

**MÉTODOS EN OCEANOGRAFÍA II.  
PARTE QUÍMICA  
PRÁCTICAS DE LABORATORIO**



**FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA**

**MÉTODOS EN OCEANOGRAFÍA II. PARTE QUÍMICA  
PRÁCTICAS DE LABORATORIO**

**PROFESORES: FRANCISCO JAVIER PÉREZ GALVÁN  
MARÍA ESTHER TORRES PADRÓN**

**Depósito Legal (DL): GC – 662 - 2004**

## ÍNDICE

PRÁCTICA nº 1: Diseño de un Muestreo en el Medio Marino para Análisis Químico (Muestras Líquidas y Sólidas).....	Pág. 1
PRÁCTICA nº 2: Campaña de Muestreo Marino para Análisis Químico (Muestras Líquidas y Sólidas).....	Pág. 11
PRÁCTICA nº 3: Preparación de la Columna Reductora para Análisis de Nitratos en Agua de Mar.....	Pág. 14
PRÁCTICA nº 4: Determinación de Nitratos y Nitritos .....	Pág. 18
PRÁCTICA nº 5: Determinación de Silicatos.....	Pág. 22
PRÁCTICA nº 6: Determinación de Fosfatos.....	Pág. 25
PRÁCTICA nº 7: Preparación de Muestras y Extracción de Metales en Agua de Mar.....	Pág. 28
PRÁCTICA nº 8: Preparación de Muestras y Extracción de Compuestos Orgánicos en Agua de Mar. Aceite y Grasa.....	Pág. 32
PRÁCTICA nº 9: Preparación de Muestras y Extracción de Metales en Sedimentos.....	Pág. 36
PRÁCTICA nº 10: Preparación de Muestras y Extracción de Compuestos Orgánicos en Sedimentos. Materia Orgánica Fácilmente Oxidable.....	Pág. 42
PRÁCTICA nº 11: Preparación de Muestras y Extracción de Metales en Organismos.....	Pág. 46
BIBLIOGRAFÍA.....	Pág. 49

**MÉTODOS EN OCEANOGRAFÍA II:  
PARTE QUÍMICA**

**PRÁCTICA N° 1**

**DISEÑO DE UN MUESTREO MARINO PARA ANÁLISIS QUÍMICO  
(MUESTRAS LÍQUIDAS Y SÓLIDAS)**

## **1. INTRODUCCIÓN**

El objetivo de esta práctica es recopilar los factores que deben tomarse en consideración para el establecimiento de programas de muestreo, referentes a las aguas, sedimentos y lodos.

La caracterización de un agua, sedimento o lodo, resulta poco económico y, a veces, imposible examinar su totalidad, resultando necesaria la toma de muestras. Las muestras tienen que ser representativas del conjunto a caracterizar. Se tomarán todas las precauciones que sea posible para que no se produzca ninguna modificación de la muestra entre el momento de su toma y el de su análisis. El muestreo de sistemas multifásicos, como los formados por aguas que contienen materia en suspensión o por líquidos no miscibles, puede presentar problemas específicos.

La recolección de las muestras dependerá de los procedimientos analíticos empleados y los objetivos del estudio a realizar.

Antes de efectuar un programa de muestreo, es necesario definir los objetivos del mismo puesto que éstos constituyen los principales factores a considerar para determinar la posición de los lugares de toma de muestras, la frecuencia, la duración y los procedimientos usados para el muestreo, el tratamiento de las muestras y las necesidades analíticas. El nivel de detalle y precisión requeridos debe igualmente tenerse en cuenta, así como la forma de expresar y presentar los resultados (concentraciones o cargas, valores máximos y mínimos, medias aritméticas, medianas,...)

El objetivo del muestreo es obtener una parte representativa del material bajo estudio a la que se le analizarán las variables fisicoquímicas de interés para su caracterización, para estudios oceanográficos o para demostrar que se cumplen las normas especificadas por la legislación según las resoluciones de las autoridades ambientales (CEE, gobierno nacional y/o autonómico). El volumen del material muestreado se transportará hasta el lugar de almacenamiento para, posteriormente, ser trasladado al laboratorio con el fin de realizar la analítica correspondiente, momento en el cual la muestra debe conservar las características del material original. Para conseguir estos objetivos se requiere que la muestra conserve las concentraciones relativas de todos los componentes presentes en el material original y que no hayan ocurrido cambios significativos en su composición antes del análisis. La responsabilidad de las condiciones y validez de las muestras debe ser asumida por las personas responsables del muestreo, de la conservación y el transporte de las muestras. Las técnicas de recolección y preservación de las muestras tienen una gran importancia, debido a la necesidad de verificar la precisión, exactitud y representatividad de los datos que resulten de los análisis.

## 2. TOMA DE MUESTRAS

Se recomienda tomar muestras diferentes para los análisis químicos, microbiológicos y biológicos, a causa de las diferencias entre los procedimientos de toma de muestra, así como entre los equipos de toma y de manipulación.

1. *Muestra simple, puntual o localizada*: Una muestra representa la composición del cuerpo de agua/sedimento original para el lugar, tiempo y circunstancias particulares en las que se realizó su recogida. Cuando la composición de una fuente es relativamente constante a través de un tiempo prolongado o a lo largo de distancias sustanciales en todas las direcciones, puede decirse que la muestra representa un intervalo de tiempo o un volumen más extensos.

Si un cuerpo de agua varía con el tiempo, las muestras simples tomadas a intervalos de tiempo precisos, y analizadas por separado, deben registrar la extensión, frecuencia y duración de las variaciones. Es necesario escoger los intervalos de muestreo de acuerdo con la frecuencia esperada de los cambios, que puede variar desde tiempos tan cortos como 5 minutos hasta 1 hora o más. Las variaciones estacionales en sistemas naturales pueden necesitar muestreos de varios meses. Cuando la composición de las fuentes varía en el espacio más que en el tiempo, se requiere tomar las muestras en los lugares apropiados.

2. *Muestras compuestas*: En general, se refiere a una combinación de muestras sencillas o puntuales tomadas en el mismo sitio durante diferentes tiempos. Algunas veces el término "compuesta en tiempo (*time-composite*)" se usa para distinguir este tipo de muestras de otras. La mayor parte de las muestras compuestas en el tiempo se emplean para observar concentraciones promedio, usadas para calcular las respectivas cargas o la eficiencia de una planta de tratamiento de aguas residuales, por ejemplo. El uso de muestras compuestas representa un ahorro sustancial en costo y esfuerzo del laboratorio comparativamente con el análisis por separado de un gran número de muestras y su consecuente cálculo de promedios. Para estos propósitos, se considera estándar para la mayoría de determinaciones una muestra compuesta que representa un período de 24 h. Sin embargo, bajo otras circunstancias, puede ser preferible una muestra compuesta que represente un cambio, o un menor lapso de tiempo, o un ciclo completo de una operación periódica. Para evaluar los efectos de descargas y operaciones variables o irregulares, se deben tomar muestras compuestas que representen el periodo durante el cual ocurren tales descargas. No se deben emplear muestras compuestas para la determinación de componentes o características sujetas a cambios significativos e inevitables durante el almacenamiento (p.ej., gases disueltos, cloro residual, sulfuros, temperatura y pH).

Para la toma de muestras compuestas, se deben tomar porciones individuales del cuerpo de agua en estudio en botellas de boca ancha a intervalos fijos y se mezclan al final del período de muestreo, o se combinan en una sola botella al momento de tomarlas. No debemos olvidar la preservación si fuera necesaria, agregando previamente las respectivas sustancias a la botella. Algunas veces es necesario el análisis de muestras individuales.

3. *Muestras integradas*: Para ciertos propósitos, es mejor analizar mezclas de muestras puntuales tomadas simultáneamente en diferentes puntos, o lo más cercanas

posible. Un ejemplo de la necesidad de este tipo de muestreo tiene lugar en ríos o corrientes que varían en composición a lo ancho y profundo de su cauce. La necesidad de muestras integradas también se puede presentar si se propone un tratamiento combinado para varios efluentes residuales separados, cuya interacción puede tener un efecto significativo en el tratamiento o en la composición. La predicción matemática puede ser inexacta o imposible, mientras que la evaluación de una muestra integrada puede dar información más útil. Otros ejemplos son los lagos naturales y artificiales que pueden mostrar variaciones de composición según la localización horizontal y la profundidad; sin embargo, éstas son condiciones bajo las cuales las variaciones locales son más importantes mientras que los resultados promedio y totales no son especialmente útiles. En tales casos, se deben examinar las muestras separadamente antes que integrarlas.

La preparación de muestras integradas requiere generalmente de equipos diseñados para tomar muestras de una profundidad determinada sin que se contaminen con la columna de agua superior. Generalmente, se requiere conocer el volumen, movimiento, y composición de varias partes del cuerpo de agua a ser estudiado. La toma de muestras integradas es un proceso complicado y especializado que se debe describir adecuadamente en el plan de muestreo.

### **3. CONTROL Y VIGILANCIA DEL MUESTREO, PRESERVACIÓN Y ANÁLISIS.**

El proceso de control y vigilancia del muestreo, preservación y análisis (*chain-of-custody procedure*) es esencial para asegurar la integridad de la muestra desde su recogida hasta la publicación de los resultados. Este proceso incluye:

- la actividad de seguir o monitorizar las condiciones de toma de muestra;
- preservación, codificación, transporte y;
- su posterior análisis.

Este proceso es básico para demostrar el control de la muestra no sólo cuando hay un litigio involucrado, sino también para el control de rutina de las muestras. Se considera que una muestra está bajo la custodia de una persona si está bajo su posesión física individual, a su vista, y en un sitio seguro. Los siguientes procedimientos resumen los principales aspectos del control y vigilancia de las muestras:

1. Etiquetas. Con el fin de evitar confusiones en la identificación de las muestras, es necesaria su identificación antes o en el momento del muestreo, anotando, con tinta a prueba de agua, la siguiente información: número de muestra, nombre del recolector, fecha, hora y lugar de recolección, y preservación realizada.
1. Sellos. Para evitar o detectar adulteraciones de las muestras, sellar los recipientes con papel autoadhesivo, en los que se incluya por lo menos la siguiente información: número de muestra (idéntico al número en la etiqueta), nombre del recolector, fecha y hora de muestreo; también son útiles los sellos de plástico. Adherir el sello de tal manera que sea necesario romperlo para abrir el

- recipiente de la muestra, después de que el personal muestreador ceda la custodia o vigilancia.
2. Libro de campo, en el que se registrará toda la información pertinente a observaciones de campo o del muestreo en el que se incluya, como mínimo, lo siguiente: propósito del muestreo; localización de la estación de muestreo, o del punto de muestreo si se trata de un efluente industrial, en cuyo caso se debe anotar la dirección y el nombre del representante de la empresa; tipo de muestra y método de preservación, si es aplicable. Si se trata de una muestra de aguas residuales, identificar el proceso que produce el efluente. Estipular también la posible composición de la muestra y las concentraciones; número y volumen de muestra tomados; descripción del punto y método de muestreo; fecha y hora de recolección; número(s) de identificación del (los) recolector(es) de la muestra; distribución y método de transporte de la muestra; referencias tales como mapas o fotografías del sitio de muestreo; observaciones y mediciones de campo; y firmas del personal responsable de las observaciones. Debido a que las situaciones de muestreo varían ampliamente, es esencial registrar la información suficiente de tal manera que se pueda reconstruir el evento del muestreo sin tener que confiar en la memoria de los encargados. Guardar el libro en un sitio seguro.
  3. Registro del control y vigilancia de la muestra. Tramitar el formato de control y vigilancia de cada una de las muestras o grupo de muestras, las cuales deben estar acompañadas de este formato; en él se incluye la siguiente información: número(s) de la(s) muestra(s); firma del recolector responsable; fecha, hora y sitio de muestreo; tipo de muestra; firmas del personal participante en el proceso de control, vigilancia y posesión de las muestras y las fechas correspondientes.
  4. Formato de solicitud de análisis. La muestra debe llegar al laboratorio acompañada de una solicitud de análisis; el recolector completa la parte del formato correspondiente a la información de campo de acuerdo con la información anotada en el libro de campo. La parte del formato correspondiente al laboratorio la completa el personal del laboratorio, e incluye: nombre de la persona que recibe la muestra, número de muestra en el laboratorio, fecha de recepción, y las determinaciones a ser realizadas.
  5. Entrega de la muestra en el laboratorio. Las muestras se deben entregar en el laboratorio lo más pronto que sea posible después del muestreo, en el transcurso de dos días como máximo; si el tiempo de almacenamiento y preservación es menor, debe planificarse el procedimiento para asegurar su entrega oportuna en el laboratorio. En caso de que las muestras sean enviadas por correo a través de una empresa responsable, se debe incluir el formato de la compañía transportadora dentro de la documentación del control y vigilancia de la muestra. La solicitud de análisis debe estar acompañada por el registro completo del proceso de control y vigilancia de la muestra. Se debe entregar la muestra a la oficina de recepción en el laboratorio; el recepcionista, a su vez, debe firmar el formato de vigilancia y control, incluyendo la fecha y hora de entrega.
  6. Recepción y registro de la muestra. En el laboratorio, el recepcionista inspecciona la condición y el sello de la muestra, compara la información de la etiqueta y el sello con el registro o formato del proceso de control y vigilancia, le asigna un número o código para su entrada al laboratorio, la registra en el libro del laboratorio, y la guarda en el cuarto o cabina de almacenamiento hasta que sea asignada a un analista.



7. Asignación de la muestra para análisis. El coordinador del laboratorio asigna la muestra para su análisis. Una vez la muestra está en el laboratorio, el auditor y los analistas son responsables de su cuidado y vigilancia.

#### **4. MÉTODOS DE MUESTREO**

1. *Muestreo manual*: El muestreo manual requiere de un equipo mínimo, pero para programas de muestreo a gran escala o de rutina puede ser excesivamente costoso y de incómodo manejo.
2. *Muestreo automático*: Los equipos de muestreo automático pueden eliminar errores humanos, inherentes al muestreo manual, reducen los costes y permiten aumentar la frecuencia del muestreo. El muestreador no debe contaminar las muestras. Así es el caso de los recipientes plásticos incompatibles para almacenar muestras que contienen compuestos orgánicos y que solubilizan los componentes plásticos. En algunos casos, un muestreador manual con recipiente de vidrio puede resultar más adecuado. Es necesario programar el muestreador automático de acuerdo con las especificaciones del mismo y las necesidades del muestreo.

#### **5. RECIPIENTES PARA LAS MUESTRAS**

Los recipientes para las muestras generalmente están hechos de plástico o de vidrio, y se utilizan de acuerdo con la naturaleza de la muestra y sus componentes. Los recipientes de vidrio no son adecuados para muestras destinadas a ser analizadas para metales traza y/o silicatos; el vidrio libera silicio y sodio, a su vez, pueden adsorber trazas de metales contenidas en la muestra. Por otra parte los recipientes de plástico - excepto los teflonados (politetrafluoroetileno, PTFE)- deben descartarse para muestras que contengan compuestos orgánicos ya que estos materiales liberan sustancias del plástico (por ejemplo, ésteres de ftalato del plástico) y, a su vez, disuelven algunos compuestos orgánicos volátiles de la muestra. Las tapas de los envases, generalmente de plástico, también pueden ser un problema, por lo que se debe usar empaques o séptum de metal o TFE. Para situaciones críticas, es adecuada la inclusión de un blanco del recipiente para demostrar la ausencia de interferencias. Se hace necesario usar los envases de vidrio para todos los análisis de compuestos orgánicos volátiles, semivolátiles, plaguicidas, PCBs, aceites y grasas.

#### **6. PRECAUCIONES GENERALES**

Uno de los requerimientos básicos en un programa de muestreo es asegurarnos la ausencia de procesos de degradación y/o de contaminación antes de iniciar los análisis en el laboratorio. En el muestreo de aguas, antes de recoger la muestra es necesario lavar el recipiente dos o tres veces, a menos que contenga agentes preservativos. Dependiendo del tipo de determinación, el recipiente se llena completamente (esto ocurrirá para la mayoría de las determinaciones de compuestos

orgánicos), o se deja un espacio para aireación o mezcla (por ejemplo, en análisis microbiológicos). Si el recipiente contiene preservativos no puede llenarse por completo ya que ocasionaría una pérdida por dilución. Excepto cuando el muestreo tiene como objetivo el análisis de compuestos orgánicos, se debe dejar un espacio de aire equivalente a aproximadamente 1% del volumen del recipiente, para permitir la expansión térmica durante su transporte.

Cuando las muestras recogidas contienen compuestos orgánicos o metales traza, se requieren precauciones especiales, debido a que muchos constituyentes están presentes en concentraciones de ppb ( $\mu\text{g/l}$ ) y/o ppt ( $\text{ng/l}$ ) y se puede correr el riesgo de una pérdida total o parcial, si el muestreo no se realiza con los procedimientos adecuados para su preservación.

En términos generales, la muestra recogida debe asegurar que los resultados analíticos obtenidos representan la composición actual de la misma. Debemos controlar los siguientes factores, ya que pueden afectar los resultados:

- presencia de material suspendido o turbidez en el área de muestreo;
- el método seleccionado para su muestreo,
- los cambios fisicoquímicos en su almacenamiento.

Por tanto, es necesario disponer de los procedimientos detallados (como filtración, sedimentación, etc.) a los que se van a someter las muestras antes de ser analizadas, especialmente si se trata de metales traza o compuestos orgánicos en concentraciones traza. Cada muestra debe ser tratada de forma individual, teniendo en cuenta las sustancias que se van a determinar, la cantidad y naturaleza de la turbidez presente, y cualquier otra condición que pueda influir en los resultados.

La selección de la técnica para recolectar una muestra homogénea debe ser definida en el plan de muestreo. Generalmente, se separa cualquier cantidad significativa de material suspendido por decantación, centrifugación o un procedimiento de filtración adecuado. Para el análisis de metales, la muestra puede ser filtrada o no, o ambas, si se requiere diferenciar el total de metales y los disueltos presentes en la matriz.

## **7. NUMERO DE MUESTRAS**

Debido a las variaciones aleatorias tanto del procedimiento analítico como la presencia de un constituyente en el punto de muestreo, una muestra simple puede ser insuficiente para obtener el nivel deseado de incertidumbre. Si la desviación estándar de todo el proceso es conocida, el número de muestras requeridas puede ser calculado a través de la siguiente relación:

$$N \geq \left( \frac{ts}{U} \right)^2$$

donde:

N = número de muestras,

t = prueba t de Student para un nivel de confiabilidad dado,  
s = desviación estándar global, y  
U = nivel aceptable de incertidumbre.

## **8. CANTIDAD DE MUESTRA**

Para la mayoría de análisis físicos y químicos se deben tomar, al menos, 2 L de muestra, aunque todo dependerá de los análisis que se realicen. Para determinados análisis, puede ser necesario un mayor volumen de muestra. Para pruebas químicas, bacteriológicas y microscópicas se deben tomar muestras por separado debido a que los métodos de recolección y manejo son diferentes. Es necesario tomar siempre un volumen de muestra suficiente en el recipiente adecuado que permita hacer las mediciones de acuerdo con los requerimientos de manejo, almacenamiento y preservación.

## **9. PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA**

Es prácticamente imposible la preservación completa e inequívoca de las muestras, independientemente de su origen. Independientemente de la naturaleza de la muestra, nunca puede lograrse la completa estabilidad de todos sus constituyentes; en el mejor de los casos, las técnicas de preservación solamente pueden retardar los cambios químicos y biológicos, que continúan inevitablemente después de que la muestra se retira de su fuente.

1. Naturaleza de los cambios en la muestra: Los cambios químicos son función de las condiciones físicas y suceden en la estructura de ciertos constituyentes. Los cationes metálicos pueden precipitarse como hidróxidos, formar complejos con otros constituyentes e incluso, algunos tales como aluminio, cadmio, cromo, cobre, hierro, plomo, manganeso, plata y zinc, se pueden adsorber en las superficies de los recipientes (vidrio, plástico, cuarzo, etc.). Bajo determinadas condiciones oxidantes o reductoras, los iones pueden cambiar de estado de valencia; otros constituyentes se pueden disolver o volatilizar con el paso del tiempo.

Los cambios biológicos que tienen lugar en una muestra pueden cambiar la valencia de un elemento o radical; los constituyentes solubles pueden convertirse en materiales orgánicamente enlazados a las estructuras celulares; o la ruptura de las células puede liberar el material celular hacia la solución. Los ciclos del nitrógeno y del fósforo son ejemplos de la influencia biológica en la composición de la muestra. La actividad microbiológica puede ser responsable de cambios en el contenido de nitrato-nitrito-amonio, disminución de la concentración de fenoles y de la DBO, o de la reducción del sulfato a sulfuro.

2. Intervalo de tiempo entre la toma y el análisis de muestras: Los resultados analíticos son más exactos en la medida que el tiempo transcurrido entre la toma de la muestra y su análisis sea menor, hecho especialmente cierto cuando las

concentraciones de los analitos están en el orden de  $\mu\text{g/L}$ . Para evaluar ciertos constituyentes y parámetros físicos, se requiere su análisis inmediato en el campo. Para las muestras compuestas se registra el tiempo en el momento de finalizar la operación de composición. Los cambios provocados por el crecimiento de microorganismos se retardan por almacenamiento de la muestra en la oscuridad y a baja temperatura ( $<4^\circ\text{C}$  pero sin congelar). Registrar el tiempo transcurrido hasta el momento del análisis de la muestra, y la técnica de preservación aplicada.

3. Técnicas de preservación: Los métodos de preservación incluyen las siguientes operaciones: control del pH, adición de reactivos, uso de botellas ámbar y opacas, refrigeración, filtración y congelación. Se utilizan para: (a) retardar la acción biológica, (b) retardar la hidrólisis de los compuestos o complejos químicos, (c) reducir la volatilidad de los constituyentes, y (d) reducir los efectos de absorción.

Para minimizar la volatilización o biodegradación de los constituyentes, es necesario guardar la muestra a baja temperatura sin congelación. Antes del envío al laboratorio, es preferible empacar las muestras en hielo triturado o en sustitutos comerciales del hielo; evitar el uso de hielo seco debido a que puede alterar el pH de las muestras, además de que las congela y puede causar la ruptura de los recipientes de vidrio. Las muestras compuestas deben mantenerse a  $4^\circ\text{C}$ , con hielo o un sistema de refrigeración, durante el período de composición. Es necesario analizar las muestras lo más pronto posible después de su llegada al laboratorio; si esto no es posible se recomienda, para la mayoría de muestras, el almacenamiento a  $4^\circ\text{C}$ .

La adición de preservativos químicos sólo es aplicable cuando éstos no interfieren con los análisis a realizar, y deben agregarse previamente a la botella de muestra de tal manera que todas las porciones de muestra se preserven de inmediato. En ocasiones, cuando se hacen diferentes determinaciones en una muestra es necesario tomar diferentes porciones y preservarlas por separado, debido a que el método de preservación puede interferir con otra determinación. Todos los métodos de preservación pueden ser inadecuados cuando se aplican a la materia en suspensión. El formaldehído afecta a la mayoría de análisis químicos y no debe usarse como preservativo.

En la Tabla 1 se dan los métodos de preservación recomendados para varios constituyentes, la estimación del volumen de muestra requerido para su análisis, el tipo de recipiente sugerido y el tiempo máximo de almacenamiento recomendado para muestras preservadas en condiciones óptimas.

Sin embargo, es imposible dar las reglas absolutas para prevenir todos los cambios posibles. Dependerá de las variables fisicoquímicas a analizar. La confiabilidad de una determinación analítica se apoya en la experiencia y buen criterio de la persona que toma la muestra.

TABLA 1. RECOMENDACIONES PARA EL MUESTREO Y PRESERVACIÓN DE MUESTRAS					
Determinación	Recipiente <sup>1</sup>	Volumen mínimo, ml	Tipo de muestra <sup>2</sup>	Preservación <sup>3</sup>	Almacenamiento máximo recomendado <sup>4</sup>
Conductividad	P, V	500	s, c	Refrigerar	28 días
Fosfato	V	100	s	Filtrar y refrigerar	48 horas
Grasa y aceite	V	1000	s, c	HCl (pH<2) y refrigerar	28 días
Metales	P	500	s	Filtrar <sup>6</sup> , agregar HNO <sub>3</sub> hasta pH<2	6 meses
Nitrato	P, V	100	s, c	Analizar lo antes posible o refrigerar	48 horas (28 días para muestras cloradas)
Nitrato+Nitrito	P, V	200	s, c	Agregar H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> hasta pH<2, refrigerar	28 días
Nitrito	P, V	100	s, c	Analizar lo antes posible o refrigerar	48 horas
pH	P, V	50	s	Análisis inmediato	----
Silicatos	P	200	s c	Refrigerar, no congelar	28 días
Temperatura	P, V	---	s	Análisis inmediato	----

<sup>1</sup> P = plástico (polietileno o equivalente); V = vidrio; V(A) o P(A) = enjuagado con HNO<sub>3</sub> (1:1)

<sup>2</sup> s = simple o puntual; c = compuesta.

<sup>3</sup> Refrigerar = almacenar a 4 °C en ausencia de luz. La preservación de la muestra debe realizarse en el momento de la toma de muestra. Para muestras compuestas, cada alícuota debe preservarse en el momento de su recolección. Cuando el uso de un muestreador automático haga imposible la preservación de cada alícuota, las muestras deben mantenerse a 4 °C hasta que se complete la composición.

<sup>4</sup> Las muestras deben ser analizadas lo más pronto posible después de su recolección. Periodos máximos que pueden transcurrir antes del análisis para considerarlo válido. Las muestras pueden dejarse por periodos más prolongados sólo si su seguimiento en el laboratorio ha demostrado que la muestra en estudio es estable durante un periodo de tiempo superior. Algunas muestras pueden no ser estables por el periodo máximo dado en la tabla. Si se envían las muestras por correo, deben cumplir con las regulaciones de transporte de materiales peligrosos.

<sup>6</sup> Para metales disueltos, las muestras deben filtrarse inmediatamente en el lugar de muestreo, antes de añadir ácido.

**MÉTODOS EN OCEANOGRAFÍA II:  
PARTE QUÍMICA**

**PRÁCTICA N° 2**

**CAMPAÑA DE MUESTREO MARINO PARA ANÁLISIS QUÍMICO  
(MUESTRAS LÍQUIDAS Y SÓLIDAS)**

## **1. NORMAS Y PRECAUCIONES GENERALES**

El planteamiento general de la campaña de muestreo debería estar diseñado en la primera sesión práctica de la asignatura. Si es así, tener en cuenta las siguientes recomendaciones antes de comenzar a recolectar las muestras:

- a) Preparar con antelación el material de muestreo y de almacenamiento que se vayan a utilizar, limpiando cada uno convenientemente de acuerdo a los protocolos a aplicar según el tipo de muestra que se vaya a recolectar y el análisis al que vaya a ser sometida.
- b) Con ayuda de un mapa, localizar las estaciones, a lo largo de la costa, que previamente se hayan establecido para la recolección de las muestras.
- c) Libro de Campo: registrar en él las observaciones de campo como fecha, hora y condiciones climatológicas, propósito del muestreo, localización y descripción de la estación de muestreo, método de muestreo, tipo de muestra y método de preservación si es aplicable, número y volumen de muestra tomados, nombre del recolector responsable.
- d) Etiquetas: pegar al frasco de muestra antes de o en el momento del muestreo, etiquetas adhesivas en las que se anote, con tinta a prueba de agua, el número de muestra, nombre del recolector, fecha, hora y lugar de recolección, así como la preservación realizada, si ha lugar.

## **2. PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS**

### **2.1 Muestras de Agua para Análisis de Nutrientes y de Metales**

El material plástico que se utilice para almacenar las muestras, debe ser enjuagado con agua destilada, para a continuación mantenerlo en remojo al menos durante una semana en ácido nítrico 0,5 – 1 M, para después enjuagarlo con agua destilada y secarlo en una cámara de flujo laminar con aire limpio. Se recogerán muestras de al menos un litro de volumen, manualmente o automáticamente, y se introducirán en recipientes plásticos que habrán sido lavados como se indica en el párrafo anterior. Las muestras deberán ser acidificadas con ácido nítrico concentrado hasta pH 2 (aproximadamente 1,5 ml son suficientes) para su conservación. Tras cerrar herméticamente y etiquetar los recipientes, se almacenarán en frigorífico a 4°C hasta el momento de su análisis.

### **2.2 Muestras de Agua para Análisis de Compuestos Orgánicos**

Se recogerá una muestra representativa en una botella de cristal de boca ancha, que haya sido enjuagada con el disolvente para eliminar cualquier película de detergente, acidificando la muestra en la botella. Recójase además una muestra separada para hacer una determinación de aceite y grasa. Si es posible, las muestras deben ser

analizadas inmediatamente, evitando los conservantes que pueden interferir en las pruebas. Para su conservación, la mayoría de las muestras deben ser almacenadas a baja temperatura (4°C) nada más tomarlas.

### **2.3 Muestras de Sedimentos para Análisis de Metales**

Para la recolección de muestras de sedimentos suelen utilizarse dos técnicas básicas: el dragado o los núcleos o testigos. En la primera posibilidad, con una draga se recogen las capas superficiales del sedimento del fondo, mientras que en la segunda posibilidad se recogen columnas de sedimentos subsuperficiales. En cualquier caso, debe asegurarse una aproximación lenta de los muestreadores al lecho marino para evitar la formación de turbulencias. En nuestro caso concreto los sedimentos arenosos se recogerán manualmente utilizando material limpio no metálico, almacenando inmediatamente las muestras en recipientes plásticos etiquetados, que se cerrarán herméticamente y se mantendrán en refrigerador a 4°C, hasta su análisis.

### **2.4 Muestras de Sedimentos para Análisis de Compuestos Orgánicos**

Se trabajará de la misma forma que se describió en el apartado 2.2 en lo que se refiere al almacenamiento, y de la misma forma que en el apartado 2.3 en lo que se refiere a la recolección.

### **2.5 Muestras de Organismos para Análisis de Metales**

Se muestreará el material biológico en estaciones de muestreo que hayan sido establecidas previamente en la fase del diseño del muestreo. Deberán tomarse un mínimo de tres replicados de muestras de cada estación, utilizando un mínimo de 10 individuos por cada replicado.

Tras la recolección de los individuos se procederá a establecer su talla y su peso, para a continuación diseccionar sus partes blandas con un bisturí de acero inoxidable o de teflón, debidamente limpios. Dichas partes serán introducidas en recipientes plásticos etiquetados, limpiados previamente como se explica en el apartado 2.2, para evitar contaminaciones, con el fin de poder almacenarlos hasta el día de su análisis. Tratar de congelar las muestras lo antes posible.



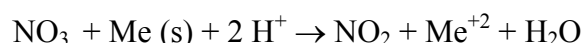
**MÉTODOS EN OCEANOGRAFÍA II:  
PARTE QUÍMICA**

**PRÁCTICA N° 3**

**PREPARACIÓN DE LA COLUMNA REDUCTORA PARA ANÁLISIS DE  
NITRATOS EN AGUA DE MAR**

## 1. INTRODUCCIÓN

El método utilizado para la determinación de nitratos en agua de mar se basa en la reducción de nitratos a nitritos (Hanse y Koroleff, 1999). El nitrato se encuentra, en agua de mar como ion y no se compleja ni se enlaza. Para su determinación, llevamos a cabo su reducción mediante la utilización de granos de cadmio recubiertos de cobre como agente reductor. Las condiciones en las que se produce la reducción deben ser controladas para que la reducción sea completa a nitrito:



La reducción de nitrato a nitrito va a depender del metal usado en el reductor, del pH de la disolución y de la actividad de la superficie del metal. Disoluciones muy alcalinas o superficies de metal inactivas producirán una reducción parcial mientras que, disoluciones muy ácidas, el uso de metales muy electronegativos o superficies muy activas también podrían reducir los nitritos.

En disoluciones neutras o alcalinas, el potencial estándar de la reacción es:



Los iones cadmio formados durante la reducción del nitrato reaccionan con los iones hidroxilos y forman un precipitado. Esto significa que el pH de la disolución cambiará si no se tampona, principalmente en los alrededores de la superficie del metal. Debido a que la capacidad de tamponamiento del agua de mar no es suficiente, se añade cloruro amónico que actuará como complejante ( $\text{Cd}(\text{NH}_3)_2^{2+}$ ) y como tampón. Bajo condiciones controladas, el nitrito originalmente presente en el agua pasa a través del reductor sin reducirse. Esta cantidad de nitrito debe considerarse y restarse de la cantidad total de nitritos medida.

*Rango y precisión.* Utilizando el mismo reductor, la desviación máxima entre muestras duplicadas (incluyendo la reducción y determinación de nitrito) es  $\pm 0.1 \mu\text{mol/l}$  en el rango 0-5  $\mu\text{mol/l}$ ,  $\pm 0.2 \mu\text{mol/l}$  en el rango 5-10  $\mu\text{mol/l}$  y  $\pm 0.5 \mu\text{mol/l}$  para concentraciones superiores.

## **2. MATERIAL Y REACTIVOS**

Reductor: Cadmio granulado (Merck). Fracción 40-60 malla

Sulfato de cobre. Se disuelve 1 gramo de sulfato de cobre pentahidratado en 100 ml de agua destilada

Disolución estándar de nitrato. Se disuelven 1.011 g de nitrato potásico seco (KNO<sub>3</sub>) en agua destilada y se enrasa a 1 litro. La disolución patrón contiene 10 mmol/l de nitrato y es estable.

Solución buffer de cloruro amónico: 10 g de cloruro amónico se disuelven en 1000 ml de agua destilada. El pH es ajustado a 8.5 con amonio (se requiere aproximadamente cerca de 1.5 ml de amonio). Esta solución se guarda en una botella de polietileno. Este reactivo es estable.

Solución de sulfanilamida: se disuelven 5 g de sulfanilamida en una mezcla de 50 ml de clorhídrico concentrado y 300 ml de agua destilada; se diluye con agua destilada hasta 500 ml.

Solución de N(1-naftil)etilendiamina: se diluyen 0.5 g de de dihidrocloruro de N(1-naftil)etilendiamina en 500 ml de agua destilada y se guarda la solución en una botella oscura. Debe desecharse la solución cuando ésta sea ligeramente coloreada.

Nota: Este reactivo es carcinógeno. Deben tomarse las mayores precauciones en su manejo utilizando, por ejemplo, pipetas para ácidos.

## **3. PROCEDIMIENTO**

La columna reductora es un tubo de vidrio de 10-25 cm de longitud, tal como observamos en el material de laboratorio preparado para esta práctica. La longitud del reactor depende del volumen de muestra y el tiempo de reducción. Así, una columna de 20 cm de largo con un diámetro de 3 cm permite una velocidad de flujo de 6-8 ml/min y 50 ml de muestra se reducen en 6-8 minutos.

Los granos de cadmio son liberados del polvo de cadmio y óxidos lavándolos con 2 mol/l de HCl y, posteriormente, con agua destilada. A continuación, se le añade una disolución del CuSO<sub>4</sub> al 1%, hasta que observemos que el cadmio adquiere brillo. Posteriormente, lavaremos el cadmio tratado con agua destilada para eliminar las limaduras de este metal, tantas veces como sea necesario.

Una vez preparado el cadmio, se coloca en la parte inferior del tubo, un poco de lana de vidrio y se cierra y fija con agua. A continuación, se rellena lentamente la columna reductora con el cadmio, dejando un espacio libre al final de 5-8 cm.

El reductor se activa pasando, inicialmente, 250 ml de disolución tampón a través de la columna con una concentración de 100 µmol/l de nitrato. Después de pasarle esta disolución, la columna está preparada para usar. El reductor no puede secarse y es importante el control de las burbujas de aire en el interior de la columna.

#### **4. EFICIENCIA DE LA REDUCCIÓN**

Una vez activada, la eficiencia de reducción debe estar próxima al 100%. Para llevar a cabo su comprobación, es necesario preparar patrones de nitratos y nitritos en la misma concentración. Así, prepararemos tres patrones de 20  $\mu\text{mol/l}$  de nitratos y los pasaremos por la columna, provocando su reducción a nitritos. Realizaremos el mismo procedimiento con tres patrones de 2  $\mu\text{mol/l}$  de nitratos. Finalmente, prepararemos patrones de 20 y 2  $\mu\text{mol/l}$  de nitritos y realizaremos la determinación de ambos, tal como se describe en la práctica nº 4. Compararemos las absorbancias obtenidas en todos ellos. Si la eficiencia de la reducción fuera menor al 90%, el reductor tendrá que ser reactivado y/o renovado. Cuando la columna no se está utilizando, el reductor debe guardarse relleno con una disolución tampón de cloruro amónico.

**MÉTODOS EN OCEANOGRAFÍA II:  
PARTE QUÍMICA**

**PRÁCTICA N° 4**

**DETERMINACIÓN DE NITRATOS Y NITRITOS**

## **DETERMINACIÓN DE NITRATOS**

### **1. FUNDAMENTOS**

Básicamente, el método consiste en el paso de los nitratos del agua problema a nitritos (reducción), los cuales se determinan por el método descrito anteriormente. El nitrato pasa a nitrito casi cuantitativamente al atravesar una columna que contiene filamentos o limaduras de cadmio recubiertas de cobre metálico.

### **2. REACTIVOS**

Solución buffer de cloruro amónico: 10 g de cloruro amónico se disuelven en 1000 ml de agua destilada. El pH es ajustado a 8.5 con amonio (se requiere aproximadamente cerca de 1.5 ml de amonio). Esta solución se guarda en una botella de polietileno. Este reactivo es estable.

Solución de sulfanilamida: se disuelven 5 g de sulfanilamida en una mezcla de 50 ml de clorhídrico concentrado y 300 ml de agua destilada; se diluye con agua destilada hasta 500 ml.

Solución de N(1-naftil)etilendiamina: se diluyen 0.5 g de de dihidrocloruro de N(1-naftil)etilendiamina en 500 ml de agua destilada y se guarda la solución en una botella oscura. Debe desecharse la solución cuando ésta sea ligeramente coloreada.

Nota: Este reactivo es carcinógeno. Deben tomarse las mayores precauciones en su manejo utilizando, por ejemplo, pipetas para ácidos.

#### **Patrones primarios.**

Preparar 250 ml de un patrón 10.000  $\mu\text{mol}$  de nitratos/litro a partir de nitrato potásico ( $P_m = 101 \text{ g/mol}$ ) (esta solución es estable durante mucho tiempo). A partir de ésta, preparar una segunda disolución de 100  $\mu\text{mol}$  de nitrato/litro en un volumen de 50 ml. Si es necesario, preparar una tercera disolución que contenga 10  $\mu\text{mol/l}$  de nitrato en un volumen de 50 ml.

#### **Patrones secundarios.**

Preparar soluciones de nitrato 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 y 2.0  $\mu\text{moles}$  de nitratos/litro a partir del patrón de 10  $\mu\text{mol}$  /litro en volúmenes de 50 ml.

### **3. PROCEDIMIENTO**

Se toman 50 ml de la muestra y se llevan a un matraz aforado de 100 ml. A continuación, se añaden 50 ml del buffer de cloruro amónico y la solución resultante se hace pasar por una columna de cadmio reductora. Los primeros 75 ml se retiran y se desechan. El resto de solución que percola es recogida y se le añade 0.5 ml de la solución de sulfanilamida y se agita y se deja reaccionar de 2 a 8 min. Se añade luego 0.5 ml de solución de naftiletildiamina y se mezcla. De 10 min. a 2 horas después se mide la extinción de la solución a 543 nm. Los patrones son tratados de igual modo. El blanco se hace con agua destilada a la que se le ha añadido los reactivos citados y en igual cantidad y secuencia.

### **4. RESULTADOS**

Con los valores de absorbancia de los patrones se elabora una curva de calibrado (por el método de mínimos cuadrados). La concentración de nitratos en la muestra problema se obtiene a partir de la ecuación de la recta sustituyendo el valor observado de la absorbancia.

## **DETERMINACIÓN DE NITRITOS**

### **1. FUNDAMENTO**

El método consiste en hacer reaccionar el nitrito con la sulfanilamida en medio ácido. De tal reacción resulta un diazocompuesto que reacciona con la N(1-naftil)etilendiamina y forma un compuesto coloreado cuya extinción se mide en el espectrofotómetro a 543 nm.

### **2. REACTIVOS**

#### Solución de sulfanilamida

Se disuelven 5 g de sulfanilamida en una mezcla de 50 ml de clorhídrico concentrado y 300 ml de agua destilada; se diluye con agua destilada hasta 500 ml.

#### Solución de N(1-naftil)etilendiamina

Se diluyen 0.5 g de de dihidrocloruro de N(1-naftil)etilendiamina en 500 ml de agua destilada y se guarda la solución en una botella oscura. Debe desecharse la solución cuando ésta sea ligeramente coloreada.

Nota: Este reactivo es carcinógeno. Deben tomarse las mayores precauciones en su manejo utilizando, por ejemplo, pipetas para ácidos.

**Patrones primarios.**

Preparar 250 ml de un patrón de nitritos de 10.000  $\mu\text{mol/litro}$  a partir de nitrito de sodio anhídrido ( $M=69 \text{ g}$ ). A partir de éste, prepárese una segunda disolución que contenga 100  $\mu\text{mol/litro}$  de nitrito en un volumen de 50 ml. Si es necesario, preparar una tercera disolución que contenga 10  $\mu\text{mol/l}$  de nitrito en un volumen de 50 ml.

**Patrones secundarios.**

A partir de la tercera de las soluciones de arriba, obténgase los patrones de concentraciones de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 y 2.0  $\mu\text{moles}$  de nitrito/litro.

**3. PROCEDIMIENTO**

A 50 ml del agua problema se añade 1 ml de la solución de sulfanilamida; se agita y se deja reaccionar de 2 a 8 min. Se añade luego 1 ml de solución de naftiletildiamina y se mezcla. De 10 min. a 2 horas después se mide la extinción de la solución a 543 nm. Los patrones son tratados de igual modo. El blanco se hace con agua destilada a la que se le ha añadido los reactivos citados en igual cantidad y secuencia.

**4. RESULTADOS**

Con los valores de absorbancia de los patrones se elabora una curva de calibrado (por el método de mínimos cuadrados). La concentración de nitritos en la muestra problema se obtiene a partir de la ecuación de la recta sustituyendo el valor observado de la absorbancia.



**MÉTODOS EN OCEANOGRAFÍA II:  
PARTE QUÍMICA**

**PRÁCTICA N° 5**

**DETERMINACIÓN DE SILICATOS**

## 1. FUNDAMENTO

Todos los métodos para la determinación del silicato reactivo en el agua son colorimétricos y se basan en la producción de una forma compleja de silicomolibdato ( de color amarillo), pudiéndose medir la absorción de la luz de esta sustancia o bien reducir este complejo para formar un compuesto de color azul más intensamente coloreado, cuya extinción se mide entonces. En la presente práctica se utilizará como reductor una solución de ácido ascórbico. Para evitar la formación de complejos de fósforo en presencia de este reductor se utilizará una solución de ácido oxálico.

En la determinación de los silicatos deben tomarse ciertas precauciones ya que los recipientes de cristal producen errores en el análisis ya que este material contiene sílice. Por ello deben emplearse recipientes de polietileno o propileno. En el caso de que esto no sea posible se lavarán con una mezcla de ácido nítrico/sulfúrico 1:1, o bien con una mezcla sulfocrómica, enjuagándose con agua destilada.

## 2. REACTIVOS

### Solución de sulfúrico 4.5 M

Solución de ácido molíbdico: 15.83 g de molibato amónico tetrahidratado son disueltos en 125 ml de agua destilada. A continuación se añaden 125 ml de ácido sulfúrico 4.5 M.

Solución de ácido oxálico: 5 g de ácido oxálico dihidratado son disueltos en 50 ml de agua destilada.

Solución de ácido ascórbico: 1.4 g de ácido ascórbico son disueltos en 50 ml de agua destilada.

### **Patrones primarios.**

Preparar 250ml de un patrón de silicato de 10.000  $\mu\text{mol/litro}$  a partir de hexafluosilicato de sodio ( $P_m$  188.05 g/mol), (seco durante una noche a  $110^\circ\text{C}$ ). A partir de éste, preparar un segundo que contenga 100  $\mu\text{mol/litro}$  en un volumen de 50 ml. Si es necesario, preparar una tercera disolución que contenga 10  $\mu\text{mol/l}$  de silicato en un volumen de 50 ml.

### **Patrones secundarios.**

Preparar soluciones de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 y 2.0  $\mu\text{moles}$  de silicato/litro a partir del patrón primario de 10 micromoles/litro en volúmenes de 50 ml.

### **3. PROCEDIMIENTO**

Una vez la muestra y los patrones han sido transferidos a recipientes de polietileno se les añade 1 ml de la solución de molibdato y se agita fuertemente. Esperar 10 min. Añadir 1 ml del ácido oxálico y seguidamente 0.5 ml de ácido ascórbico. Esperar 20 minutos. Medir la densidad óptica a 812 nm. Proceder de igual modo con los patrones. Para realizar el blanco, utilizar agua destilada a la que se han añadido las mismas cantidades de los reactivos que en los casos anteriores y en la secuencia señalada.

### **4. RESULTADOS.**

Con los valores de absorbancia de los patrones se elabora una curva de calibrado (por el método de mínimos cuadrados). La concentración de silicatos en la muestra problema se obtiene a partir de la ecuación de la recta sustituyendo el valor observado de la absorbancia.

**MÉTODOS EN OCEANOGRAFÍA II:  
PARTE QUÍMICA**

**PRÁCTICA N° 6**

**DETERMINACIÓN DE FOSFATOS**

## 1. FUNDAMENTO

El método consiste en añadir a una muestra molibdato amónico en medio ácido, lo que origina un ácido complejo que en presencia de un reductor (ácido ascórbico) da una coloración azul, que queda fijada con tartrato de antimonio y potasio; la intensidad de la coloración depende de la concentración de iones fosfato.

## 2. REACTIVOS

### Acido sulfúrico 4.5 M

Solución de ácido ascórbico: disolver 5 g de ácido ascórbico en 25 ml de agua destilada. Añadir 25 ml de ácido sulfúrico 4.5 M.

Solución de heptamolibdato amónico: disolver 6.25 g de heptamolibdato amónico tetrahidratado en 62.5 ml de agua destilada.

Solución de tartrato de antimonio y potasio: disolver 0.25 g de tartrato de antimonio y potasio en 10 ml de agua destilada; la solución es estable durante varios meses.

Reactivo mixto: añadir la solución de molibdato a 175 ml de ácido sulfúrico 4.5 M. Agitar. A continuación añadir la solución de tartrato.

### **Patrón primario**

Preparar un solución de fosfato de 10.000  $\mu\text{moles/litro}$  a partir de fosfato potásico dihidrógeno en un volumen de 250 ml. A partir de esta solución preparar una disolución de 100  $\mu\text{moles/l}$  en 50 ml. Si es necesario, preparar una tercera disolución que contenga 10  $\mu\text{mol/l}$  de fosfatos en un volumen de 50 ml.

### **Patrones secundarios.**

Preparar disoluciones de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 y 2.0  $\mu\text{moles/litro}$  de fosfato a partir del patrón primario de 10  $\mu\text{mol/l}$  en volúmenes de 25 ml.

### **3. PROCEDIMIENTO**

A 25 ml de la muestra se le añaden 0.5 ml de reactivo mixto y 0.5 ml de ácido ascórbico. Se espera 5 min. y se mide la extinción a 885 nm. El blanco se hace añadiendo a 25 ml de agua destilada, 0.5 ml del reactivo mixto y 0.5 ml de ácido ascórbico. Tras esperar 5 minutos, se lleva al espectrofotómetro.

### **4. RESULTADOS**

Con los valores de absorbancia de los patrones se elabora una curva de calibrado (por el método de mínimos cuadrados). La concentración de fosfato en la muestra problema se obtiene a partir de la ecuación de la recta sustituyendo el valor observado de la absorbancia.

**MÉTODOS EN OCEANOGRAFÍA II:  
PARTE QUÍMICA**

**PRÁCTICA N° 7**

**PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y EXTRACCIÓN DE METALES  
EN AGUA DE MAR**

## 1. INTRODUCCIÓN

Los metales presentes en las aguas naturales y residuales pueden ejercer diferentes efectos, beneficiosos, tóxicos o simplemente molestos. En cualquier caso los potenciales beneficios o riesgos dependen generalmente de la concentración del metal correspondiente. En general, la presencia de un determinado metal en las aguas naturales es debida a dos aportes exteriores diferenciados: los aportes naturales, como pueden ser la disolución de minerales por parte de aguas fluviales, o los efluvios de naturaleza volcánica, y los aportes antropogénicos ligados a fenómenos de contaminación y aguas residuales urbanas e industriales.

A la hora de determinar los metales presentes en una cierta muestra es necesario tener claro qué fracción del metal es la que interesa estudiar, pues la recogida de muestras y el tratamiento preliminar diferirá en cada caso. Así distinguiremos las siguientes fracciones de metal en las aguas:

- a) **Metales disueltos:** son los componentes metálicos de una muestra sin acidular que pasan a través de un filtro de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . Para su determinación es necesario filtrar la muestra inmediatamente después de su recolección.
- b) **Metales suspendidos:** son los componentes metálicos de una muestra sin acidular que son retenidos por un filtro de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . Para su determinación hay que filtrar la muestra inmediatamente después de su recolección.
- c) **Metales totales:** es la concentración de metales determinada en una muestra sin filtrar tras digestión intensa, o bien la suma de las concentraciones de metales en las fracciones disuelta y suspendida.
- d) **Metales extraíbles con ácido:** es la concentración de metales en solución tras el tratamiento de una muestra sin filtrar con ácido mineral diluido caliente.

La decisión de cual es la fracción que se va a analizar determinará si se acidula la muestra con o sin filtración previa, así como el tipo de digestión requerido en el tratamiento previo a la determinación.

Finalmente, el análisis de los metales puede efectuarse de forma satisfactoria utilizando métodos de absorción atómica, de plasma de acoplamiento inductivo o colorimétricos (de menor precisión y sensibilidad que los anteriores).



## **2. MATERIAL Y REACTIVOS**

- Embudo de decantación de teflón de 500 ml.
- Embudo de decantación de teflón de 125 ml.
- Pipetas de polipropileno de 1, 2 ó 5 ml.
- Probetas de polipropileno de 10 ó 25 ml.
- Embudos de polipropileno.
- Vasos de precipitados de polipropileno o cuarzo, de 10, 50 ó 100 ml.
- Placa calefactora.
- Balanza analítica.
- Solución complejante (1% de APDC y 1% de DDDC, estabilizada en solución de  $\text{NH}_4\text{OH}$  al 1% y purificada por extracción con cloroformo).
- Cloroformo.
- Buffer de acetato para pH 4,5.
- Ácido Nítrico 7,5 M.
- Ácido Nítrico concentrado.

## **3. LIMPIEZA DEL MATERIAL**

Para limpiar el material plástico a utilizar en el método que se describe se procederá, en primer lugar, a enjuagarlo con acetona, para a continuación lavarlo con detergente Micro, enjuagarlo después con agua desionizada y mantenerlo en remojo durante al menos un día, en ácido clorhídrico 3 M caliente (o bien durante una semana en ácido clorhídrico 6 M a temperatura ambiente). A continuación, tras enjuagarlo con agua desionizada, deberá ser mantenido en remojo durante al menos tres días en ácido nítrico 0,5 – 1 M, enjuagándolo finalmente de nuevo con agua desionizada.

El material plástico que se utilice para almacenar las muestras, debe ser enjuagado con agua destilada, para a continuación mantenerlo en remojo al menos durante una semana en ácido nítrico 0,5 – 1 M, para después enjuagarlo con agua destilada y secarlo en una cámara de flujo laminar con aire limpio.

## **4. PROCEDIMIENTO**

- Transferir 400 g de agua oceánica (o menos, unos 250 g, para aguas costeras) a un embudo de decantación de teflón, de 500 ml.
- Ajustar el pH a 4,5 añadiendo un buffer de acetato (la cantidad que se necesite puede determinarse en un ensayo previo con una pequeña cantidad de muestra, como 50 g).
- Añadir 1 ml de solución complejante, seguido de 10 ml de cloroformo.
- Agitar la mezcla vigorosamente durante 5 minutos. Permitir la separación de las fases (unos 10 minutos), y drenar a continuación la capa orgánica inferior a un embudo de decantación de teflón, de 125 ml.

- Añadir a este segundo embudo 4 ml de ácido nítrico 7,5 M para iniciar la degradación de los ditiocarbamatos.
- Añadir 6 ml más de cloroformo a la muestra original en el primer embudo para una segunda extracción de las especies complejadas, enjuagando con él la muestra y el embudo.
- Después de la separación de las fases, la nueva fracción de cloroformo debe ser combinada con la primera en el embudo de 125 ml, agitándolas vigorosamente durante 2 minutos. Tras una nueva separación de las fases, se descargará la fracción de cloroformo.
- La fase ácida conteniendo los metales extraídos se descarga a un vaso de cuarzo de 10 – 25 ml, usando 2 ml de ácido nítrico 7,5 M para enjuagar el embudo de decantación de donde se ha descargado, que después serán mezclados con los 4 ml ya reservados en el vaso de cuarzo.
- Evaporar a sequedad esos 6 ml de extracto ácido, oxidando el residuo resultante con 250 ó 500 µl de ácido nítrico concentrado.
- Para su análisis en Espectrometría de Absorción Atómica de ionización de llama, se debe redisolver el residuo anterior en ácido nítrico 1 M caliente, y transferirlo con enjuagues de 250 µl a un vial adecuado.

**MÉTODOS EN OCEANOGRAFÍA II:  
PARTE QUÍMICA**

**PRÁCTICA N° 8**

**PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS  
ORGÁNICOS EN AGUA DE MAR. ACEITES Y GRASAS**

## **1. INTRODUCCIÓN**

Los análisis para la determinación de la materia orgánica en aguas limpias y residuales se pueden clasificar en dos categorías: aquellos en los que se determina cuantitativamente una cantidad conjunta de materia orgánica que consta de componentes orgánicos con una característica común, y aquellos en los que se determinan cuantitativamente compuestos orgánicos individuales.

Para la evaluación de la cantidad total de materia orgánica presente se utilizan los métodos de determinación del carbono orgánico total y del requerimiento de oxígeno químico. Puede procederse a la identificación analítica de fracciones macroscópicas de materia orgánica, como ocurre en la determinación del ROB (índice de la materia orgánica biodegradable presente), aceite y grasas (materia extraíble de una muestra por medio de un disolvente apolar) o en la determinación de haluros orgánicos totales.

En el caso de la determinación de aceites y grasas, no se mide una cantidad absoluta de una sustancia específica, sino que se determinan cuantitativamente grupos de sustancias con características físicas similares, en función de su solubilidad común en un disolvente orgánico específico (p. Ej., triclorotrifluoroetano). De esta forma para nosotros será aceite y grasa cualquier material recuperado como sustancia soluble en el disolvente orgánico específico, incluyendo otros materiales extraídos por el disolvente, de una muestra acidificada (como los compuestos de azufre, ciertos tintes orgánicos, o la clorofila).

## **2. TOMA DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO**

Se recogerá una muestra representativa en una botella de cristal de boca ancha, que haya sido enjuagada con el disolvente para eliminar cualquier película de detergente, acidificando la muestra en la botella. Recójase además una muestra separada para hacer una determinación de aceite y grasa. Si es posible, las muestras deben ser analizadas inmediatamente, evitando los conservantes que pueden interferir en las pruebas. Para su conservación, la mayoría de las muestras deben ser almacenadas a baja temperatura (4°C) nada más tomarlas.

### **3. MÉTODO DE PARTICIÓN – GRAVIMETRÍA**

El aceite o la grasa disuelta o emulsionada puede extraerse del agua por contacto íntimo con el disolvente extractor. Algunas grasas y ácidos grasos extraíbles especialmente no saturados, se oxidan con rapidez, por lo que deben tomarse ciertas precauciones con respecto a la temperatura y desplazamiento de vapor del disolvente para reducir este efecto.

Ningún disolvente conocido disolverá de forma selectiva sólo aceite y grasa. Además la eliminación del disolvente produce la pérdida de los hidrocarburos de cadena corta y aromáticos sencillos por volatilización. También se pierden en este proceso cantidades significativas de destilados del petróleo y, además, los residuos más pesados del petróleo pueden contener fracciones significativas de materiales no extraíbles con el disolvente.

#### **a. Material y Reactivos**

- Embudo de decantación de 1 litro.
- Matraz de destilación (125 ml).
- Baño de agua.
- Papel de filtro (11 cm diámetro).
- Ácido clorhídrico (1 + 1).
- Triclorotrifluoroetano o diclorometano.
- Sulfato de sodio anhidro.

#### **b. Procedimiento**

- Recójase una muestra de 1 litro y márquese el nivel de la muestra en la botella para determinar posteriormente el volumen de la muestra. Acidifíquese hasta pH 2 o inferior (~ 5 ml de HCl pueden bastar).
- Pásese a un embudo de decantación, aclarando con cuidado la botella de muestra con 30 ml del disolvente, y añadiendo los lavados al embudo.
- Agitar vigorosamente durante 2 minutos. Si se sospecha que se formará una emulsión estable, agítese con suavidad durante 5 a 10 minutos.
- Déjese que se separen las capas, y a continuación drenar la capa de disolvente a través de un embudo que contenga papel de filtro humedecido con el disolvente, hasta un matraz de destilación limpio y tarado.
- Si no es posible obtener una capa clara de disolvente, añádase 1 g de sulfato sódico al cono del papel de filtro y dréñese lentamente el disolvente emulsionado sobre los cristales. Añádase más sulfato sódico si es necesario.
- Háganse dos extracciones más con 30 ml de disolvente cada vez, pero aclárese primero el envase de la muestra con cada fracción del disolvente.

- Combínense los extractos en el matraz de destilación tarado y lávese el papel de filtro con otros 10 a 20 ml del disolvente.
- Destílese el disolvente del matraz de destilación en un baño de agua a 70°C, durante 15 minutos y extráigase aire a su través aplicando el vacío durante el minuto final.
- Enfríese en un desecador durante 30 minutos y pésese.

**c. CÁLCULOS**

Si el disolvente orgánico está libre de residuos, la ganancia de peso del matraz de destilación se debe principalmente al aceite y la grasa. La ganancia total de peso (A) del matraz tarado menos el residuo calculado (B) del blanco del disolvente, es la cantidad de aceite y grasa de la muestra:

$$(\text{g de aceite y grasa})/l = \frac{(A - B) \cdot 1000}{\text{ml de muestra}}$$

**MÉTODOS EN OCEANOGRAFÍA II:  
PARTE QUÍMICA**

**PRÁCTICA N° 9**

**PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y EXTRACCIÓN DE METALES EN  
SEDIMENTOS**

## **1. INTRODUCCIÓN**

Los sedimentos costeros y de estuarios son una mezcla de material orgánico e inorgánico que se ha depositado como materia sólida particulada (detritus) o que se ha incorporado desde la disolución por diversas vías (material no detritico). Pueden clasificarse los sedimentos en función de su tamaño de grano y proporción relativa de partículas sedimentarias, por su color, por la proporción relativa de componentes orgánicos e inorgánicos o su composición química y mineralógica predominante. La mayoría de las muestras sedimentarias tienen un predominio del material detritico, determinándose así la composición química mayoritaria de los mismos, mientras que los componentes orgánicos representan normalmente menos del 10% en peso.

En cuanto a los metales presentes en los sedimentos, suele ser difícil determinar qué proporción de los mismos es natural y cuál es antropogénica, ya que las fracciones de ambas procedencias se acumulan juntas. Las muestras de sedimentos marinos se recolectan del fondo oceánico utilizando tipos específicos de aparatos de muestreo, y de forma que nos aseguremos que la muestra es fuertemente representativa del sustrato a una localización geográfica específica.

## **2. PROCEDIMIENTOS DE PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE SEDIMENTOS**

La preparación de las muestras para análisis sedimentológico y químico implica una serie de procedimientos para la subdivisión de la muestra, su secado, medida del contenido en agua, cribado seco y húmedo, prensado y almacenamiento.

### **2.1. Material**

- Mortero de ágata.
- Agitador mecánico.
- Horno de secado.
- Filtros de nylon o acero inoxidable (2000, 500, 63, 37  $\mu\text{m}$ ).
- Cilindros Atterburg.
- Platos de evaporación.
- Balanza analítica.
- Centrifugadora.
- Botellas de centrifugado de vidrio o polipropileno.



## 2.2. Preparación Inicial

Durante la preparación de la muestra debe tenerse extremo cuidado para evitar contaminación por objetos metálicos, plástico y vidrio contaminados, así como manos descubiertas.

Inicialmente, las muestras seleccionadas para el análisis deben ser descongeladas y secadas al aire durante 24 horas, eliminando a continuación el material grosero de más de 2 mm (guijarros, fibras orgánicas, conchas, ...). El material restante debe ser homogeneizado y prensado, para a continuación dividirlo en submuestras que se emplearán en los diferentes análisis físicos y químicos a realizar.

## 2.3. Secado de los Sedimentos

Antes de utilizar las muestras de sedimentos en análisis químicos, debe procederse a su completo secado, ya que las medidas analíticas están basadas en un peso seco constante. Para la determinación de metales se requieren al menos dos muestras separadas: una (1 – 10 g) para determinación de metales traza, excepto el mercurio, y otra para determinaciones de mercurio por su sensibilidad al proceso de secado.

Para secar al horno, se sitúan las muestras en recipientes plásticos o de teflón, introduciéndolas en el horno durante 24 horas a una temperatura de 105°C ó 60°C (mercurio), para eliminar el agua intersticial.

El secado por congelación es uno de los métodos más útiles a causa del menor riesgo de pérdida de elementos volátiles, además que provee un material pulverulento en lugar de agregados arcillosos duros.

## 2.4. Contenido en Agua

Las muestras de sedimento fresco contienen entre un 30 y un 95% en peso de agua. Debe medirse el contenido de agua del sedimento porque permite calcular un factor de corrección sobre el contenido de sal para sedimentos con alto contenido en agua, además de permitir otras ventajas en medidas de velocidad de sedimentación.

### 2.4.1. Determinación del contenido en agua en muestras húmedas:

- Pesar exactamente de 1 a 10 gramos de la muestra húmeda (x gramos), en un recipiente de plástico o teflón, secado a 105°C y previamente pesado.
- Situar en un horno precalentado a 105°C durante 24 horas.
- Situar las muestras en un desecador hasta que se enfríen.
- Volver a pesar las muestras (y gramos).
- Calcular el contenido de agua (expresado en porcentajes), aplicando la siguiente ecuación:

$$\text{Contenido en Agua (\%)} = \frac{x - y}{x} * 100$$

### **2.5. Corrección del Contenido de Sal**

Para muestras que contengan elevadas cantidades de agua salada intersticial (>70%), es necesario hacer correcciones sobre el contenido de sal, porque los altos contenidos en sal introducen errores significativos en las determinaciones de los metales. En muchos casos puede asumirse una salinidad promedio (35%) y una densidad de 1,025 g/cc para el agua intersticial, pero para sedimentos con un alto contenido en agua (>90%), debería extraerse el agua intersticial y determinar su salinidad.

### **2.6. Eliminación de Sales Marinas Solubles**

En algunas ocasiones es necesario eliminar las sales marinas solubles de los sedimentos antes de los análisis. Se requiere este proceso para muestras que se usen en la determinación de los cationes mayoritarios sodio y potasio, presentes también en el agua de mar, y se hace para asegurarse que no hay contaminación de los sedimentos por el agua de mar y que no hay interferencias inducidas por los cloruros en los análisis químicos.

- Transferir 10 a 20 gramos de muestra seca a una botella de propileno de 1 l para centrifugadora.
- Dispersarla por agitación durante 30 minutos con 1 litro de agua desionizada y destilada.
- Centrifugar la suspensión a 2000 rpm hasta que se aclare.
- Eliminar el agua, repitiendo el proceso hasta que el sobrenadante esté libre de cloruros (comprobar añadiendo nitrato de plata a una pequeña muestra de agua).
- Transferir el sedimento a un plato de evaporación y secar en el horno a 105°C.
- Triturar la muestra seca en un mortero de ágata, mezclar bien para evitar la trituración selectiva, y almacenar en viales sellados hasta que se requiera.

## **3. MÉTODOS DE DESCOMPOSICIÓN DE SEDIMENTOS**

Para determinar las concentraciones de metales mayoritarios y traza en sedimentos marinos por métodos químicos, es necesario disolver toda o parte de la muestra. Los métodos de digestión comúnmente utilizados son la descomposición total, la digestión con ácido fuerte o las extracciones con ácido débil.

Los métodos de descomposición total usan ácido fluorhídrico (HF) en combinación con ácidos oxidantes concentrados, como el agua regia ( $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$ , 1/3, v:v). El empleo del ácido fluorhídrico presenta algunas ventajas claras, como que es el único ácido que disuelve completamente los agregados de silicatos y puede liberar todos los metales asociados como aluminio, hierro o litio; o que se puede asegurar la exactitud mediante el análisis de materiales de referencia certificados para el contenido total de

metales; o bien que pueden obtenerse datos ínter comparables, sin prejuicios operacionales.

En las descomposiciones con ácidos fuertes se usan comúnmente ácido nítrico o agua regia, aunque no suelen estar recomendadas por ser digestiones incompletas (no se disuelven los silicatos y otros óxidos refractarios), por la variabilidad en las proporciones de metales disueltos o porque no hay materiales de referencia para asegurar la exactitud de los resultados.

Finalmente, en las extracciones con ácido débil o moderado suelen utilizarse ácidos como el clorhídrico o el acético, en estudios de partición química, y están estrictamente definidos desde el punto de vista operacional.

### **3.1 DESCOMPOSICIÓN TOTAL DE SEDIMENTOS**

En este método se usan ácido fluorhídrico (HF) y agua regia para liberar el contenido total de metales de sedimentos marinos a una disolución, en un vaso de descomposición de teflón.

#### **3.1.1 Material de Laboratorio**

- Vasos de descomposición de teflón.
- Frascos volumétricos de polipropileno (100 ml).
- Botellas de polipropileno de boca estrecha.
- Probetas de polipropileno.
- Embudos de polipropileno.
- Agitador mecánico.
- Mortero de ágata o teflón.
- Balanza analítica.
- Estufa para secado.

#### **3.1.2 Reactivos**

- Ácido fluorhídrico (HF, 49%).
- Ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>, 70%).
- Ácido clorhídrico (HCl, 37%).
- Agua regia (HNO<sub>3</sub> + HCl, 1:3, v/v).
- Ácido bórico.
- Agua desionizada.

#### **3.1.3 Tamaño de Muestra**

El tamaño de la muestra va a depender principalmente de las concentraciones esperadas de metal. Por lo general suele usarse una muestra de 0,1 g para los elementos mayoritarios, y una muestra de 1 g para determinación de metales traza. Dependiendo de la técnica utilizada en la determinación de los metales, el tamaño de la muestra puede ser alterado, y así es suficiente una muestra de 200 mg conteniendo las cantidades normales de metales mayoritarios y traza si se dispone de E. A. A. de horno de grafito, mientras que con E. A. A. de llama se requerirían los tamaños anteriormente descritos.

**3.1.4 Procedimiento para la Descomposición Total**

- Pesar exactamente 100 – 1000 mg de muestra de lodo fino, y transferir a un frasco de descomposición de teflón.
- Añadir 1 ml de agua regia. Añadir a continuación 6 ml de HF muy lentamente para evitar la formación de excesiva espuma.
- Cerrar herméticamente el frasco y calentar durante una hora como mínimo. Sacar el frasco de descomposición de la fuente de calor y enfriarla hasta temperatura ambiente en agua fría o en un baño de hielo.
- Pesar 5,6 g de ácido bórico y transferir a un frasco volumétrico de polipropileno, de 100 ml. Añadir 20 ml de agua y agitar brevemente.
- Sacar el frasco de descomposición del agua de enfriamiento y secarla cuidadosamente. Abrirlo, asegurándose de eliminar cualquier resto de agua que se encuentre en su exterior, y transferir su contenido al frasco volumétrico.
- Enjuagar el frasco de descomposición varias veces con agua desionizada y añadir los enjuagues al frasco volumétrico. Enrasar a 100 ml con agua.
- Transferir la disolución resultante a una botella de polipropileno para almacenarla.
- Las disoluciones preparadas a partir de 100 – 500 mg de muestra deben dejarse en reposo toda una noche, mientras que las preparadas a partir de 500 – 1000 mg de muestra deben dejarse en reposo varios días. Esto se debe a que los metales no se pueden determinar en soluciones concentradas hasta que el precipitado gelatinoso de borosilicato haya sedimentado, liberando una capa superficial clara que puede ser analizada, lo que puede llevar de 7 a 14 días. En muestras más pequeñas, tal precipitación no ocurrirá y la muestra debe ser analizada después que el residuo negro de carbono haya sedimentado durante la noche.
- Almacenar las soluciones de las muestras en botellas de polipropileno prelavadas (son extremadamente estables).
- Analizar las soluciones para metales traza mediante E. A. A. de llama o de horno de grafito.

**MÉTODOS EN OCEANOGRAFÍA II:  
PARTE QUÍMICA**

**PRÁCTICA N° 10**

**PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS  
ORGÁNICOS EN SEDIMENTOS. MATERIA ORGÁNICA FÁCILMENTE  
OXIDABLE**

## 1. INTRODUCCIÓN

La materia como carbono orgánico se determina para asegurar el papel jugado por la fracción orgánica de los sedimentos en el transporte, deposición y retención de los metales traza.

El contenido de carbono orgánico fácilmente oxidable se determina por el método de Walkey-Black (1947), adaptado y modificado por Jackson (1958). Este método utiliza calentamiento exotérmico y oxidación de la muestra con dicromato potásico y ácido sulfúrico concentrado, seguido por la valoración del exceso de dicromato con una solución de sulfato ferroso amónico 0,5 N hasta el punto final. Puede prevenirse la oxidación de los iones cloruro usando sulfato de plata en la mezcla de digestión.

## 2. MATERIAL Y REACTIVOS

- Bureta de 50 ml.
- Agitador magnético.
- Matraces erlenmeyer 500 ml.
- Ácido fosfórico 85%.
- Fluoruro sódico sólido.
- Ácido sulfúrico concentrado con sulfato de plata (disolver 2,5 g de sulfato de plata en 1 litro de ácido).
- Solución de dicromato potásico 1 N estándar (disolver 49,04 g de dicromato en agua y diluir a 1 litro).
- Solución ferrosa 05 N (disolver 196,1 g de sulfato ferroso amónico hexahidratado en 800 ml de agua que contengan 20 ml de ácido sulfúrico y diluir a 1 litro).
- Indicador de difenilamina (disolver 0,5 g de difenilamina en 20 ml de agua y 100 ml de ácido sulfúrico).

## 3. PROCEDIMIENTO

- Situar una muestra de sedimento de 0,5 g, seca y tamizada (tamiz de 200  $\mu\text{m}$ ) en un erlenmeyer de 500 ml.
- Añadir exactamente 10 ml de solución de dicromato potásico 1 N desde una bureta y 20 ml de ácido sulfúrico concentrado con sulfato de plata, y mezclar vigorosamente por rotación del matraz durante 1 minuto aproximadamente.

NOTA: Debería hacerse esto con cuidado, para asegurarse de la mezcla completa de los reactivos con el sedimento, mientras evitamos las salpicaduras del sedimento sobre las paredes del matraz, fuera del contacto con los reactivos.

- Dejar en reposo la mezcla durante 30 minutos.
- Tratar de la misma forma un blanco de estandarización sin sedimentos, con cada nuevo lote de muestras.
- Después de los 30 minutos, añadir 200 ml de agua destilada, 10 ml de ácido fosfórico al 85% y 0,2 g de fluoruro sódico.
- Añadir 15 gotas (0,5 ml) del indicador de difenilamina al matraz con la muestra.
- Valorar la solución con la disolución de sulfato ferroso amónico 0,5 N, hasta alcanzar el punto final (verde brillante).

NOTA: El color de la solución variará de una verde-marrón opaco, a un verde tras la adición de aproximadamente 10 ml de solución ferrosa. El color continuará cambiando con la valoración a un gris oscuro azulado. En este punto, la adición de 10 – 20 gotas de solución ferrosa cambiará el color a verde brillante indicando el punto final de la valoración.

#### 4. CÁLCULO DE RESULTADOS

$$\% \text{ de Materia Orgánica} = 10 \cdot (1 - T/S) \cdot F$$

S = valoración del blanco de estandarización (ml de solución ferrosa).

T = valoración de la muestra (ml de solución ferrosa).

F = factor derivado:

$$F = (1,0 \text{ N}) \cdot \frac{12}{4000} \cdot 1,72 \cdot \frac{100}{\text{peso muestra}} = 1,03 \text{ (cuando el peso de la m. es 0,5 g)}$$

donde 12/4000 = meq de peso de carbono y 1,72 es un factor para el carbono de la materia orgánica.

NOTA: en la valoración, la solución ferrosa reduce el dicromato que no ha reaccionado en el proceso previo de oxidación. Por lo tanto, si se necesita menos de 4 ml de solución ferrosa para alcanzar el punto final, entonces más de 8 ml de los 10 ml de dicromato disponibles han sido consumidos en la oxidación. Si éste es el caso, entonces es necesario repetir la determinación usando menos sedimentos.

**5. ESTANDARIZACIÓN DE LAS DETERMINACIONES DE CARBONO ORGÁNICO**

Se usa dextrosa ( $C_6H_{12}O_6$ ) como estándar. Contiene alrededor de un 39,99% de carbono.

- Pesarse exactamente 0,01 g de dextrosa y tratarlo de la misma manera que a la muestra de sedimento.
- El carbono en la dextrosa se calcula como sigue:  
 $\% C = 10 \cdot (1 - T/S) \cdot F$

$$F = (1,0 N) \cdot \frac{12}{4000} \cdot \frac{100}{\text{peso muestra}} = 30 \text{ (para 0,01 g de dextrosa)}$$

El valor teórico es 39,99% en 1 g de dextrosa.

Tras la estandarización con dextrosa se recomienda usar y analizar, repitiendo la estandarización, una muestra bien homogeneizada en lugar de la dextrosa.



**MÉTODOS EN OCEANOGRAFÍA II:  
PARTE QUÍMICA**

**PRÁCTICA N° 11**

**PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y EXTRACCIÓN DE METALES EN  
ORGANISMOS**

## 1. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Se muestreará el material biológico en estaciones de muestreo que hayan sido establecidas previamente en la fase del diseño del muestreo. Deberán tomarse un mínimo de tres replicados de muestras de cada estación, utilizando un mínimo de 10 individuos por cada replicado.

Tras la recolección de los individuos se procederá a establecer su talla y su peso, para a continuación diseccionar sus partes blandas con un bisturí de acero inoxidable o de teflón, debidamente limpios. Dichas partes serán introducidas en recipientes plásticos etiquetados, limpiados previamente para evitar contaminaciones, con el fin de poder almacenarlos hasta el día de su análisis. Tratar de congelar las muestras lo antes posible.

## 2. PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y EXTRACCIÓN DE METALES

### 2.1 Material y Reactivos

- Vasos de descomposición de teflón.
- Frascos volumétricos de polipropileno (100 ml).
- Botellas de polipropileno.
- Probetas de polipropileno.
- Embudos de polipropileno.
- Agitador mecánico.
- Mortero de ágata o teflón.
- Balanza analítica.
- Estufa para secado.
- Ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>).
- Ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>, 70%).
- Agua desionizada.

### 2.2 Procedimiento

- Descongelar las muestras biológicas al aire .
- Introducir en un frasco de teflón y secar completamente en estufa a 105°C durante al menos 24 horas.
- Tras dejar enfriar en un desecador, proceder a triturar y homogeneizar la muestra seca en un mortero de ágata o teflón.
- Pesar exactamente 0,3 – 0,5 g de muestra biológica homogeneizada, y transferir a un frasco de descomposición de teflón.
- Añadir 4 ml de ácido nítrico y 2 ml de ácido perclórico.
- Cerrar herméticamente el frasco y calentar durante una hora como mínimo. Sacar el frasco de descomposición de la fuente de calor y enfriarla hasta temperatura ambiente en agua fría o en un baño de hielo.

- Sacar el frasco de descomposición del agua de enfriamiento y secarla cuidadosamente. Abrirlo, asegurándose de eliminar cualquier resto de agua que se encuentre en su exterior, y transferir su contenido al matraz volumétrico.
- Enjuagar el frasco de descomposición varias veces con agua desionizada y añadir los enjuagues al matraz. Enrasar a 100 ml con agua.
- Almacenar las soluciones de las muestras en botellas de polipropileno prelavadas (son extremadamente estables).
- Analizar las soluciones para metales traza mediante E. A. A. de horno de grafito.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. **AENOR. *Calidad del Agua***. Medio Ambiente – Tomo 1. Recopilación Normas UNE.
2. Hansen, H. P. y Koroleff, F. (1999). ***Determination of Nutrients in Methods of Seawater Analysis***. Eds. Grashoff, K. and Ehrhardt, M. Germany.
3. Santana Casiano, J.M y M. González Dávila (2002). ***Manual de Prácticas de Oceanografía Química***. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.
4. Loring, D. H. y Rantala, R. T. T. (1992). ***Manual for the Geochemical Analyses of Marine Sediments and Suspended Particulate Matter***. Earth-Science Reviews, 32, pp. 235-283.
5. ***Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales***. Varios Autores (1992). Ed. APHA – AWWA – WPCF.
6. Bruland, K. W., R. P. Franks, G. A. Knauer y J. H. Martin (1979). ***Sampling and Analytical Methods for the Determination of Copper, Cadmium, Zinc and Nickel at the Nanogram per Liter Level in Sea Water***, . Analytica Chimica Acta, 105, pp. 233-245.