender los requisitos legales de aplicación.

4.1.3 Condiciones Ambientales

Determinadas condiciones ambientales pueden influir en los resultados analíticos de la muestra a tomar (lluvia, fuerte viento, etc.). En caso de realizar la toma de muestra en condiciones adversas, se ha de dejar constancia de las mismas en el registro correspondiente.

4.1.4 Limpieza de material

Las condiciones de limpieza del material empleado (envases, accesorios y material auxiliar en contacto con la muestra) para la toma pueden resultar determinantes en los resultados finales obtenidos por el laboratorio, para lo cual se debe emplear material limpio, ya sea desechable[1] o reutilizado. En este segundo caso, el laboratorio debe contar con pautas claras que describan los requisitos de limpieza del material utilizado dependiendo del parámetro a analizar, pudiendo ser de utilidad los documentos normativos pertinentes [(19)]. En cualquier caso, debe asegurarse la ausencia de trazas o contaminantes que puedan interferir en los resultados del ensayo, por ejemplo, mediante el control de blancos (ver apartado 4.7.1. de este documento).

[1] Algunos fabricantes suministran envases con un certificado de limpieza. En caso de disponer de dicho certificado, no se debe limpiar o aclarar los envases antes de su uso [(15)].

4.2 PREPARACION DE LA TOMA DE MUESTRA

El proceso de toma de muestra debe ser un proceso planificado que defina, al menos:

- Objetivo de la toma de muestra y parámetros a analizar.
- Identificación y localización del punto o puntos de toma de muestra.
- Tipo de envases en función de los análisis a realizar.
- Equipos, accesorios y material auxiliar necesario en función de las características del punto de toma y de los análisis a realizar.
- Condiciones de transporte y conservación.
- Documentos aplicables y registros necesarios para asegurar la trazabilidad del proceso.

4.2.1 Objetivo de la toma de muestra

Pueden distinguirse los siguientes objetivos generales que justifican una toma de muestra [13]:

- Control de calidad de proceso (captación, tratamiento, distribución, depuración, etc.).
- Caracterización de la composición de la muestra de agua.
- Identificación de fuentes de contaminación.
- Cumplimiento de requisitos normativos o reglamentarios.

En función de estos objetivos se planifica la toma de muestra y se identifican los parámetros a analizar.

4.2.2 Identificación del punto de toma de muestra

La identificación del punto de toma debe realizarse de forma que se asegure la posibilidad de repetir la toma por una persona distinta en el mismo punto. Para ello debe contener la información necesaria que permita una descripción inequívoca del punto. Por ejemplo:

- Código y nombre del punto de toma.
- Localización (Plano, fotografías, coordenadas UTM o croquis), forma de acceso, etc.

4.2.3 Documentación y registros

El laboratorio debe disponer de procedimientos para la toma de muestras y, si procede, los análisis "in situ" a realizar. Estos deben estar disponibles para el personal durante el proceso de la toma de muestra. Así mismo, se debe registrar cualquier información que permita reconstruir las condiciones en que se realizó la toma de muestra o repetirla en caso de ser necesario, como:

- Procedimiento de toma de muestra utilizado
- Fecha y hora de la toma de muestra
- Personal que realiza la toma, y su firma.
- Identificación inequívoca del punto de toma.
- Número de envases e identificación de los mismos.
- Tipo de muestra (ej.: puntual).
- Tipo de análisis a realizar.
- Código y descripción del equipo o equipos utilizados para la toma de muestra
- Resultados de las verificaciones realizadas a los equipos utilizados en la toma de muestra.
- Condiciones ambientales, si afectan a la toma de muestra o a la interpretación de los resultados.
- Condiciones de conservación y transporte de las muestras.
- Observaciones, donde se incluirá toda la información adicional necesaria.

En el caso de que se realicen mediciones "in situ" deberán quedar registrados, en el mismo registro o en otro específico, los datos relacionados con los resultados de medición y aquellos que se precisen, de acuerdo a lo establecido en los correspondientes procedimientos de ensayo.

En el momento de la recepción de las muestras en el laboratorio se procederá a la verificación del cumplimiento de las condiciones de aceptación establecidas (ver apartado 4.6.)

4.2.4 Reactivos, envases y equipos

En el proceso de toma de muestra se pueden utilizar distintos reactivos, equipos y materiales que se describen a continuación.

4.2.4.1. Reactivos

En función de los ensayos a realizar en las muestras tomadas, puede ser necesario utilizar conservantes [10, 12,15], que deben:

- utilizarse únicamente cuando no interfieran en el ensayo a partir de datos obtenidos bibliográficamente.
- añadirse de manera que todas las partes de la muestra entren en contacto con el conservante.
- ser, como mínimo, de calidad analítica. El agua de laboratorio utilizada debe cumplir al menos los requerimientos de calidad de clase 2.
- estar etiquetados con su "período de validez" o "fecha de caducidad".
- almacenarse separados de los envases de toma de muestra y otros equipos, con objeto de prevenir su contaminación.

Las muestras a las que se ha añadido algún conservante deben identificarse adecuadamente, por ejemplo, mediante etiquetado o envases específicos.

4.2.4.2. Envases

La capacidad y los materiales de los envases elegidos deben ser adecuados para los parámetros a analizar y el volumen requerido para ello, en función de la técnica a utilizar [13, 15]. Los tapones forman parte del envase por lo que deben tenerse las mismas consideraciones que al seleccionar el envase.

En la utilización de envases, los problemas que aparecen con mayor frecuencia consisten en:

- La adsorción de substancias químicas en las paredes de los envases.
- La contaminación previa a la toma de muestra como consecuencia de una inadecuada limpieza o almacenamiento incorrecto.
- La contaminación de la muestra por el material constitutivo del envase.
- La degradación de los analitos por fotosensibilidad.

Además, se tendrán en cuenta factores como la resistencia a temperaturas extremas, resistencia a la rotura, facilidad de cierre y reapertura, forma, tamaño, opacidad, coste, etc.

En el caso de los parámetros microbiológicos se deben utilizar envases estériles, reutilizados o desechables, y fabricados con materiales que no produzcan o liberen sustancias químicas susceptibles de inhibir la viabilidad de los microorganismos o que estimulen su crecimiento.

En el caso de toma de muestras por inmersión en aguas limpias, deben emplearse envases estériles tanto en su interior como en su exterior y protegidas, por ejemplo, con papel kraft, con una lámina de aluminio o con una bolsa exterior de plástico [19].

En el Anexo 1 del presente documento se incluye una tabla con los distintos tipos de envases a utilizar en función de los parámetros a determinar.

4.2.4.3. Equipos

Los equipos a utilizar dependerán del tipo y características del punto de toma (arquetas de colectores, pozos de bombeo, canales, tuberías, desagües, ríos, depósitos, etc.) y del tipo de muestra a obtener.

En el momento de seleccionar estos equipos deberían tenerse en cuenta los siguientes criterios [13]:

a) Minimizar el tiempo de contacto entre la muestra y el equipo;
b) Estar fabricado con materiales que no alteren la muestra;
c) Ser de fácil limpieza;
d) Tener un diseño que tenga en cuenta la naturaleza de la muestra a analizar.

4.2.4.3.1 Equipos de toma manual

Para toma de muestras manual, las muestras podrán tomarse llenando directamente el envase o en caso de no ser posible, utilizando dispositivos auxiliares, de los que se presentan varios ejemplos en el Anexo 2 del presente documento.

De forma general estos equipos no requieren más control que el de mantenerlos en condiciones de limpieza, sin embargo, el laboratorio debe identificar la necesidad de llevar a cabo algún tipo de control metrológico en otros equipos utilizados, por ejemplo, termómetros de control de temperatura, aplicando para ello un procedimiento y dejando registro de estas actividades.

4.2.4.3.2 Equipos de toma automática

Los equipos de muestreo automático ofrecen ventajas en muchas situaciones de muestreo ya que permiten la recogida de muestras continuas o de series de muestras sin intervención manual. Resultan particularmente útiles para la preparación de muestras compuestas y para el estudio de las variaciones de la calidad en función del tiempo o de caudal.

Los muestreadores automáticos pueden ser de tipo discreto o continuo y pueden operar en función del tiempo o en modo proporcional al caudal.

Pueden ser usados para la toma de muestras puntuales, continuas o compuestas [18].

Funcionan bombeando el agua a recipientes que se encuentran en el interior del equipo, existiendo una cierta variedad de sistemas de bombeo. Gran número de muestreadores automáticos temporizados están diseñados para tomar 24 muestras, de modo que toman una muestra cada hora, durante un periodo de 24 h. De todos modos, el tiempo de muestreo puede fijarse libremente, de modo que las 24 muestras pueden tomarse con otros intervalos temporales diferentes. Si se dispone de datos de medidas de flujo, puede prepararse manualmente una muestra proporcional al caudal, combinando alícuotas apropiadas de las muestras tomadas en los distintos tiempos de muestreo.

Es esencial que el propio muestreador automático o el almacenamiento de muestras en su interior no produzcan alteraciones significativas en la muestra que pudieran hacerla perder su representatividad. La línea de muestreo que va desde el punto de toma de muestra hasta el equipo no debe contaminar la muestra y debe contar con un sistema que evite atasco por materia sólida.

Con objeto de evitar la sedimentación de los sólidos, se recomienda mantener un flujo adecuado en la tubería de entrada y un diámetro interno constante superior a 9 mm [4,13].

Durante la toma de muestras, sobre todo si van a ser discretas, la línea de muestreo debe ser purgada entre toma y toma [18].

Es conveniente limpiar y realizar un mantenimiento regular del muestreador automático, y es esencial que la línea de muestreo se limpie con la misma frecuencia que el resto del equipo para prevenir el crecimiento de bacterias, etc.

Siempre debe revisarse antes de su puesta en marcha para asegurar un funcionamiento satisfactorio en el lugar del muestreo [15].

4.2.5 Trazabilidad

Es importante que durante la actividad de toma de muestra se garantice en todo momento la trazabilidad del proceso mediante, por ejemplo, una sistemática de codificación unívoco de la muestra y el uso de los registros necesarios (ver apartado ‘Documentación y registros’ de esta guía).

El sistema de identificación de envases debe ser resistente al borrado y, en general, a aquellos agentes que puedan hacerlo ilegible.

En los casos en que sea necesario (muestras oficiales, requisitos del cliente, etc.), se debe realizar el precintado de la muestra para poder evitar cualquier manipulación posterior al proceso de toma.

Cuando se tomen muestras con equipos automáticos programados, estos deberán de contar con medidas de seguridad que impidan el acceso no autorizado o manipulación de las muestras. Se recomienda verificar que el equipo no ha sido manipulado durante la toma.

En determinadas ocasiones, como por ejemplo en el caso de muestras solicitadas por la Administración, puede requerirse una cadena de custodia definida, que pruebe quien ha sido el responsable de la salvaguarda de la muestra, en el curso del tiempo transcurrido desde la toma de muestras hasta el final del análisis [13]. El sistema legal vigente en cada caso concreto define los requisitos que tiene que cumplir la cadena de custodia.

4.3 SISTEMATICA DE TOMA DE MUESTRA PUNTUAL

A la hora de establecer la sistemática de toma de muestra, hay que tener en cuenta los parámetros a analizar, la matriz, punto de toma y el objetivo de la misma (punto 4.2.1).

Se desarrollan a continuación cada uno de estos puntos.

4.3.1 Parámetros

Los parámetros a analizar definirán el tipo de envase (Anexo 1) y el orden de llenado, así como el modo de conservación.

- Parámetros Físico-químicos

  En el caso de muestras utilizadas para la determinación de parámetros físico-químicos, es necesario proceder al llenado completo de los envases, efectuando su cierre de forma que no exista capa de aire por encima de la muestra. Esto minimiza la interacción con la fase gaseosa y la agitación durante el transporte y, consiguientemente, la alteración de las concentraciones de determinados parámetros (variaciones de pH, carbonatos, bicarbonatos, metales, color, compuestos orgánicos volátiles, etc.). No obstante, esta medida no se llevará a cabo cuando las muestras vayan a ser posteriormente congeladas, o requieran una homogeneización previa.

  En el caso de análisis de contaminación por metales en grifo del consumidor se recomienda seguir las indicaciones del Real Decreto 140/2003 consolidado [17].

  En función del parámetro o parámetros analizar y/o del tiempo de conservación previsto puede ser necesaria la adición de conservantes o la

realización de algún tipo de pretratamiento (Ver apartado 4.4.1 y Anexo 1). En estos casos, la toma se hará evitando que rebose el agua.

- Parámetros Microbiológicos

  Para la realización de esta toma hay que proceder de forma que se minimice el riesgo de contaminación del frasco por contacto con las manos.

  No abrir el envase hasta el momento de llenado, para lo cual se sacará el tapón con una mano, procurando no tocar con los dedos ni el interior del tapón ni el cuello del envase, durante el proceso. El envase deberá tomarse con la otra mano, cerca de la base y se llenará lentamente para evitar salpicaduras, reduciendo para ello el flujo del agua a una corriente constante.

  El envase utilizado para su conservación y transporte debe ser estéril y no deberá enjuagarse previamente y tampoco se llenará en su totalidad, de forma que se deje un espacio de aire antes de cerrarlo; esto evita las contaminaciones accidentales y permite la homogeneización de la muestra antes del análisis.

  El envase deberá contener un agente reductor, como el tiosulfato de sodio pentahidratado, para detener la reacción del oxidante utilizado como desinfectante (cloro, cloramina, bromo u ozono). El tiosulfato sódico no tiene efecto sobre la muestra y puede utilizarse también para aguas no cloradas [(19)]. Deben añadirse 0,1 ml de tiosulfato de sodio pentahidratado (18 mg/ml) por cada 100 ml de muestra, lo que permite inactivar concentración mínima de cloro residual de 2 mg/l y de hasta 5 mg/l.

  En el caso de Legionella, en función del objetivo de la toma, el Real Decreto 865/2003 [(9)] en su Anexo 6 establece las pautas concretas para realizar la toma de muestra. En aquellos casos en los que no se incurre en contradicción con este Real Decreto, se debe considerar lo indicado en la norma UNE 100030 [(11)] en su Anexo F.

- Patógenos y virus

  Se procede de modo similar a lo descrito anteriormente, pero con la diferencia de los grandes volúmenes necesarios para realizar estas determinaciones [(5)]. Para evitar las dificultades que conlleva manipular, refrigerar o agitar estos volúmenes, se recomienda hacer una etapa de concentración in situ (floculación, centrifugación o filtración con un filtro de cartucho que posteriormente se transporta al laboratorio). Pueden emplearse bombas peristálticas con tubo estéril.

En el caso de sistemas de tratamiento y distribución para el control del agua suministrada se sugiere [6]:

- Purgar (si se solicita muestra para carbono orgánico total) durante 3 min o hasta que la temperatura sea constante.
- Tomar la muestra de carbono orgánico total.
- Cerrar el grifo.
- Limpiar el grifo.
- Purgar.
- Tomar el resto de las muestras para parámetros físico-químicos (incluidas las determinaciones "in situ") en el orden apropiado para minimizar la contaminación cruzada de las muestras por reactivos.
- Cerrar el grifo.
- Retirar los dispositivos accesorios (ver tabla 1) [19].
- Desinfectar el grifo (ver tabla 1).
- Purgar el grifo (ver tabla 1).
- Tomar las muestras para parámetros microbiológicos.

Si se usa hipoclorito (lejía) para desinfectar el grifo, se debe medir el cloro residual libre antes de tomar las muestras.

Tabla 1: Toma de muestras para ensayos microbiológicos con distintos objetivos [19].

Objetivo /Tipo de agua	Retirar accesorios	Desinfectar	Aclarar
Calidad en la red de distribución principal	Sí	Sí	Sí
Calidad tal y como se suministra en el grifo	Sí	Sí	No[1] (mínimo)
Calidad tal y como se consume en el grifo	No	No	No

[1] Aclarar ligeramente sólo para anular los efectos de la desinfección del grifo.

4.3.2 Matriz, punto de toma y objetivo

4.3.2.1 Toma de muestra de agua de consumo

Habitualmente esta toma de muestra se realizará en un grifo. Este tipo de toma puede requerir la retirada de filtros u otros accesorios, la desinfección del grifo (si se va a tomar muestras para la determinación de parámetros microbiológicos) o a la realización de una purga antes de tomar la muestra dependiendo del objetivo de la toma:

a) Si el objetivo es determinar la calidad del agua en el sistema de distribución (red de distribución, depósitos, bocas de riego):

   Los grifos deben ser seleccionados de forma que se encuentren próximos a los conductos principales, que se encuentren limpios y sin accesorios, y que puedan ser desinfectados. Además deberá procederse a una purga previa para asegurar una toma de muestras representativa del agua que circula por la conducción.

   Si se trata de bocas de riego se utilizarán dispositivos auxiliares (ver Anexo 2) que permitan operar como en el caso de un grifo. Para parámetros microbiológicos se han de descartar elementos que no se pueden limpiar y desinfectar con plena seguridad y que pueden alterar la representatividad de la muestra del sistema de distribución y tras los cuales no se produce consumo. Las bocas de riego, hidrantes o similares no son adecuados para obtener muestras microbiológicas representativas de la red de suministro.

b) Para conocer la calidad del agua tal y como se suministra para su consumo, es decir, para evaluar la calidad del agua de consumo incluyendo la red de servicio interior del edificio, no se realizará purga.

c) Para evaluar la calidad del agua en condiciones reales de consumo o exposición (p.ej. en caso de epidemias, control de metales en grifo del consumidor según Real Decreto 902/2018 [(20)], Legionella spp. etc), se tomará la muestra inmediatamente después de haber abierto el grifo. No se desinfectará el grifo ni se realizará purga.

Si es necesaria la desinfección se procede de la siguiente forma:

- Si es posible flamear, con el grifo cerrado se flamea el extremo del mismo mediante una llama obtenida con algodón empapado en alcohol, y sostenido con pinzas o cualquier otro sistema que permita flamear, y se deja correr el agua para enfriar antes de realizar la toma.

- Si no se pudiera flamear el grifo (por el tipo de material del mismo o por otras circunstancias) es preciso considerar otros métodos de desinfección, por ejemplo se limpia con un algodón empapado en hipoclorito, isopropanol o etanol [(19)] y, a continuación, se elimina el exceso dejando correr el agua del propio grifo.

Si hay que realizar purga, se deja correr el agua durante cierto tiempo con el fin de que se renueve el agua contenida en las tuberías que le alimenta. Para verificar que se ha renovado se pueden realizar las siguientes comprobaciones:

- dejar correr aproximadamente 3 minutos [(6)], o
- comprobación de temperatura constante

Después del proceso de purga se procederá al llenado según se trate de ensayos de parámetros físico-químicos o microbiológicos.

En el caso de no disponer de grifo (por ejemplo, depósitos o puntos del interior de la ETAP), se introducirá en la masa de agua el envase mediante un dispositivo auxiliar lastrado (cazo, cubo, etc.) sostenido por una cuerda o pértiga telescópica (debidamente desinfectado), y sumergiendo unos 30 cm de la superficie, alejado del punto de cloración y de llenado.

4.3.2.2 Toma de muestra de agua de continental

En este caso el objetivo general se centra en evaluar la calidad del agua para su uso posterior, posible impacto ambiental o episodios puntuales de contaminación.

En todos estos casos, una vez en el punto de toma de muestra se procede como sigue:

<u>Aguas superficiales</u>

a) Corrientes de agua (ríos, canales, arroyos, etc.)

El envase seleccionado se tomará por su base y tras ser enjuagado con el agua a muestrear[2], se introducirá en el agua verticalmente y con la boca hacia abajo hasta una profundidad de unos 30-50 cm aproximadamente (si no es factible se evitará en todo caso recoger la capa superficial en la medida de lo posible). Alcanzado este punto, se gira el envase lentamente hasta colocarlo en sentido contrario a la corriente y en dirección paralela a la superficie, de forma que se cargue por el movimiento natural de las aguas.

En caso de bajos caudales se debe continuar girando el envase hasta que se haya desplazado todo el aire de su interior y sea reemplazado por el agua, evitando siempre que sea posible que la boca del envase salga al aire libre.

Cuando la toma de muestra haya de efectuarse en puntos situados en un cauce, se ha de realizar cuando la turbidez que se haya podido provocar por la entrada en el cauce haya desaparecido.

Si no se cuenta con un acceso practicable, se emplearán medios que permitan alcanzar el punto desde la orilla, o al menos lograr la máxima

[2] *Esta operación no se llevará a cabo cuando se vayan a efectuar determinaciones microbiológicas en la muestra o cuando se observe la presencia de aceites o hidrocarburos en el agua en la zona de toma de muestra.*

aproximación. Para ello se podrá utilizar un tomamuestras manual metálico, donde se dispone el envase adecuado, acoplado a una pértiga telescópica.

En la toma de muestras superficiales desde altura se desaconseja la utilización de botellas hidrográficas, debiéndose hacer uso de envases acoplados a un tomador de muestra lastrado.

b) Cuando la toma de muestra tenga que efectuarse en puntos situados en aguas embalsadas las muestras se recogerán empleando sistemas como pértigas, botella lastrada o botellas hidrográficas en caso de muestra en profundidad.

c) En el caso de que la finalidad de la toma de muestra sea la realización de una toma en las proximidades de una captación de agua, la muestra se obtendrá de modo similar al punto anterior.

d) En manantiales naturales o fuentes de caudal continuo, sin dispositivos de intermitencia, se tomará la muestra directamente sin adoptar medidas especiales de drenaje.

Aguas subterráneas

Se pueden diferenciar dos tipos de toma de muestra distinguiendo entre perforaciones o pozos, en los que hay instaladas bombas de forma permanente, y aquellos en los que no hay dispositivos de bombeo permanentes.

En el primer caso se suele disponer de un grifo o algún tipo de salida metálica, siguiéndose entonces lo indicado en 4.3.2.1.

En el caso de perforaciones o pozos que no dispongan de sistemas de bombeo permanentes, se muestrean con:

- una bomba sumergible.
- un dispositivo de toma de muestra estéril (bailer) que será preferentemente desechable.
- envases que incluyan un porta botellas lastrado.

Agua de Piscina

Según Real Decreto 742/2013 [8], los puntos de toma de muestra establecidos son:

- En la entrada del vaso o salida de tratamiento antes de la entrada del vaso (las piscinas de nueva construcción dispondrán de grifos adecuados para la toma de muestra instalados en el punto de muestreo del circuito).

- En el propio vaso, en la zona más alejada a la entrada del agua al propio vaso.

Se procede como sigue:

Abrir el envase, evitando el contacto con la boca del envase. Se sumerge la botella a una profundidad de 10-30 cm y se llena colocando el envase en sentido contrario al flujo, cerrando el envase inmediatamente. En el caso que no sea posible la toma directa se utilizará una pértiga telescópica.

4.3.2.3 Toma de muestra de agua residual

Los objetivos que se pueden considerar guardan relación con la caracterización de las aguas residuales, calidad de vertidos, episodios puntuales de contaminación y operación y rendimiento de los procesos de depuración.

Cuando la toma de muestra debe realizarse en más de un envase es necesaria una homogeneización previa, por lo que deberá tomarse un volumen suficiente de muestra en un recipiente adecuado, y posterior trasvase a los envases finales. La toma varía en función del punto:

- Final de tubería y cascada o grifo: recipiente de mayor volumen, agitar, homogeneizar y trasvasar a envase final .
- Flujo por tubería en canal: recipiente de mayor volumen, agitar, homogeneizar y trasvasar a envase final.
- Arqueta: La toma de muestra de forma manual se realiza utilizando un recipiente que, tras ser enjuagado con el agua a muestrear[3], se introduce de forma directa o mediante un dispositivo adecuado en la masa de agua a muestrear, con el fin de acceder en lo posible a la lámina intermedia de agua, para asegurar su homogeneidad evitando la entrada de sedimentos del fondo. Agitar, homogeneizar y trasvasar a envase final.

En caso de no tener acceso hasta las proximidades del punto de toma de muestra, se emplearán medios que permitan alcanzarlo desde el lugar de mayor cercanía posible. Para ello se podrá utilizar una pértiga telescópica o un cabo que permita su manejo desde altura.

En el influente de la EDAR, realizar la toma de muestra a continuación de la reja de desbaste de gruesos y finos, con objeto de eliminar los sólidos gruesos y suciedad arrastrada por la red de saneamiento.

---

[3] *Este enjuague no se efectuará en caso de observar en la masa de agua a muestrear la presencia evidente de hidrocarburos y/o aceites y grasas. Tampoco se realizará si han de determinarse en la muestra parámetros microbiológicos [(4)].*

En el efluente de la EDAR, realizar la toma de muestra a continuación del sistema de desinfección (laberinto de cloración, ultravioleta,…) Indicar en el registro de toma de muestra si el sistema de desinfección se encuentra en funcionamiento.

En el caso de toma de muestra en alcantarillado, canales y pozos de inspección se recomienda además de lo descrito anteriormente, escoger un emplazamiento en el que el efluente tenga un flujo turbulento, para asegurar una buena mezcla.

4.3.2.4 Toma de muestra de agua marina

Pueden definirse como objetivos de la toma su caracterización, la calidad del agua marina, efectos de contaminación y posibles efectos antropogénicos.

En función de la profundidad la sistemática es la que sigue [7]:

a) Aguas poco profundas (menos de 1,5 m)

Se toma una pértiga extensible de aproximadamente 3 m de longitud, adaptándose en su parte final el envase necesario para la toma de la muestra, que se ha de introducir con la boca del envase en posición invertida hasta la profundidad de toma de muestra. Evitar la entrada de materiales flotantes (plásticos, algas, etc.). Para sacar el envase, rotarlo hacia un lado y levantarlo hacia arriba, permitiendo la salida del aire al llenar el envase. Si existe corriente, se coloca y se mantiene la botella a contracorriente.

Se debe tener especial atención en no remover el fondo del punto de toma.

b) Aguas profundas (más de 1,5 m)

Se dispone de una botella tipo Ruttner o Niskin. Se lanza la botella anudada a un medidor de la profundidad y se introduce en el agua hasta la profundidad deseada tomando la muestra mediante la percusión del testigo. Seguidamente se vacía mediante el grifo que dispone dicha botella en el envase adecuado.

4.4 SISTEMÁTICA DE TOMA DE MUESTRA COMPUESTA

Las muestras compuestas pueden ser tomadas manual o automáticamente, independientemente del tipo de muestreo (en función del tiempo, del volumen o del caudal).

Las muestras compuestas proporcionan datos sobre la composición media. Por lo tanto antes de combinar muestras, es conveniente verificar que son este tipo de datos los que se requieren, o que el(los) parámetro(s) de interés no varía(n) significativamente durante el periodo de muestreo. [15]

La toma de muestra compuesta se suele utilizar generalmente en aguas residuales, bien por que así lo establece la legislación o para saber si se cumplen límites fijados basados en la calidad media del agua. En el caso de agua de consumo, la toma de muestra compuesta no suele estar indicada excepto para estudios especiales. [6]

Para la composición de la muestra compuesta, el volumen mínimo de cada muestra individual debe ser mayor de 50 ml. [4]

Muestra compuesta en el tiempo

Constituida por submuestras discretas del mismo volumen recogidas a intervalos, generalmente, regulares de tiempo. Se emplea en los casos en los que el caudal del efluente es constante, o bien no es posible la medida del caudal.

Muestra compuesta proporcional al caudal

Constituida por submuestras discretas con volúmenes proporcionales al caudal circulante. Se emplea cuando se quiere conocer la carga contaminante (flujo másico) del efluente o cuando el objetivo es saber la concentración media de todo el volumen del efluente en un periodo de tiempo. También se emplea en aquellos casos en los que el caudal del efluente no es constante.

- A intervalos regulares de tiempo (con registro obligatorio de caudal)
    - Con el caudal medio del periodo anterior (generalmente una hora)
    - Con el caudal puntual (en el momento de la toma de la sub- muestra)
    - Las submuestras se pueden tomar a intervalos regulares de tiempo, que posteriormente se compondrán proporcionalmente al caudal.

- A intervalos regulares de caudal
    - Se toma una submuestra cuando pasa un determinado volumen de agua.

Muestreo con equipo automático

Cuando la toma de muestra se realiza con muestreador automático, deben establecerse procedimientos específicos de aseguramiento de la calidad, como por ejemplo, los que se indican a continuación:

a) Posición del punto de captación de agua.

El equipo se colocará en el lugar más próximo al punto de muestreo, manteniendo una posición elevada con respecto al mismo y el tubo, de longitud adecuada (lo más corta posible), permanentemente descendiente y evitando tensiones y codos. Esto evita contaminación cruzada entre muestras individuales, la congelación de agua en el interior del tubo y garantiza el buen desarrollo de los procesos de purga que realiza el aparato.

Siempre que sea posible, la boca de toma no se depositará en el fondo. Se intentará colocar en el centro del flujo, en zonas de buena mezcla, evitando las esquinas, paredes y zonas de acúmulo de sólidos en suspensión. Debe evitarse las zonas muy turbulentas ya que puede haber problemas captando el volumen.
La boca del tubo debe protegerse para evitar ser obturado por plásticos y papeles.

b) Programación del equipo en función de los objetivos de la toma de muestra (intervalos de tiempo y volúmenes de muestra de las sub-muestras), refrigeración, diferentes envases con distintos conservantes, bidón único o 24 botellas, etc.

c) Verificación del volumen de captación. El error del volumen tomado frente al volumen programado no debe diferir en más de un 5%[(4)].

d) Transferencia de las muestras compuestas tras homogeneización a los recipientes de muestra teniendo en cuenta el destino final de las mismas (tipo de análisis requerido).

e) Se deben tener criterios de aceptación/rechazo en aquellas procesos que pudieran afectar a la actividad: no toma de muestra, llenado parcial, temperatura, etc.

f) Limpieza y mantenimiento del equipamiento. Sustitución de tubos si procede [(4)].

4.5 CONSERVACIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

La conservación solo retrasa los cambios químicos y biológicos que inevitablemente se producen tras la toma de muestra, ya que nunca puede conseguirse la estabilidad completa, independientemente del tipo de muestra, por lo que es esencial analizar la muestra con el mínimo retraso posible [10].

Para una correcta conservación de las muestras entre la toma y su análisis en el laboratorio, además de las características que deben tener los envases de toma (ver apartado 4.2.4.2) deben tenerse en cuenta tres factores: necesidad de adición de reactivos conservantes, tiempo y temperatura de conservación.

4.5.1 Adición de reactivos de conservación

Las condiciones de conservación difieren en función de las familias de compuestos, estableciéndose diferencias de acuerdo a si los análisis a realizar corresponden a parámetros físico-químicos, biológicos o radioquímicos [15]. En la tabla incluida en el Anexo 1 se definen los diferentes criterios establecidos para la conservación de muestras, así como los conservantes a utilizar en cada caso.

La adición de los reactivos de conservación (ver apartado 4.2.4.1) puede realizarse:

a) previamente a la toma de muestra, en los envases que el laboratorio proporciona al personal de toma de muestra.
b) “in situ” en el momento de la toma.
c) a la recepción de la muestra en el laboratorio.

La decisión de realizarlo en uno u otro momento dependerá del tipo de muestra y parámetro a determinar, del tiempo de transporte de la muestra, de la peligrosidad en la manipulación de reactivos “in situ”, etc.

4.5.2 Tiempo entre la toma de muestra y el análisis

El período de tiempo transcurrido entre la toma de muestra y el análisis en el laboratorio debe ser lo más corto posible para garantizar la fiabilidad de los resultados obtenidos. Por este motivo, el proceso de toma de muestra debe realizarse de manera coordinada con la actividad de ensayo.

El tiempo transcurrido entre la toma de muestra y el análisis incluye el tiempo del transporte, la recepción y el procesado de la muestra. La suma de estos tres periodos debe ser inferior al período máximo de conservación establecido en las tablas correspondientes, donde se resumen las recomendaciones en lo que se refiere a tiempos máximos (Anexo 1). En el caso en que las normas de ensayo específicas establezcan condiciones particulares, estas prevalecerán sobre las indicaciones de las normas generales.

En el Anexo 3 se presenta el análisis de datos y los resultados del ejercicio interlaboratorios organizado por el Grupo de Trabajo de Laboratorios en comparación con la propuesta incluida en el Anexo C de la norma UNE-EN ISO 5667:3 2019, en relación con los periodos de estabilidad de las muestras para determinados analitos. En este caso, la AEAS ha seleccionado de entre varias ofertas al organizador comercial independiente IELAB, proveedor de Programas de Intercomparación acreditado frente a los requisitos de la norma UNE-EN ISO/IEC 17043, para la puesta en marcha de un ejercicio basado en el protocolo propuesto por el Grupo de Trabajo para la determinación de cloro libre y total en agua de consumo.

En este sentido, la norma UNE-EN ISO 7393-2:2019 [(21)], indica (apartado 8) que si las muestras no pueden analizarse in situ estas pueden trasportarse al laboratorio y analizarse inmediatamente tras su recepción, siendo el laboratorio quien pueda determinar el periodo máximo de almacenamiento.

Este estudio, en el que han participado 21 laboratorios, permite confirmar de forma general la idoneidad del uso de material de vidrio topacio para la toma de muestras en la determinación de cloro libre y total en agua de consumo. Este tipo de envase junto con determinadas condiciones de temperatura de conservación garantiza la realización del ensayo en tiempos que alcanzan al menos las 8 horas para concentraciones de 0,2 mg/L de cloro libre.

Tal y como se indicaba en la primera edición de esta Guía, se ha ampliado este estudio mediante la evaluación de muestras de agua de consumo humano naturales. En este segundo estudio han participado 17 laboratorios ubicados en 10 Comunidades Autónomas de la geografía española. Los resultados obtenidos, que se recogen también en el Anexo 3, confirman que con el uso de frascos de vidrio topacio, transportados y conservados en condiciones de refrigeración, el periodo de conservación de muestra para cloro libre residual puede extenderse hasta 8 horas antes de la realización del análisis, mientras que para el cloro combinado el periodo puede extenderse hasta 24 horas.

4.5.3 Temperatura de transporte

El transporte de las muestras debe realizarse siempre en condiciones de refrigeración. Dependiendo del tiempo total de transporte pueden darse dos situaciones:

- Tiempo inferior o igual a 8 horas. En este caso, será suficiente con demostrar que la temperatura durante el transporte no ha aumentado.
- Tiempo superior a 8 horas. En este caso el laboratorio deberá mantener un registro de temperaturas durante el transporte que demuestre que las condiciones de refrigeración de la nevera se mantienen en (5 ± 3) ºC. El laboratorio deberá establecer tiempos máximos de recuperación de la temperatura consigna, para actuar ante incumplimientos.

Para ello se pueden emplear diferentes opciones en función de si se quiere controlar la temperatura de la nevera o la de las muestras.

- Registradores tipo data logger.
- Indicadores.
- Muestra testigo (refrigerada previamente o no).
- Termómetro de máxima-mínima (poner en marcha en la primera toma de muestras de la ruta).

En general, para conseguir unas condiciones óptimas de refrigeración pueden utilizarse refrigeradores conectados al propio vehículo o bien neveras o arcones convencionales a los que se adicionan bloques refrigerantes o hielo fundido[4]. La utilización de los bloques es más adecuada que la del hielo convencional, al producir un efecto refrigerante mayor y no fundirse, limitando así el riesgo de desprendimiento de etiquetas, borrado de marcas de tinta o bien una posible contaminación de las muestras. De todos modos, se debe:

a) Evitar la congelación de las muestras, excepto en aquellos casos en que la técnica de toma lo requiera.
b) Ajustar el número, volumen y posición de los bloques refrigerantes al número de muestras, su masa y su temperatura inicial.
c) Transportar de forma separada las muestras frías de las calientes.

A su vez, debe tenerse en cuenta que hay un período de tiempo necesario para equilibrar la temperatura de las muestras, que será variable debido a:

- La nevera o arcón (volumen, características de aislamiento)
- La temperatura exterior
- La masa de las muestras de agua y su temperatura inicial

[4] Las neveras de transporte se mantendrán siempre limpias. En la medida de lo posible se emplearán neveras de uso exclusivo en función del tipo de muestra.

- La masa de hielo

Durante el transporte pueden producirse algunas incidencias:

- Avería o rotura del termómetro o sonda.
- Fallo del equipo refrigerador.
- Aumento de la temperatura en la nevera, por temperatura ambiente o temperatura de las muestras

Toda incidencia debe quedar registrada y será evaluada a la llegada al laboratorio por la persona responsable, con objeto de valorar la aceptación o no de las muestras.

4.5.4 Temperatura de conservación durante la toma automática

Cuando las muestras han de permanecer durante cierto tiempo en el interior del equipo, es necesario tomar precauciones para asegurar que la muestra no sufre degradación. Es conveniente que el compartimento de muestras se mantenga a una temperatura lo más baja posible. sin que se produzca congelación de las muestras para poder prevenir así cualquier alteración general de la muestra [15].

4.6 RECEPCION EN EL LABORATORIO

Los laboratorios deben disponer de procedimientos para la recepción, manipulación, protección, conservación y la disposición final de la muestra de ensayo, incluyendo todas las consideraciones necesarias para proteger su integridad, así como los intereses del laboratorio y del cliente.

Los envases deben llegar al laboratorio con la información necesaria para su correcta identificación. En el caso de utilizar etiquetas, estas deben ser resistentes al agua y asegurar que la información no va a alterarse en caso de refrigeración o congelación de las muestras. Para cada una de las muestras recibidas, se debe disponer de información relativa a la fecha, hora y lugar de toma de muestra, tomador de la muestra, y cualquier otra información de interés (Punto 4.2.2) [15].

A la recepción de las muestras, se deben registrar todas las anomalías o desviaciones respecto a las condiciones especificadas en el procedimiento de recepción de muestras o en el propio método de ensayo. Estas pueden ser debidas a que los envases no sean adecuados, que no se disponga del volumen mínimo requerido, al aspecto de las muestras, etc. El laboratorio debe decidir en estas situaciones si las muestras van a poder ser analizadas y, si es necesario, comunicar al cliente las desviaciones detectadas y obtener su consentimiento para proseguir con los trabajos.

Se debe establecer un sistema de codificación unívoca de la muestra dentro del laboratorio (puede conservar el código asignado en la toma de muestras o se le asigna otro propio del laboratorio), que garantice la trazabilidad con todos los registros y documentos asociados desde la toma de muestra hasta la emisión del informe de ensayo correspondiente. La identificación debe conservarse durante toda la permanencia de la muestra en el laboratorio. Del mismo modo, debe establecerse la sistemática para la identificación de las posibles submuestras en función de los distintos parámetros a determinar y la conservación específica de cada uno de ellos.

4.7 CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se establece para identificar los errores asociados a la toma de muestra [(14)].

Por esta razón, es necesario asegurar el proceso mediante sistemáticas que controlan los factores que pueden ser fuentes de error (conservación, contaminaciones, manipulación de las muestras, etc.). Además, cobra especial importancia la cualificación del personal implicado.

Un programa de control de calidad en la toma de muestra, que debe estar documentado, tiene tres objetivos:

a) Controlar y detectar errores que permitan rechazar muestras no válidas.
b) Demostrar que las posibles fuentes de error están controladas adecuadamente.
c) Estimar la variabilidad de la toma de muestra (mediante replicados/duplicados de muestras).

El esfuerzo realizado en el control de calidad de toma de muestra depende de los objetivos del programa [(14)], y puede revisarse atendiendo a los datos históricos disponibles en el laboratorio.

Un programa de control de calidad adecuado podría contener alguna o varias de las sistemáticas enumeradas a continuación, atendiendo a la idoneidad para el fin previsto.

Se recomienda que el control de calidad en la toma de muestras esté en torno al 2% de las muestras tomadas [(154)].

4.7.1 Análisis de blancos

Este tipo de control se establece para identificar errores relacionados con la contaminación debido a los envases, equipos, el transporte o al propio proceso de toma de muestras.

Los parámetros a analizar dependerán del tipo de análisis y también las familias de ensayo, según la técnica analítica que se utilice. Se seleccionarán los parámetros más significativos de cada familia de ensayo en función del tipo de agua (matriz) objeto de la toma de muestra. La frecuencia puede variar en función del tipo de blanco y del objeto de la toma de muestra.

Un esquema general para el control de blancos puede ser el siguiente:

A partir de un volumen de muestra suficiente de, por ejemplo, agua desionizada, se preparan dos partes:

- Parte A, que se mantiene en el laboratorio en las condiciones de conservación preestablecidas.
- Parte B, que se traslada al punto de toma de muestra y se subdivide en dos porciones, B1 y B2. De estas, la porción B1 es procesada[5] como una muestra real, en tanto que B2 es sometida simplemente a desplazamiento.

Una vez en el laboratorio, las muestras A, B1 y B2 se reciben al mismo tiempo y pasan a ensayo.

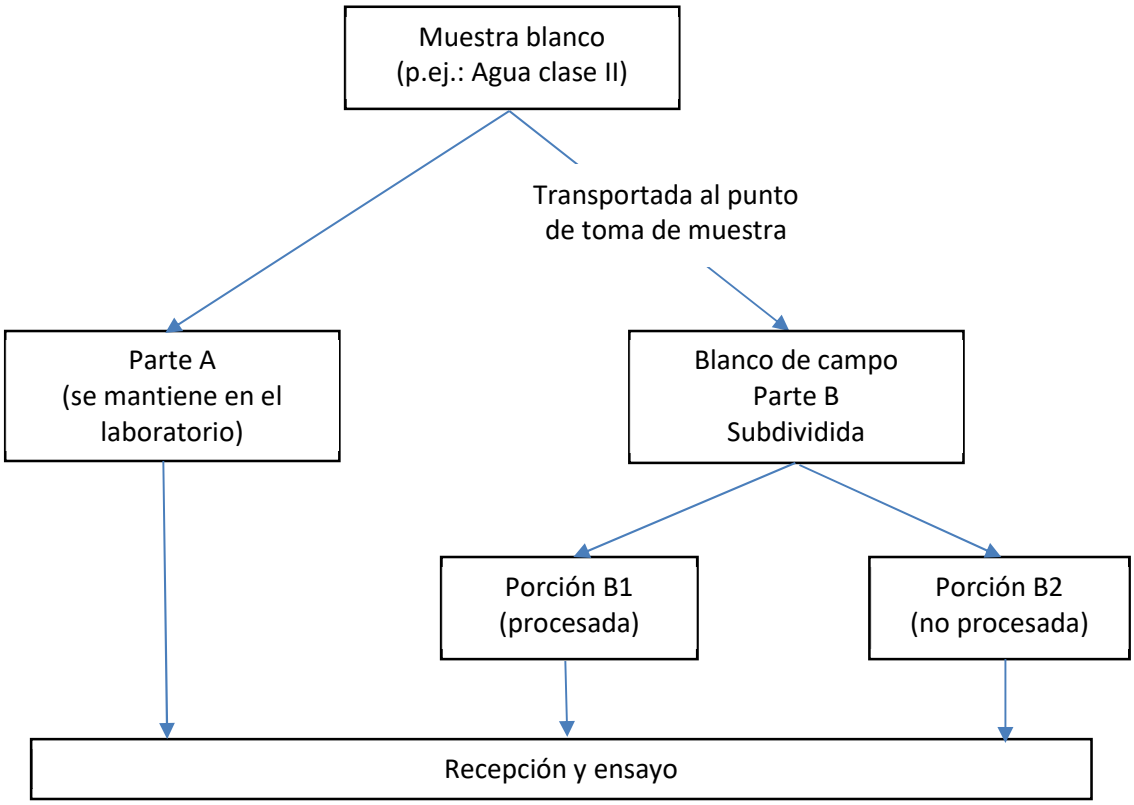
Esta sistemática permite:

- Identificar los errores debidos a la toma, procesado y transporte, por comparación de los resultados de la parte A y B1.
- Identificar los errores debidos al transporte de la muestra, por comparación de los resultados obtenidos para la parte A y B2.
- Identificar errores de contaminación de envases o del propio proceso, por comparación de resultados de B1 y B2.

Si durante el proceso de toma se hace uso de algún dispositivo especial o equipos de filtración, su posible contaminación puede ser evaluada a través de la porción B1, ya que esta se procesa utilizando la misma técnica que una muestra real, en la medida que resulte practicable.

[5] *Manipulación de la muestra de su estado original para convertirla al estado deseado.*

Esquemáticamente:



Fuente: UNE-EN ISO 5667-14:2017

Para la evaluación de los resultados, se puede utilizar como valor guía el límite de cuantificación. En todos los casos, los valores experimentales obtenidos en las muestras A, B1 y B2 deben ser inferiores al límite de cuantificación del parámetro analizado. En algún caso (por ejemplo, parámetros con valores habituales en el límite de cuantificación y matriz de agua de consumo), puede ser necesario considerar un criterio más estricto comprendido entre el límite de cuantificación y un tercio de ese valor.

4.7.2 Análisis de duplicados

Otro tipo de control de calidad puede realizarse mediante duplicados (dividir la muestra en dos alícuotas). Este tipo de control se utiliza en el laboratorio para estimar la repetibilidad del proceso analítico y, en la toma de muestra, tiene como objetivo evaluar la variabilidad asociada a la toma.

Hay que tener en cuenta que las fuentes de variabilidad que estarán incluidas no solo se refieren al propio proceso de toma de muestra, sino que incluyen, además:

- Condiciones de los envases

- Condiciones de transporte y almacenamiento
- Variabilidad en el método de análisis

El control con duplicados puede servir para controlar la homogeneidad de distintas fracciones de una misma muestra en matrices heterogéneas (por ejemplo, agua residual). Se trata de tomar una muestra y a partir de esta hacer dos submuestras. Para este tipo de control no sería necesario el análisis de todos los parámetros. El laboratorio puede seleccionar ciertos parámetros representativos.

El criterio de control debe basarse en datos de precisión, siendo acorde con la repetibilidad del laboratorio. Por ejemplo, evaluación del índice de compatibilidad o bien, después de tener un número suficiente de datos estimar un criterio de aceptación basado en rangos [(2)].

4.7.3 Muestras adicionadas

Este tipo de control permite identificar errores relacionados con la contaminación de recipientes de toma y del proceso, resultando útil para la verificación de errores debidos a inestabilidad de la muestra (compuestos orgánicos volátiles, metales traza, nutrientes, etc.). Sin embargo, su aplicación puede resultar bastante compleja, por lo que se propone a continuación un esquema simplificado elaborado a partir de la sistemática recogida en la UNE-EN ISO 5667-14 [(14)].

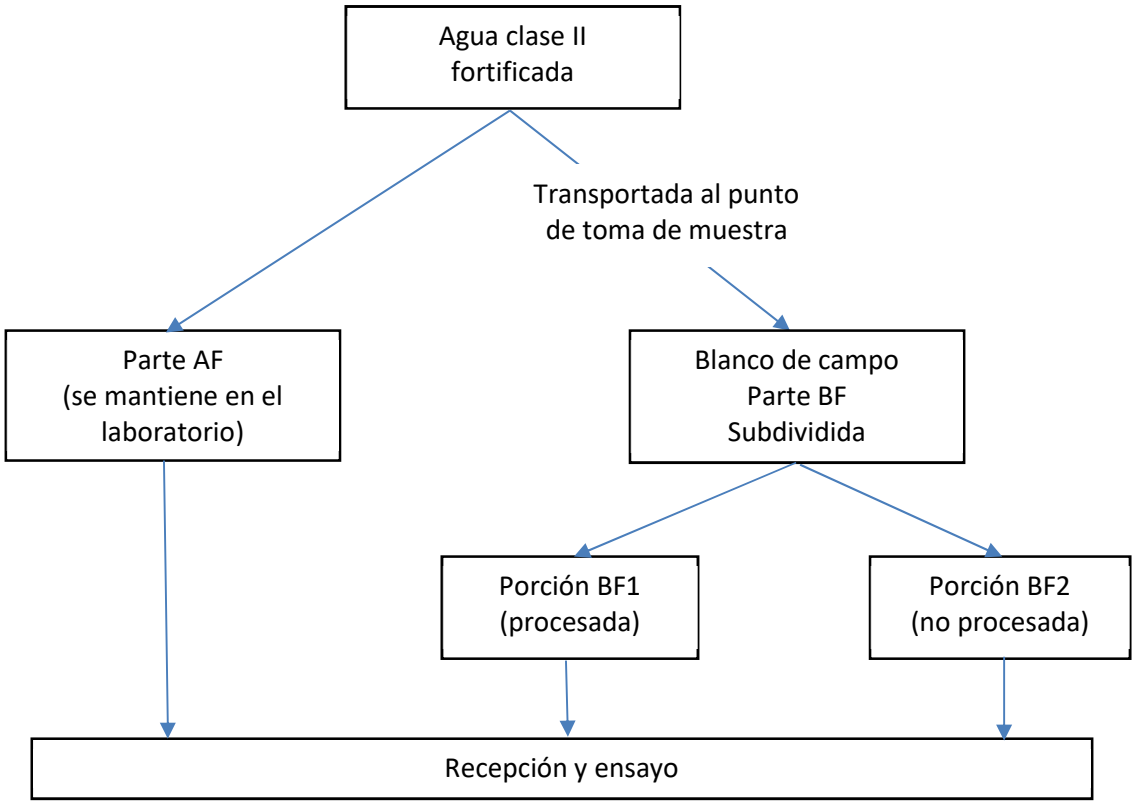
En un envase lavado según los procedimientos del laboratorio, de acuerdo a los parámetros que se van a controlar, tomar un volumen suficiente de agua desionizada. Fortificar la muestra de manera que las concentraciones resultantes permitan asegurar una precisión aceptable en los resultados de los parámetros que se van a analizar.

A partir de este volumen de muestra inicial se preparan dos partes:

- Parte AF, que se mantiene en el laboratorio en las condiciones de conservación preestablecidas.
- Parte BF, que se traslada al punto de toma de muestra y se subdivide en dos porciones, BF1 y BF2. De estas, la porción BF1 es procesada como una muestra real, en tanto que BF2 es sometida simplemente a desplazamiento.

Una vez en el laboratorio, las muestras AF, BF1 y BF2 se reciben al mismo tiempo y pasan a ensayo.

Esquemáticamente:



Fuente: UNE-EN ISO 5667-14:2017

Esta sistemática permite:

- Identificar los errores debidos a contaminación, procesado, inestabilidad y transporte, por comparación de los resultados de la parte AF y BF1.
- Identificar los errores debidos a la inestabilidad de la muestra y su transporte, por comparación de los resultados obtenidos para la parte AF y BF2.
- Identificar errores de contaminación de envases o del propio proceso, por comparación de resultados de BF1 y BF2.

En este caso, pueden emplearse como criterios de evaluación la recuperación o el índice de compatibilidad.

4.7.4 Análisis de los datos de control de calidad

La fiabilidad en el tiempo, de los datos del control de calidad, puede comprobarse mediante el uso de gráficos de control. En este sentido los gráficos de control proporcionan mucha información simplemente mediante un examen visual de los

mismos. En el Anexo III del documento "*Guía para el funcionamiento de los laboratorios de ensayo de aguas – Parte I: Criterios para el aseguramiento de la calidad de los ensayos (Revisión 1)*"[3] se pueden consultar distintos tipos de gráficos para el control de duplicados (precisión) y para el caso de muestras adicionadas (control de recuperación).

4.8 INFORMACIÓN QUE INCLUIR EN LOS INFORMES DE RESULTADOS

De toda la información recabada durante el proceso de toma de muestra, los informes específicos enviados al cliente deberán incluir, al menos:

- Referencia al plan de muestreo, si procede, y al método de toma de muestra utilizado.
- Tipo de muestras indicando la matriz.
- Tipo de toma de muestra: Puntual, compuesta (proporcional al tiempo o al caudal) o integrada.
- Fecha de la toma de muestra. En caso de muestras compuestas además será necesario incluir la fecha y hora de Inicio y de fin del ciclo de la toma muestra o duración del periodo de toma.
- Identificación inequívoca del punto de toma (puede recurrirse a planos, diagramas, geolocalización, etc.).
- Identificación de la muestra: códigos, tipo (puntual), matriz, etc.
- Todos los datos adicionales necesarios para la interpretación adecuada de la información remitida:
    - Condiciones ambientales de la toma, si puede afectar a los resultados.
    - Desviaciones en los periodos de conservación.
    - Desviaciones a los procedimientos de toma.
    - Si estuviese disponible o estimada, incluir la incertidumbre del muestreo requerida para la incertidumbre de medición para ensayos o calibraciones posteriores. En el Anexo 4 se incluye un ejemplo de evaluación de incertidumbre del muestreo.
    - Declaración de que la muestra ha sido aportada por el cliente, así como la información particular aportada por el mismo.

5 REFERENCIAS

1. Directiva (UE) 2015/1787 de la Comisión, de 6 de octubre de 2015, por la que se modifican los anexos II y III de la Directiva 98/83/CE del Consejo, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano.
2. Guía para el funcionamiento de los laboratorios de ensayo de aguas. Parte I Criterios para el aseguramiento de la calidad de los ensayos - Revisión 1 (www.aeas.es)
3. Guía para el funcionamiento de los laboratorios de ensayo de aguas. Parte II – Criterios para la validación de métodos de ensayo físico-químicos y microbiológicos (www.aeas.es)
4. ISO 5667-10:1992 Water quality -- Sampling -- Part 10: Guidance on sampling of waste Waters.
5. ISO 5667-21:2010 Water quality -- Sampling -- Part 21: Guidance on sampling of drinking water distributed by tankers or means other than distribution pipes.
6. ISO 5667-5:2006 Water quality -- Sampling -- Part 5: Guidance on sampling of drinking water from treatment works and piped distribution systems.
7. ISO 5667-9:1992 Water quality -- Sampling -- Part 9: Guidance on sampling from marine Waters.
8. Real Decreto 742/2013, de 27 de septiembre por el que se establecen los criterios técnico-sanitarios de las piscinas.
9. Real Decreto 865/2003, de 4 de julio, por el que se establecen los criterios higiénico-sanitarios para la prevención y control de la legionelosis.
10. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 22nd edition 1060C
11. UNE 100030:2017 para la Prevención y control de la proliferación y diseminación de Legionella en instalaciones.
12. UNE-EN ISO 3696:1996 Agua para uso en análisis de laboratorio. Especificación y métodos de ensayo.
13. UNE-EN ISO 5667-1:2007 Calidad del agua. Muestreo. Parte 1: Guía para el diseño de los programas de muestreo y técnicas de muestreo.
14. UNE-EN ISO 5667-14:2017 Calidad del agua. Muestreo. Parte 14: Guía para el aseguramiento de la calidad y el control de la calidad en el muestreo y manipulación de muestras ambientales de agua.
15. UNE-EN ISO 5667-3:2019 Calidad del agua. Muestreo. Parte 3: Conservación y manipulación de las muestras de agua.
16. UNE-EN ISO 5667-6:2017 Calidad del agua. Muestreo. Parte 6: Guía para el muestreo de ríos y cursos de agua.
17. Real Decreto 140/2003 consolidado de agosto de 2018, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano.
18. EPA-Guidelines. Regulatory monitoring and testing. Water and Wastewater sampling. June 2017

19. UNE-EN ISO 19458:2007. Calidad del agua. Muestreo para el análisis microbiológico.
20. Real Decreto 902/2018, de 20 de julio, por el que se modifican el Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano, y las especificaciones de los métodos de análisis del Real Decreto 1798/2010, de 30 de diciembre, por el que se regula la explotación y comercialización de aguas minerales naturales y aguas de manantial envasadas para consumo humano, y del Real Decreto 1799/2010, de 30 de diciembre, por el que se regula el proceso de elaboración y comercialización de aguas preparadas envasadas para el consumo humano.
21. UNE-EN ISO 7393-2:2019 Calidad del agua. Determinación del cloro libre y del cloro total. Parte 2: Método colorimétrico con N,N-dialquil-1,4-fenilendiamina, destinado al control de rutina. (ISO 7393-2:2017)

6 ANEXOS

- ANEXO 1: Tabla comparativa de tipo de envase, Conservantes, condiciones conservación y plazo caducidad por parámetro
- ANEXO 2: Equipos y dispositivos de toma de muestras.
- ANEXO 3: Estabilidad de muestras y compatibilidad de medidas para la determinación de cloro residual libre y total en agua de consumo.
- ANEXO 4: Evaluación de la incertidumbre del muestreo.

ANEXO 1 - TABLA COMPARATIVA DE LOS ENVASES, TIEMPOS Y CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO PARA LOS DIFERENTES PARÁMETROS ANALIZADOS

PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Parámetro	UNE EN ISO 5667-3 2019				STANDARD METHODS 1060 Collection and preservation of samples (2017) Published on line			
	Norma de referencia	Tipo envase	Condiciones almacenamiento[1]	Tiempo de almacenamiento	Tipo envase	Condiciones almacenamiento	Tiempo de almacenamiento	
							Recomendado	Regulado
Aceites y grasas		Vidrio	Acidificar a pH entre 1- 2 con HNO_3, H_2SO_4 o HCl. Rellenar el recipiente hasta el 90% dejando espacio de cabeza.	1 mes	Vidrio	Enfriar ≤6ºC. Añadir HCl o H_2SO_4 hasta pH<2	28d	28d
Alcalinidad		Plástico o vidrio	Para muestras ricas en gases disueltos es preferible in situ. Los procesos de reducción y oxidación durante el almacenamiento pueden alterar la muestra	14 d	Plástico, vidrio, [2]FP	Enfriar ≤6ºC	24h	14d
	ISO 9963-1:1994	[3]PE, vidrio borosilicatado	Para muestras ricas en gases disueltos es preferible in situ					
Amonio		Plástico o vidrio	La muestra debe filtrarse in situ. Acidificar entre pH 1-2 H_2SO_4	21 d	Plástico, vidrio, [2]FP	Analizar lo antes posible		
	ISO 15923-1:2013		La muestra debe filtrarse in situ	1 d				
	ISO 14911: 1998	[3]PE	La muestra debe filtrarse in situ. Acidificar a pH 3±0.5 HNO_3	14 d (en el caso de realizar el ensayo en el día de toma, no es necesario la filtración in situ)				
	ISO 11732: 2005	Vidrio, poliolefinas [4]PTFE	La muestra debe filtrarse in situ Acidificar entre pH 1-2 H_2SO_4. Almacenar en la oscuridad o utilizar recipientes de color oscuro			Acidificar entre pH 1-2 H_2SO_4. Enfriar ≤6ºC	7d	28d
		Plástico	La muestra debe filtrarse in situ. Congelar por debajo de -18ºC	1 mes				
Aniones: Bromuro	ISO 10304-1:2007	[3]PE o vidrio		1 mes	Plástico, vidrio, [2]FP		28d	28d

Parámetro	UNE EN ISO 5667-3 2019				STANDARD METHODS 1060 Collection and preservation of samples (2017) Published on line			
	Norma de referencia	Tipo envase	Condiciones almacenamiento[1]	Tiempo de almacenamiento	Tipo envase	Condiciones almacenamiento	Tiempo de almacenamiento	
							Recomendado	Regulado
Aniones: Cloruro	ISO 15682:2000	[3]PE o vidrio	Ningún requisito. Las técnicas comunes no tienen un efecto adverso.	1 mes	Plástico, vidrio, [2]FP		28d	28d
	ISO 10304-4: 1997	Plástico o vidrio						
	ISO 15923-1:2013							
Aniones: Fluoruro	ISO 10304-1: 2007	Plástico, pero no [4]PTFE		1mes	Plástico		28d	28d
	ISO 10359-1: 1992							
	ISO 10359-2: 1994							
	ISO/TS 17591-1:2016 ISO/TS 17591-2:2016							
Aniones: Nitrato	ISO 13395:1996	[3]PE o Vidrio		1 d	Plástico, vidrio, [2]FP	Analizar lo antes posible. Enfriar ≤6ºC	48h	48h 14 d para muestras cloradas
		[3]PE o Vidrio	Congelar a -18ºC	8d				
	ISO 15923-1:2013	Plástico o vidrio		1 d				
		Plástico o vidrio	Acidificar a pH 1-2 con HCl	7 d				
		Plástico	Congelar a -18ºC	1 mes				
Aniones: Nitratos en aguas residuales y superficiales		Plástico o vidrio	Las aguas deben filtrase in situ	4 d				
Aniones: Sulfato	ISO 10304-1:2007	Plástico o vidrio		1 mes	Plástico, vidrio, [2]FP	Enfriar ≤6ºC	28d	28d
	ISO 15923-1:2013							

Parámetro	UNE EN ISO 5667-3 2019				STANDARD METHODS 1060 Collection and preservation of samples (2017) Published on line			
	Norma de referencia	Tipo envase	Condiciones almacenamiento[1]	Tiempo de almacenamiento	Tipo envase	Condiciones almacenamiento	Tiempo de almacenamiento	
							Recomendado	Regulado
Carbono orgánico total	ISO 8245:1999	Plástico o vidrio	A pH 1-2 con H_2SO_4 o H_3PO_4. Si se sospecha de pérdida de compuestos orgánicos volátiles debida a la liberación de CO_2 por acidificación, entonces la acidificación no es apropiada. Refrigerar y analizar en las primeras 8h	7 d	Plástico o vidrio borosilicatado [2]FP	Analizar lo antes posible		
		Plástico	Congelar a -18ºC	1 mes		Acidificar a pH <2 H_2SO_4, HCl o, H_3PO_4. Enfriar ≤6ºC	7d	28d
Cationes: Calcio, Magnesio y Dureza	ISO 7980: 1986	[3]PE, [5]PP	Acidificar a pH 1- 2 con HNO_3 o HCl	1 mes	Plástico, vidrio, [2]FP	Acidificar a pH <2 H_2SO_4, HNO_3	6 meses	6 meses
	ISO 11885:2007	Para concentraciones normales [6]PE-HD, [4]PTFE. Para concentraciones bajas [7]PFA, [8]FEP						
	ISO 17294-2:2016							
	ISO 14911:1998	[3]PE	Acidificar a pH 3±0.5 con HNO_3					
Cationes: Sodio y potasio	ISO 11885:2007	Para concentraciones normales [6]PE-HD, [4]PTFE. Para concentraciones bajas [7]PFA, [8]FEP	Acidificar a pH 1- 2 con HNO3	1 mes				
	ISO 17294-2:2016							
	ISO 9964-3:1993	[3]PE						
	ISO 14911:1998	[3]PE	Acidificar a pH 3±0.5 con HNO_3					

Parámetro	UNE EN ISO 5667-3 2019				STANDARD METHODS 1060 Collection and preservation of samples (2017) Published on line			
	Norma de referencia	Tipo envase	Condiciones almacenamiento[1]	Tiempo de almacenamiento	Tipo envase	Condiciones almacenamiento	Tiempo de almacenamiento	
							Recomendado	Regulado
Cianuros totales	ISO 14403-1:2012 ISO 14403-2:2012	Plástico o vidrio	Añadir NaOH pH>12. Mantener la muestra en la oscuridad o utilizar recipientes de color oscuro	14 d 1 día en presencia de sulfuro 7 d	Plástico, vidrio, [2]FP	Analizar antes de 15 min. Añadir NaOH pH>12 si la muestra debe ser almacenada, enfriar ≤6ºC, en la oscuridad y añadir tiosulfato si hay presencia de cloro residual	24h	14d 24h si hay presencia de sulfuros
Cloro residual		Plástico o vidrio oscuros.	Análisis in situ	5 min	Plástico o vidrio	Analizar inmediatamente	0,25h	0,25h
Color	ISO 7887:2011	Plástico o vidrio	Las muestras se almacenan en la oscuridad o se utilizan recipientes de color oscuro Para aguas ricas en Fe (II) los análisis se realizan in situ	5 d) 5 min	Plástico, vidrio, [2]FP	Enfriar ≤6ºC	48h	48h
Compuestos Orgánicos Volátiles	ISO 15680:2003 ISO 11423-1:1997	Vidrio o viales de espacio de cabeza con tapones provistos de revestimiento interno de [4]PTFE	Acidificar a pH 1-2 con HCl, HNO_3 o H_2SO_4. Para muestras cloradas añadir 80 mg de $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ por cada 1000mL de muestra. Para purga y trampa el HCl interfiere.	7 d 5 d 2 d	Vidrio o viales de espacio de cabeza con tapones provistos de revestimiento interno de [4]PTFE	Enfriar ≤6ºC Acidificar a pH <2, HCl. Para muestras cloradas, añadir 1000mg de ácido ascórbico por litro (o 0,008% de tiosulfato sódico)	7d	14d
	ISO 11423-2:1997 ISO 20595:2018			2 d 1 d				
	ISO 17943:2016	Vidrio con tapones provistos de revestimiento interno PTFE	Mantener las muestras en la oscuridad o utilizar recipientes de color oscuro. Para muestras cloradas añadir 80 mg de $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ por cada 1000mL de muestra	5 d				

Parámetro	UNE EN ISO 5667-3 2019				STANDARD METHODS 1060 Collection and preservation of samples (2017) Published on line			
	Norma de referencia	Tipo envase	Condiciones almacenamiento[1]	Tiempo de almacenamiento	Tipo envase	Condiciones almacenamiento	Tiempo de almacenamiento	
							Recomendado	Regulado
Conductividad	ISO 7888:1985	Plástico o vidrio salvo vidrio sódico	Preferible analizar las muestras in situ	1 d				
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5)		Plástico o vidrio	Mantener la muestra en la oscuridad o utilizar recipientes de color oscuro	1 d	Plástico, vidrio, [2]FP	Enfriar ≤6ºC	6h	48h
		Plástico	Congelar por debajo de -18ºC Mantener la muestra en la oscuridad o utilizar recipientes de color oscuro	1mes (6 meses si DBO >50mg/L)				
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	ISO 15705:2002	Plástico o vidrio, [5]PP	Acidificar a pH 1-2 con H_2SO_4	6 meses	Plástico, vidrio, [2]FP	Analizar lo antes posible o acidificar a pH <2 H_2SO_4. Enfriar ≤6ºC	7d	28d
			Congelar por debajo de -18ºC	6 meses				
Fósforo	ISO 15681-1 :2003	Plástico o vidrio borosilicatado	Acidificar a pH 1-2 con H_2SO_4 o HNO_3	1 mes	Plástico, vidrio, [2]FP	Acidificar a pH <2 H_2SO_4. Enfriar ≤6ºC	28d	28d
	ISO 15681-2 :2003							
	ISO 11885:2007	Para conc normales [6]PE-HD, [4]PTFE. Para conc bajas [7]PFA, [8]FEP						
	ISO 17294-2:2003							
	ISO 6878:2004	Preferiblemente vidrio y si no [3]PE, [9]PVC						
		Plásticos	Congelar por debajo de -18ºC	6 meses				
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos	ISO 17993:2002 ISO 28540:2011	Vidrio con tapón con revestimiento interno [4]PTFE	Para muestras cloradas añadir 80 mg de $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ por cada 1000mL de muestra.	7 d para Naftaleno solamente 4 d				
Índice de actividad Alfa total, actividad Beta total y beta resto		Plástico	Acidificar a pH<2 con HNO_3	1 mes				
			Ninguna.	7 d				

Parámetro	UNE EN ISO 5667-3 2019				STANDARD METHODS 1060 Collection and preservation of samples (2017) Published on line			
	Norma de referencia	Tipo envase	Condiciones almacenamiento[1]	Tiempo de almacenamiento	Tipo envase	Condiciones almacenamiento	Tiempo de almacenamiento	
							Recomendado	Regulado
Mercúrio total	ISO 17294-2:2016	Plásticos o vidrio borosilicatado	Añadir 1 ml de HCl por cada 100ml de agua para asegurar un pH<1	6 meses	Plástico, vidrio, [2]FP lavado con ácido	Acidificar a pH <2 HNO_3. Enfriar ≤6ºC	28d	28d
	ISO 17852:2006	[4]PTFE, [8]FEP, Vidrio borosilicatado, cuarzo	Acidificar a pH 1-2 con HNO_3	6 meses				
	ISO 12846:2012	Plástico o vidrio borosilicatado	Añadir HCl 1 ml/ 100ml	2 d				
			La estabilización mediante un proceso de digestión utilizando un reactivo de bromuro de potasio-bromato de potasio tiene lugar en él laboratorio	1mes				
[10]Metales (Excepto mercurio)	ISO 15586:2003	[3]PE, [5]PP, [8]FEP	Acidificar a pH 1-2 con HNO_3	6 meses (As, B, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb) 1 mes (Ag, Al, Sb, Ba, Be, Co, Fe, Mn, Se)	Plástico, vidrio, [2]FP lavado con ácido	Acidificar a pH <2 HNO_3. Enfriar ≤6ºC	6 meses	6 meses
	ISO 11885:2007	Concentraciones normales [6]PE-HD, [4]PTFE						
	ISO 17294-2:2016	Concentraciones bajas [7]PFA, [8]FEP						
Nitritos todo tipo de aguas	ISO 13395:1996	Plástico o vidrio	Los análisis deben realizarse preferiblemente in situ	1 d	Plástico, vidrio, [2]FP	Analizar lo antes posible. Enfriar ≤6ºC		48h
	ISO 15923-1:2013							
Nitritos en aguas residuales y aguas superficiales		Plástico o vidrio	Las aguas deben filtrarse in situ	4 d				
Nitrógeno Kjeldahl		Plástico o vidrio o vidrio borosilicatado	Congelar por debajo de -18ºC	6 meses	Plástico, vidrio, [2]FP	Acidificar a pH <2 H_2SO_4. Enfriar ≤6ºC	7d	28d
	ISO 5663:1984		Acidificar a pH 1-2 con H_2SO_4	1mes				
Nitrógeno total	ISO 29441:2010	Plástico	Congelar por debajo de -18ºC	1 mes				

Parámetro	UNE EN ISO 5667-3 2019				STANDARD METHODS 1060 Collection and preservation of samples (2017) Published on line			
	Norma de referencia	Tipo envase	Condiciones almacenamiento[1]	Tiempo de almacenamiento	Tipo envase	Condiciones almacenamiento	Tiempo de almacenamiento	
							Recomendado	Regulado
		Plástico o vidrio	Acidificar a pH 1-2 con H_2SO_4	1mes				
Ortofosfatos	ISO 15923-1:2013	Plástico o vidrio o vidrio borosilicatado	Las muestras deben filtrarse in situ. Antes del análisis pueden eliminarse los oxidantes por acción del sulfato de hierro (II) o del arsenito de sodio.	1 mes	Vidrio lavado con ácido	Enfriar ≤6ºC	48h	48h
		Plástico	Congelar por debajo de -18ºC					
	ISO 11885:2007	Concentraciones normales [7]PE-HD, [4]PTFE.	Acidificar a pH 1-2 con HNO_3					
	ISO 17294-2:2003	Concentraciones bajas [7]PFA, [8]FEP						
	ISO 6878:2004	Preferiblemente vidrio en caso contrario [3]PE, [9]PVC						
[11]Plaguicidas	ISO 6468:1996	Vidrio oscuro con tapones con revestimiento interno de [4]PTFE	Algunos compuestos pueden degradarse rápidamente por lo que salvo que ensayos de estabilidad indiquen lo contrario la muestra se extrae antes de un día	1 día (en algunas normas indica 7 d)	Vidrio oscuro con tapones con revestimiento interno de 4PTFE	Enfriar ≤6ºC. Para muestras cloradas, añadir 1000mg de ácido ascórbico por litro (o 0,008% de tiosulfato sódico)	7d	7d hasta extracción 40d después extracción
	ISO 10695: 2000							
	ISO 11369:1997							
	ISO 21458:2008 (Glifosato)	Plástico como por ejemplo olefinas		6 d				
	ISO 16308:2014 (Glifosato):	Vidrio, [3]PE, [5]PP	Para muestras cloradas añadir 80 mg de $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ por cada 1000mL de muestra.					
pH	ISO 10253:2008	Plástico o vidrio	Analizar preferiblemente in situ	1 d	Plástico o vidrio	Analizar inmediatamente	0,25h	0,25h
Sólidos en suspensión		Plástico o vidrio		2 d	Plástico o vidrio	Enfriar ≤6ºC	7d	2-7d

Parámetro	UNE EN ISO 5667-3 2019				STANDARD METHODS 1060 Collection and preservation of samples (2017) Published on line			
	Norma de referencia	Tipo envase	Condiciones almacenamiento[1]	Tiempo de almacenamiento	Tipo envase	Condiciones almacenamiento	Tiempo de almacenamiento	
							Recomendado	Regulado
Sulfuros		Plástico	Fijar el sulfuro in situ por adición de 2 mL de solución de acetato de cinc. Añadir NaOH hasta pH entre 8,5 y 9. Para muestras cloradas añadir 80 mg de $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ por cada 1000mL de muestra.	7 d	Plástico, vidrio, [2]FP	Enfriar ≤6ºC. añadir 4 gotas acetato de Zn 2N por 100 mL de muestra y NaOH hasta pH>9		7d
Turbidez	ISO 7027:2016	Plástico o vidrio	Mantener la muestra en la oscuridad o utilizar recipientes de color oscuro. Analizar preferiblemente in situ	1 d	Plástico, vidrio, [2]FP	Analizar el mismo día. Si se almacena más de 24h mantener la muestra en la oscuridad. Enfriar ≤6ºC	24h	48h

1- Las condiciones de refrigeración en el laboratorio deben estar comprendidas en el intervalo de (3±2) ºC. salvo que se especifiquen otras condiciones.
2- FP=Fluoropolímero (PTFE, Teflón u otros)
3- PE =Polietileno
4- PTFE =Politetrafluoroetileno
5- PP =Polipropileno
6- PE-HD =Polietileno de alta densidad
7- PFA= Perfluoroalcoxi polímero
8- FEP =Perfluoro (etileno/propileno)
9- PVC= Policloruro de vinilo
10- Según RD 817/2015 Se puede diferenciar 4 parámetros:
    1. Metal disuelto: 1-filtración en membrana de 0,45µm. 2- Estabilización a pH <2 in situ. 3-Detección del metal en agua.
    2. Metal en sólidos en suspensión:1- Filtrar la muestra en membrana de 0,45µm inmediatamente después de la toma. 2- Detección del metal en los sólidos en suspensión.
    3. Metal total: 1-Digestión ácida. 2- Detección del metal en el agua. o bien 1- Metal disuelto. 2- Metal en sólidos en suspensión. 3- Suma de ambos.
    4. Metal: Metal disuelto y parte del metal en sólidos en suspensión que se ha disuelto al acidificar la muestra. 1- Estabilizar a pH<2 in situ. 2- filtración en membrana de 0,45µm. 3-Detección del metal del agua.
11. En la Norma UNE EN ISO 5667-3, los tiempos de conservación son muy variados en función del tipo de plaguicida. Van desde 1 día a 1 mes. En algunos casos como por ejemplo carbamatos, glifosato, triazinas si se congela a -18ºC acepta tiempos de 1 mes

PARÁMETROS BACTERIOLÓGICOS

Parámetros	UNE-EN ISO 19458:2007				Standard Methods (9060-B)		Otras Normas ISO / UNE		
	Recomendado[3]		Aceptable[3]		Tiempo[1] (horas)	T (ºC)[2]	Norma	Tiempo[1] (horas)	T (ºC)[2]
	Tiempo[1] (horas)	T (ºC)[2]	Tiempo[1] (horas)	T (ºC)[2]					
Aerobios 22ºC / 36ºC	8	5 ± 3	12	---	8	<8	ISO 6222:1999	12	5 ± 3
Bacterias coliformes	12	5 ± 3	18	---	30	<8	ISO 9308-1: 2014	24	5 ± 3
Escherichia coli	12	5 ± 3	18	---	30	<8	ISO 9308-1: 2014	24	5 ± 3
Coliformes termotolerantes (Coliformes fecales)	12	5 ± 3	18	---	30	<8	---	---	---
Enterococos	12	5 ± 3	18	---	---	---	ISO 7899:2000	24	5 ± 3
Estreptococos fecales	12	5 ± 3	18	---	18	5 ± 3	---	---	---
Clostridium perfringens (Formas vegetativas)	12	5 ± 3	18	---	---	---	ISO 14189:2013	12 máximo 18	5 ± 3
Clostridium perfringens (Esporas)	24	5 ± 3	72	---			ISO 14189:2013	24 máximo 72	5 ± 3
Anaerobios sulfito-reductores (esporas) (Clostidium spp.)	24	5 ± 3	72	---	---	---	ISO 26461-2: 1993	Referencia a UNE-EN ISO 19458	
Pseudomonas aeruginosa	8	ambiente	12	5 ± 3	---	---	ISO 16266: 2006	Referencia a UNE-EN ISO 19458	
Legionella spp.	24	5 ± 3	---	ambiente	48	ambiente	ISO 11731: 2017	Referencia a UNE-EN ISO 19458	
	---	5 ± 3	48	---			UNE 100030:2017	24	6-18
								24 a 48	5 ± 3

PARÁMETROS BIOLÓGICOS

Parámetros	UNE-EN ISO 19458:2007				Standard Methods (9060-B)		Otras Normas ISO / UNE		
	Recomendado[3]		Aceptable[3]		Tiempo[1] (horas)	T (ºC)[2]	Norma	Tiempo[1] (horas)	T (ºC)[2]
	Tiempo[1] (horas)	T (ºC)[2]	Tiempo[1] (horas)	T (ºC)[2]					
Huevos de helmintos/nematodos	48	5 ± 3	72 1 semana (pH = 2)	5 ± 3	---	---	---	---	---

1- El tiempo de conservación incluye el tiempo de transporte.
2- T (ºC) Temperatura de conservación del agua.
3- Valores recomendados y/o aceptables a menos que existan otras indicaciones en estándares específicos.

ANEXO 2 EQUIPOS Y DISPOSITIVOS DE TOMA DE MUESTRAS

- Pértiga telescópica tomamuestra: consiste en un tubo extensible con un cazo o frasco que permite el acceso a un punto de toma alejado.

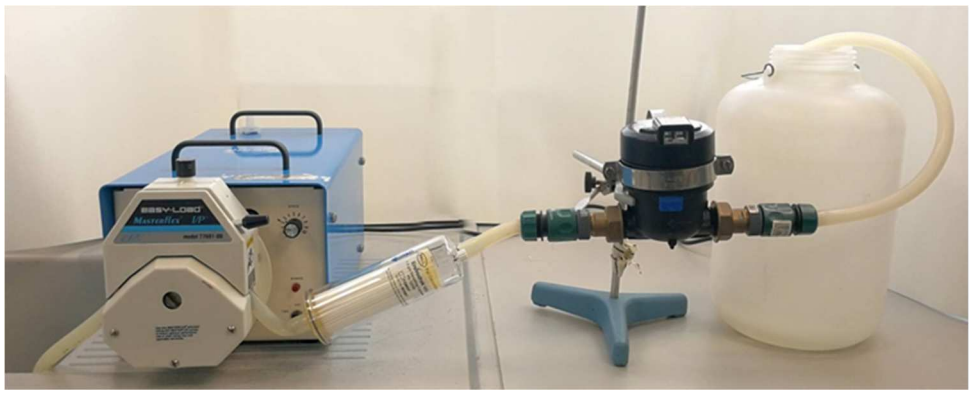
-Cubos de toma de muestra en plástico o en acero.

-Botella lastrada: botella que se sumerge en la masa de agua para su llenado. En el caso de ensayos microbiológicos, se puede esterilizar y mantener en bolsa estéril antes de su uso.

- Grifos transportables para la toma de muestras en red de distribución (bocas de riego, hidrantes, etc.)

- Botella hidrográfica Ruttner para estudios limnológicos: consiste en un cilindro de vidrio, plástico o de acero inoxidable, abierto en ambos extremos, puede ser sumergido para obtener un perfil vertical de las masas de agua. En el punto de toma de muestra se tapa el cilindro por ambos lados por medio de un mecanismo y después se sube hasta la superficie.

- Dispositivo de concentración Cryptosporidium y Giardia, con bomba peristáltica y caudalímetro.



- Bailer: para pozos, sondeos o piezómetros.

- Dispositivo de concentración de Enterovirus.

- Tomamuestras manual a vacío

- Tomamuestras automáticos:

ANEXO 3 –ESTABILIDAD DE MUESTRAS Y COMPATIBILIDAD DE MEDIDAS PARA LA DETERMINACIÓN DE CLORO RESIDUAL LIBRE Y TOTAL

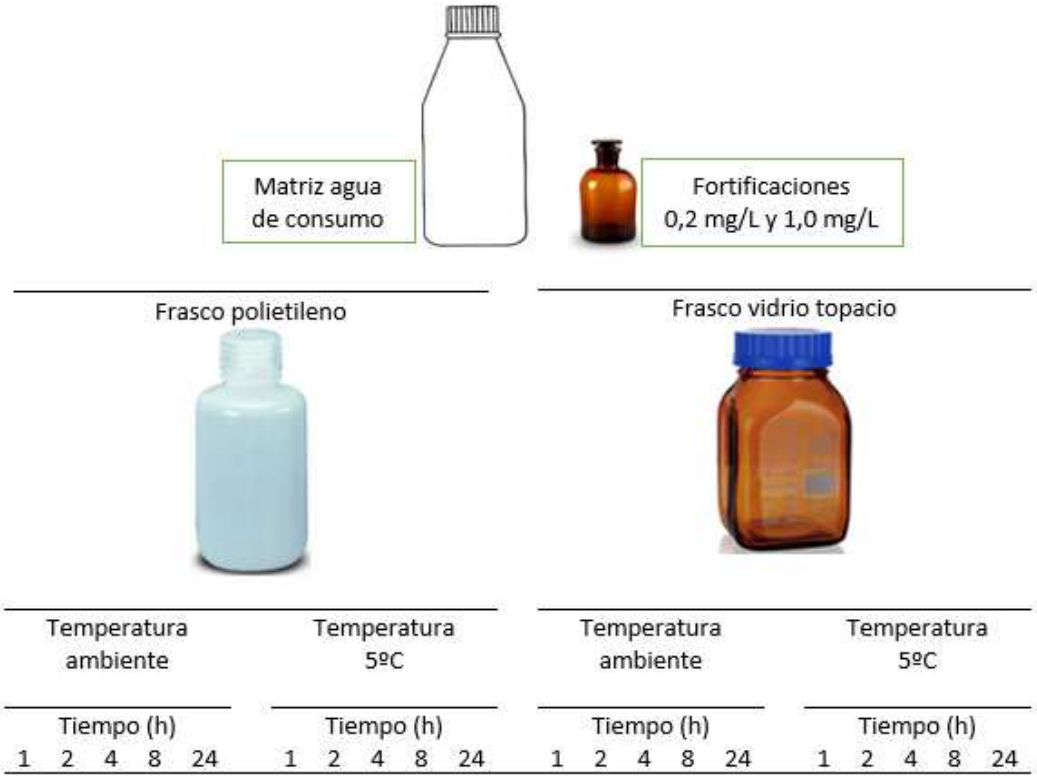
Existen documentos normativos relacionados con el establecimiento de pautas para la toma de muestras y su conservación [10,15], que también incluyen indicaciones sobre condiciones de realización de ensayos. En el caso concreto del análisis de cloro libre y cloro total se indica que su realización debe ser de forma inmediata o casi inmediata (menos de 15 minutos) desde el momento de la toma. Esto supone un problema importante para los laboratorios que, debido al elevado número de muestras que toman a diario, la determinación *in situ* supone una ralentización realmente considerable del proceso de toma, o bien para los laboratorios que necesitan tener una medida más precisa realizada con los equipos disponibles en las instalaciones permanentes y que, por lo general, ofrecen resultados más fiables que los equipos portátiles.

Tomando como referencia la sistemática propuesta en el Anexo C de la norma UNE-EN ISO 5667:3 2019, El Grupo de Trabajo decide la puesta en marcha de un ejercicio de comparación interlaboratorios organizado por un proveedor comercial independiente acreditado UNE-EN ISO/IEC 17043, con el fin de comprobar si se pueden establecer pautas de toma y almacenamiento de muestras que permitan la determinación más allá de la prácticamente inmediata.

El proveedor comercial fue IELAB, y el protocolo de actuación se organizó en dos ejercicios realizados durante los meses de septiembre y octubre de 2017, con el objeto de evaluar la variación de la concentración de cloro residual libre y total con el tiempo en el conjunto de los laboratorios participantes (21), determinando su concentración en el agua matriz proporcionada por el organizador desde su preparación en el laboratorio (t=0) y hasta pasadas 24 horas (t=24 horas), tomando también medidas en tiempos intermedios (1h, 2h, 4h, 8h), y a dos temperaturas de trabajo. El esquema es:

- Dos niveles de concentración: 0,2 mg/l y 1 mg/l.
- Dos temperaturas de conservación: 5ºC y temperatura ambiente (AMB).
- Dos tipos de envases: vidrio topacio y polietileno de alta densidad (HDPE).

Cada laboratorio realiza 40 determinaciones por concentración (dos réplicas para cada tiempo), obteniéndose un total de 840 resultados (ver diagrama adjunto).



El proveedor comercial emite los informes de valoración del desempeño individuales para cada laboratorio participante, observándose en general z-scores correctos en los diferentes tiempos de conservación analizados (hasta 24 h). Cabe destacar la robustez del ejercicio, tanto desde el punto de vista del número de participantes como del tratamiento de los datos.[6]

A partir de los datos obtenidos en los ejercicios de intercomparación, a ambas concentraciones, se ha llevado a cabo dos estudios:

1. Estabilidad de las muestras, calculándose a tiempo cero el valor medio de cada concentración ($\bar{X}_A$) y el valor medio para cada tiempo de conservación, temperatura y envase ($\bar{X}_B$), de modo que si la diferencia entre estos valores es superior a 0,89 veces la desviación estándar del ejercicio:

$$\bar{X}_B - \bar{X}_A > 0{,}89\, s$$

[6]Los informes de resultados del ejercicio están a disposición para su consulta. Trasladar la petición a la AEAS, Grupo de Trabajo de Laboratorios.

Entonces, se considera que el tiempo de conservación se ha superado. Este análisis está basado en el incluido en el Anexo C de la norma UNE-EN ISO 5667:3 2019, aunque en lugar de utilizar la desviación estándar obtenida en la validación del método por cada laboratorio, se ha considerado la desviación estándar del ejercicio. El estudio se ha adaptado al número de repeticiones realizadas a cada tiempo de análisis. En este caso el criterio en cuanto a la diferencia en las medias es más exigente que el indicado por el estudio holandés, y por tanto también se asegura en todo momento el criterio tomado para considerar si se ha superado el tiempo de conservación.

A partir de los datos experimentales, se obtiene el siguiente cuadro resumen:

	HPDE ambiente	HPDE 5°C	Vidrio ambiente	Vidrio 5°C
Cloro libre rango bajo	2h	2h	8h	24h
Cloro libre rango alto	2h	2h	8h	24h
Cloro total rango bajo	8h	8h	24h	24h
Cloro total rango alto	24h	24h	24h	24h

Lo que nos indica que en todos los casos el uso de vidrio topacio y refrigeración asegura un tiempo de conservación de la muestra de 24 horas, independientemente del valor de concentración de la muestra a estudio.

2. Tiempo de conservación máximo de las muestras sin que se produzca cambio significativo de la concentración inicial de cloro.

Para conocer si existe variación significativa entre la concentración inicial de cloro en la muestra y la concentración medida a un tiempo determinado, se ha realizado prueba de significación mediante la prueba t. Esta se ha llevado a cabo comparando los resultados obtenidos a cada uno de los tiempos en que se han realizado las medidas con respecto a los resultados obtenidos inicialmente (a t=0 horas).

Con anterioridad a la prueba de significación mediante la prueba t, se ha realizado para cada uno de los supuestos descritos anteriormente, la prueba F. Con esta prueba se ha estudiado la varianza de cada uno de los grupos de datos a un tiempo determinado con respecto al tiempo inicial. De este modo, se conoce si las varianzas son iguales o desiguales, con el fin de aplicar la prueba t según dicho resultado.

En las siguientes tablas se observan los resultados en los que las concentraciones de cloro a un tiempo determinado e inicialmente son o no significativamente diferentes.

	HPDE ambiente	HPDE 5°C	Vidrio ambiente	Vidrio 5°C
Cloro libre rango bajo	0h	0h	0h	1h
Cloro libre rango alto	1h	2h	8h	24h
Cloro total rango bajo	4h	4h	8h	24h
Cloro total rango alto	24h	24h	24h	24h

Se observa en el caso del cloro libre que la conservación en vidrio topacio a 5ºC puede llegar para concentraciones en torno a 1mg/l hasta las 24 horas, mientras que a concentraciones en torno a 0,2 mg/l solamente se podría mantener 1 hora antes de que exista un cambio significativo en la concentración de cloro inicial de la muestra.

Aun así, este hecho no indica que la muestra haya superado el tiempo de conservación, ya que este depende en gran medida de las características del método de ensayo, tales como la incertidumbre asociada al resultado. Así, se consideró interesante por parte del grupo de trabajo estudiar la aportación del cambio de la concentración a lo largo del tiempo a la incertidumbre del resultado, ya que como se indica en la guía G-ENAC-09 Rev. 1 Julio 2005 en el punto 6.6 (Importancia de las contribuciones a la incertidumbre): *"no todas las fuentes de incertidumbre identificadas durante la evaluación de la incertidumbre realizan contribución significativa a la incertidumbre combinada".*

Por lo que se decidió calcular la incertidumbre del resultado teniendo en cuenta la aportación debida al cambio de concentración con el fin de comprobar si es significativa. Para ello, se calculó la incertidumbre asociada al valor consenso para cada uno de los supuestos del ejercicio de intercomparación y para cada uno de los tiempos de conservación de las muestras.

Los resultados obtenidos para la estimación de la incertidumbre expandida para cada uno de los casos en los que es necesario tener en cuenta la diferencia entre el valor consenso a tiempo t=0 h y a un tiempo determinado tanto para cloro libre residual como para cloro total son los siguientes:

CLORO LIBRE RESIDUAL (en **rojo** los resultados que superan la incertidumbre inicial (t=0 h):

	TABLA INCERTIDUMBRE EXPANDIDA (mg/l)					
	t=0 h	t=1 h	t=2 h	t=4 h	t=8 h	t=24 h
HDPE AMB 1,0 mg/l	0,182		**0,201**	**0,194**	**0,202**	**0,264**
HDPE AMB 0,2 mg/l	0,051	**0,054**	**0,058**	**0,065**	**0,069**	**0,108**
HDPE 5ºC 1,0 mg/l	0,180			0,177	**0,181**	0,179
HDPE 5ºC 0.2 mg/l	0,059	0,051	**0,060**	**0,060**	**0,071**	**0,087**
VIDRIO AMB 1,0 mg/l	0,184					0,179
VIDRIO AMB 0,2 mg/l	0,066	0,047	0,064	**0,068**	0,064	0,084
VIDRIO 5ºC 1,0 mg/l	0,182					
VIDRIO 5ºC 0.2 mg/l	0,066		0,043	0,060	0,047	**0,071**

En algunos casos, se observa que, pese a la diferencia significativa que se apreciaba en la prueba t de la concentración en la muestra con el paso del tiempo, se produce una bajada en la incertidumbre asociada al resultado.

Estudiando los datos se observa que este hecho se produce porque existe una mejora de la incertidumbre asociada a la dispersión de los resultados conforme pasa el tiempo que hace que, en algunos casos en los que la conservación de la muestra es mejor, por ejemplo vidrio topacio a 5ºC, la aportación a la incertidumbre por parte de la diferencia en las medidas de los valores consenso a diferentes tiempos, es poco significativa y no aporta lo suficiente como para superar el valor inicial de incertidumbre.

Esto no ocurre en otros casos, como por ejemplo con frasco de plástico HDPE a temperatura ambiente, ya que el cambio en la concentración de cloro en estas condiciones de conservación es tan importante que hace que su aportación a la incertidumbre sea muy significativa.

Teniendo en cuenta la incertidumbre expandida para cada uno de los tiempos de conservación, los resultados posibles emitidos por el laboratorio con la incertidumbre indicada en las tablas contendrán el valor real de la muestra a t=0. Dado que el laboratorio emitirá en su informe de ensayo el resultado con la incertidumbre estimada en validación, que corresponde con muestra recién tomada (t=0 h), se puede concluir que en los casos en los que la incertidumbre calculada a cada tiempo de conservación de muestra es inferior a la que se estima inicialmente a t=0 h, el resultado contiene el valor real de concentración inicial de la muestra, por tanto, el laboratorio puede conservar la muestra hasta ese número de horas.

Así, por ejemplo, en la siguiente tabla se pueden observar los tiempos de conservación de las muestras para las diferentes condiciones de conservación teniendo en cuenta los casos en los que el resultado del valor consenso a las diferentes horas más/menos la incertidumbre del método, contienen el valor de concentración de la muestra a t=0.

	HPDE ambiente	HPDE 5°C	Vidrio ambiente	Vidrio 5°C
Cloro libre rango bajo	0h	2h	2h	8h
Cloro libre rango alto	1h	4h	24h	24h
Cloro total rango bajo	8h	8h	24h	24h
Cloro total rango alto	24h	24h	24h	24h

Con todo lo anterior, mediante este estudio de diferentes formas de acercamiento al cálculo del tiempo de conservación de muestras, se puede indicar que el tiempo de conservación de muestra tanto para cloro libre residual como para cloro total aumenta enormemente con el uso de vidrio topacio en los frascos de muestra, así como de refrigeración en la temperatura de conservación. De esta forma se puede conseguir que

el tiempo de conservación de muestras llegue al menos hasta las 8 horas para el caso de cloro libre residual y 24 horas para el caso de cloro total.

De todos modos, algunos resultados de los estudios realizados indican que el cloro libre residual puede llegar a tener un tiempo de conservación de muestra de 24 horas.

Para comprobar este hecho y, además, asegurar que dichas conclusiones se mantienen para muestras con diferentes características en su matriz, se ha completado el estudio mediante la comprobación de los requisitos indicados en el estudio holandés para la conservación de muestras (Anexo C de la norma UNE-EN ISO 5667:3 2019) con análisis en diferentes muestras por los laboratorios que forman el Grupo de Trabajo.

De este modo, se analizaron muestras de aguas de consumo reales tomadas por 17 laboratorios de diferentes puntos de la geografía española. Las características de las matrices utilizadas por estos laboratorios fueron muy diferentes, como puede observarse en la siguiente tabla:

	Unidades	Intervalo	
Temperatura de toma	ºC	7	23
pH	Und. de pH	6,5	8,3
Conductividad	µS/cm	80	1328
Nitritos	mg/l	<0,01	0,035
Amonio	mg/l	< 0,02	0,16
COT	mg/l	< 0,5	3
Oxidabilidad	mg/l	< 0,5	2

De los 17 laboratorios participantes, se mantuvieron 13 en el estudio, ya que los resultados de los otros 4 laboratorios se encontraban por debajo de la concentración 0,2 mg/l que era el valor inferior del estudio.

Para conocer el tiempo de conservación de muestra se empleó el protocolo utilizado en los estudios holandeses de validación. Para ello, en cada laboratorio se tomó una muestra en diferentes frascos de vidrio topacio y estos frascos se refrigeraron a 5ºC (recordemos que estas condiciones de conservación son las mejores según el ejercicio de intercomparación explicado anteriormente). Se tomaron tantos frascos como análisis se iban a realizar a tiempos de:

t= 0h; t=2h; t=4h; t= 6h; t= 8h y t=24 h

Como indica el estudio holandés, a t=0 se analizaron ocho porciones de ensayo y se calculó el valor medio de cada analito (cloro libre residual y cloro total).

A las horas sucesivas indicadas anteriormente, se llevaron a cabo subsecuentes análisis de tres porciones de ensayo y se calculó el valor medio de cada analito (cloro libre residual y cloro total).

Cuando la diferencia entre la media de los resultados de ensayo de las porciones de ensayo conservadas y la media de los resultados de los ensayos correspondientes a t=0 supera en más del doble la desviación estándar establecida por el método de validación de cada laboratorio, se considera que se ha excedido el periodo de conservación.

A continuación, se expone, a modo de ejemplo, la hoja de resultados de uno de los laboratorios. En la misma también se puede observar la comprobación del cumplimiento de conservación de muestra según el estudio holandés:

FICHA PARA TOMA DE DATOS DE EJERCICIO DE COMPROBACIÓN DE CONSERVACIÓN DE CLORO LIBRE RESIDUAL Y CLORO TOTAL

DATOS GENERALES:

Laboratorio:	LABORATORIO 1
Fecha de la Toma:	19/02/2019
Punto de Toma:	Agua del grifo del laboratorio
Tomada por:	NO SE INDICA PARA GUIA

DATOS DE LOS MÉTODOS DE ENSAYO:

		%
Método Cloro Libre Residual:	Determinación de cloro por DPD	
Rango de trabajo acreditado:	0.1 mg/L- 150 mg/L	
Desviación Estándar:	0,0362	4,7%
Veracidad:	0,0231	3,0%
Incertidumbre:	0,0924	12,0%

Método Cloro Total:	Determinación de cloro por DPD	
Rango de trabajo acreditado:	0.1 mg/L- 150 mg/L	
Desviación Estándar:	0,0434	5,0%
Veracidad:	0,0226	2,6%
Incertidumbre:	0,1043	12,0%

ANÁLISIS REALIZADOS PARA CARACTERIZACIÓN DE MATRIZ:

	Unidades:	Resultado:
Temperatura de toma	ºC	17
pH	Und. de pH	8,1
Conductividad	uS/cm	825
Nitritos	mg/l	<0.05
Amonio	mg/l	<0.2
COT	mg/l	
Oxidabilidad	mg/l	<0.5

ANÁLISIS REALIZADOS PARA CLORO LIBRE RESIDUAL Y CLORO TOTAL:

Cloro Libre Residual:	Resultado 1	Resultado 2	Resultado 3	Resultado 4	Resultado 5	Resultado 6	Resultado 7	Resultado 8
t=0h	0,76	0,77	0,76	0,78	0,77	0,78	0,77	0,77
t=2h	0,76	0,76	0,76					
t=4h	0,75	0,74	0,75					
t=6h	0,74	0,74	0,71					
t=8h	0,74	0,69	0,77					
t=24h	0,74	0,72	0,73					

Cloro Total:	Resultado 1	Resultado 2	Resultado 3	Resultado 4	Resultado 5	Resultado 6	Resultado 7	Resultado 8
t=0h	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,86	0,87
t=2h	0,86	0,86	0,85					
t=4h	0,86	0,86	0,86					
t=6h	0,83	0,84	0,85					
t=8h	0,85	0,81	0,86					
t=24h	0,84	0,84	0,84					

CUMPLIMIENTO CONSERVACIÓN SEGÚN MÉTODO DE ESTUDIO HOLANDÉS:

Cloro Libre Residual:	Media	Dif vs t=0h	Tolerancia (2*STD Método Lab)	Cumple (SI/NO)
t=0h	0,77		0,072	
t=2h	0,76	-0,010		SI
t=4h	0,75	-0,023		SI
t=6h	0,73	-0,040		SI
t=8h	0,73	-0,037		SI
t=24h	0,73	-0,040		SI

Cloro Total:	Media	Dif vs t=0h	Tolerancia (2*STD Método Lab)	Cumple (SI/NO)
t=0h	0,87		0,087	
t=2h	0,86	-0,012		SI
t=4h	0,86	-0,009		SI
t=6h	0,84	-0,029		SI
t=8h	0,84	-0,029		SI
t=24h	0,84	-0,029		SI

Los periodos de conservación de muestra para los diferentes laboratorios fueron los siguientes:

Cloro Libre Residual:

LABORATORIO	TIEMPO DE CONSERVACIÓN DE MUESTRA
LABORATORIO 1	24 horas
LABORATORIO 2	8 horas
LABORATORIO 3	8 horas
LABORATORIO 4	24 horas
LABORATORIO 5	24 horas
LABORATORIO 6	24 horas
LABORATORIO 7	24 horas
LABORATORIO 8	8 horas
LABORATORIO 9	No participa en Cloro Libre Residual
LABORATORIO 10	8 horas
LABORATORIO 11	8 horas
LABORATORIO 12	24 horas
LABORATORIO 13	24 horas

Cloro Total:

LABORATORIO	TIEMPO DE CONSERVACIÓN DE MUESTRA
LABORATORIO 1	24 horas
LABORATORIO 2	No participa en Cloro Total
LABORATORIO 3	24 horas
LABORATORIO 4	No participa en Cloro Total
LABORATORIO 5	24 horas
LABORATORIO 6	24 horas
LABORATORIO 7	24 horas
LABORATORIO 8	No participa en Cloro Total
LABORATORIO 9	24 horas
LABORATORIO 10	24 horas
LABORATORIO 11	24 horas
LABORATORIO 12	24 horas
LABORATORIO 13	24 horas

Se observa que para el cloro libre residual se confirma que el periodo máximo de conservación de muestra es de 8 horas, hecho que se había obtenido también anteriormente en el estudio del ejercicio de intercomparación para cambio significativo de concentración inicial de cloro.

A su vez también se confirma el periodo máximo de conservación de cloro total de 24 horas.

Como conclusión, por tanto, se puede exponer que mediante la toma de muestra en frascos de vidrio topacio y refrigerados, el periodo de conservación de muestra para cloro libre residual puede extenderse hasta 8 horas antes de la realización del análisis, mientras que para el cloro combinado el periodo puede extenderse hasta 24 horas.

ANEXO 4 – EVALUACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DEL MUESTREO

En determinadas situaciones la incertidumbre relacionada con el proceso de muestreo o toma de muestra puede contribuir a la incertidumbre asociada con el resultado de los ensayos o calibraciones posteriores. Esto es así, por ejemplo, cuando se quiere obtener un resultado representativo del ítem completo que se desea caracterizar.

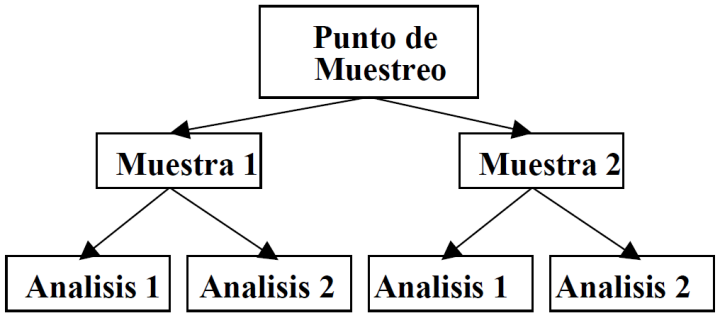
Existen varias propuestas para realizar una evaluación de la incertidumbre del muestreo. En el ejemplo presentado, determinación de la concentración de amonio en un agua residual, se recurre al enfoque empírico (doble duplicado) que utiliza muestreos y análisis repetidos, bajo condiciones diversas, de modo que se consideran factores relacionados con la heterogeneidad de la muestra y posibles variaciones en la ejecución del procedimiento de toma de muestra. La medida de amonio se realiza por espectrofotometría UV-VIS, con una incertidumbre expandida del método del 16%.

La toma de muestra se realiza con automuestreador a la entrada de una EDAR. El automuestreador se programa para que tome una muestra individual cada hora durante un periodo de 24h. A partir de volúmenes idénticos de estas 24 muestras individuales, se preparará in situ una muestra compuesta (Muestra 1) que será transportada al laboratorio para su análisis.

En paralelo, pero empleando un segundo automuestreador, que no tiene por qué ser idéntico al anterior, se realizará otra toma de muestra compuesta (Muestra 2). La programación del equipo es la misma, manteniendo invariables aquellos aspectos que se consideren propios del procedimiento de toma, como por ejemplo tipo de frasco, conservante si lo hubiera, etc.

Los tomadores encargados del montaje, programación de los equipos y recogida de muestras son distintos.

Una vez recibidas en el laboratorio, las muestras 1 y 2 se subdividen cada una de ellas en dos alícuotas (ver diagrama) para ser analizadas por espectrofotometría UV-VIS bajo condiciones de repetibilidad, distribuidas aleatoriamente en una tanda de análisis de rutina.



Se establece un mínimo de ocho muestras para la evaluación de la incertidumbre, lo que supone 8 días de doble-muestreo.

Los resultados obtenidos son los siguientes:

	Unidades / Día	1	2	3	4	5	6	7	8
Resultados Muestra 1	mg/L	25,6	31,1	45,8	23,6	53,3	19,9	28,4	28,6
	mg/L	25,8	31,5	44,4	24,1	53,2	19,7	28,6	28,0
Resultados Muestra 2	mg/L	24,9	30,4	43,8	25,1	53,1	19,5	26,3	27,9
	mg/L	25,1	30,3	45,2	26	53,5	19,5	26,2	27,8

A partir de estos datos se calculan los valores de rango absoluto (D) y rango relativo (d %) de cada una de las muestras, obteniendo así una indicación de la varianza del análisis.

<u>Cálculo de Rangos (Muestra 1)</u>

	Rango Muestra 1 $D_{i1} = \lvert x_{i11} - x_{i12} \rvert$	**Valor Medio Muestra 1 por día de muestreo** $\bar{x}_{i1} = \frac{x_{i11} + x_{i12}}{2}$	**Rango relativo Muestra 1 por día de muestreo** $d_{i1}(\%) = \frac{D_{i1}}{\bar{x}_{i1}} \cdot 100$
Día / Unidades	mg/L	mg/L	%
1	0,2	25,7	0,8
2	0,4	31,3	1,3
3	1,4	45,1	3,1
4	0,5	23,9	2,1
5	0,1	53,3	0,2
6	0,2	19,8	1,0
7	0,2	28,5	0,7
8	0,6	28,3	2,1
		$\sum d_{i1}(\%)$	11,3
		n_{i1}	8

Cálculo de Rangos (Muestra 2)

	Rango Muestra 2 $D_{i2} = \lvert x_{i21} - x_{i22} \rvert$	**Valor Medio Muestra 2 por día de muestreo** $\bar{x}_{i2} = \frac{x_{i21} + x_{i22}}{2}$	**Rango relativo Muestra 2 por día de muestreo** $d_{i2}(\%) = \frac{D_{i2}}{\bar{x}_{i2}} \cdot 100$
Día / Unidades	mg/L	mg/L	%
1	0,2	25,0	0,8
2	0,1	30,4	0,3
3	1,4	44,5	3,1
4	0,9	25,6	3,5
5	0,4	53,3	0,8
6	0,0	19,5	0,0
7	0,1	26,3	0,4
8	0,1	27,9	0,4
		$\sum d_{i2}(\%)$	9,3
		n_{i2}	8

Cálculo del rango relativo entre las dos muestras

El rango entre las dos muestras proporciona una indicación de la varianza global del proceso, donde se incluye tanto la toma de muestra como el análisis:

	Día / Unidades	1	2	3	4	5	6	7	8	n_i=8
Media de las medidas $\bar{x}_i = \frac{\bar{x}_{i1} + \bar{x}_{i2}}{2}$	mg/L	25,4	30,8	44,8	24,7	53,3	19,7	27,4	28,1	$\sum \bar{x}_i$ = 254,1
Rango medio relativo entre las dos muestras $d_{\bar{x}_i}(\%) = \frac{\lvert \bar{x}_{i1} - \bar{x}_{i2} \rvert}{\bar{x}_i} \cdot 100$	%	2,8	3,1	1,3	6,9	0,1	1,5	8,2	1,6	$\sum d_{\bar{x}_i}(\%)$ =25,5

La variabilidad correspondiente al análisis de las muestras se estima como el rango medio obtenida con la Muestra 1 y la Muestra 2:

$$\bar{d}_{análisis}(\%) = \frac{\sum d_{i1}(\%)+\sum d_{i2}(\%)}{n_{i1}+n_{i2}}=1{,}29$$

Que expresado como desviación estándar:

$$RSD_{análisis}(\%) = \frac{\bar{d}_{analysis}(\%)}{1{,}128} = 1{,}14$$

La variabilidad del proceso completo se estima a partir de las diferencias obtenidas entre muestras, utilizando la siguiente ecuación:

$$\bar{d}_{proceso}(\%) = \frac{\sum d_{\bar{x}_i}(\%)}{n_i}=3{,}19$$

Que expresado como desviación estándar:

$$RSD_{proceso}(\%) = \frac{\bar{d}_{proceso}(\%)}{1{,}128}=2{,}83$$

De este modo, la incertidumbre estándar expresado como RSD (%) del muestreo es la siguiente:

$$RSD_{muestreo}(\%) = \sqrt{RSD^2_{proceso} - \frac{RSD^2_{analisis}}{2}} = \sqrt{2{,}83^2 - \frac{1{,}14^2}{2}} = 2{,}71\%$$

Y la incertidumbre expandida de muestreo, con un factor de cobertura del 95%:

$$U_{Muestreo} = 2xRSD(\%) = 5{,}4\%$$

Y, por tanto, la incertidumbre de medición considerando el proceso de muestreo será:

$$U_{Global} = \sqrt{5{,}4^2 + 16^2} = 16{,}88 = 17\%$$

Es este caso, se observa que la contribución del muestreo es casi despreciable frente a la de validación del método de análisis.