

PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS PARTICULARES PARA LA CONTRATACIÓN DEL SERVICIO DE ANALÍTICA CONVENCIONAL Y DE ANALITICA MULTI-ISOTOPICA, INTERPRETACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FUENTES DE CONTAMINACIÓN POR NITRATOS EN MUESTRAS DE AGUAS SUBTERRANEAS Y SUPERFICIALES , EN EL MARCO DEL PLAN DE RECUPERACIÓN, TRANSFORMACION Y RESILIENCIA , FINANCIADO POR LA UNION EUROPEA – NEXTGENERATIONEU,A ADJUDICAR POR PROCEDIMIENTO SUJETO A REGULACIÓN ARMONIZADA.

REF: TEC00005849



**Financiado por
la Unión Europea**
NextGenerationEU

1. Descripción de los trabajos

El presente Pliego tiene por objeto la contratación, por Tecnologías y Servicios Agrarios, S.A., S.M.E., M.P. (en lo sucesivo Tragsatec) de los trabajos de SERVICIO DE ANALITICA CONVENCIONAL Y DE ANALITICA MULTISOTOPICA, INTERPRETACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FUENTES DE CONTAMINACIÓN POR NITRATOS EN MUESTRAS DE AGUAS SUBTERRANEAS Y SUPERFICIALES.

Los trabajos recogidos en la presente licitación forman parte de un conjunto de actuaciones incluidas entre las medidas que desarrollan el Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia (PRTR) y financiadas con cargo al mismo.

A través de los instrumentos que se establecieron en la Directiva 91/676/CEE, de 12 de diciembre de 1991, relativa a la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos utilizados en la agricultura, y de la normativa nacional que la transpuso, se perseguía reducir la entrada de excedentes de nitrato a los medios acuáticos por la actividad agrícola y ganadera.

Desde la entrada en vigor de esta directiva, la tendencia en la concentración de este ion en aguas



tanto continentales, superficiales y subterráneas, como en aguas costeras y de transición ha aumentado muy notablemente de forma general a pesar de las medidas de gestión que llevaba aparejada esta normativa.

En el diseño de estas medidas de gestión, incluidas tanto en los programas de medidas de los planes hidrológicos de la DMA, como en los programas de acción y códigos de buenas prácticas de la directiva de nitratos, es crucial discriminar el origen del contaminante y la contribución relativa de las fuentes puntuales y difusas. En este contexto cobran especial relevancia los estudios basados en la caracterización multi-isotópica de diferentes trazadores (nitratos, sulfatos, boro y agua), que permiten discernir entre las diferentes fuentes de contaminación por nitratos e identificar procesos de nitrificación o desnitrificación.

Desde el Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITECO), se ha encargado a Tragsatec la realización de los trabajos “CARACTERIZACIÓN DE LAS FUENTES DE CONTAMINACIÓN DE LAS AGUAS EN ZONAS VULNERABLES Y SENSIBLES MEDIANTE TÉCNICAS MULTISOTÓPICAS”. Dentro de los mismos, Tragsatec requiere la colaboración en la realización de los siguientes análisis en muestras de agua tomadas en diversas zonas y por todo el territorio español:

El número máximo de muestras de agua será de 1.500 y los análisis a realizar serán los siguientes:

LOTE 1:

- 1.500 analíticas convencionales de macroconstituyentes en muestras de aguas.

LOTE 2:

- **Analíticas multi-isotópicas en 1.500 muestras de agua y que incluye:**
 - o Analíticas isotópicas del ión nitrato: $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ y $\delta^{18}\text{O-NO}_3^-$ en la totalidad de las muestras de agua, 1.500 analíticas.
 - o Analíticas isotópicas de la molécula de agua: $\delta^2\text{H-H}_2\text{O}$ y $\delta^{18}\text{O-H}_2\text{O}$ en un mínimo del 10% de las muestras, 150 analíticas.
 - o Analíticas isotópicas de $\delta^{11}\text{B}$ del boro disuelto en agua, siempre que sea necesario y

en un mínimo del 50% de las muestras, 750 analíticas.

- Analíticas isotópicas de $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ y $\delta^{18}\text{O-SO}_4^{2-}$, siempre que sea necesario y en un mínimo del 50% de las muestras, 750 analíticas.
- Informe de caracterización de las fuentes de contaminación por zonas.
- Soporte científico-técnico de los resultados obtenidos.

Sobre la totalidad de las muestras tomadas se realizará una analítica multi-isotópica. Numerosos estudios corroboran la utilidad de los isótopos estables de elementos como el N, C y S como trazadores de las fuentes de contaminación (CLARK et al., 1997). En el caso de los nitratos, debido a que las fuentes naturales y antrópicas presentan composiciones isotópicas diferentes, es posible distinguir la procedencia de los nitratos conociendo las marcas isotópicas de las fuentes de contaminación (ARAVENA et al., 1998). En este sentido, la determinación multisotópica se basa en analizar la composición isotópica de los nitratos disueltos en el agua ($\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ y $\delta^{18}\text{O-NO}_3^-$) de todas las muestras, puesto que en muchas ocasiones, esta determinación permite discriminar si la procedencia del nitrógeno son los fertilizantes minerales o no. Por ello, esta determinación habrá de realizarse en todas las muestras.

El análisis isotópico de nitratos disueltos en agua se realizará mediante el método de reducción química por cadmio. Este método permite analizar la composición isotópica de diferentes especies nitrogenadas disueltas en agua (nitrato, nitrito y amonio) tanto en aguas salinas como no salinas, y en concentraciones relativamente bajas (> 3 mg/L).

Si la determinación isotópica de N y O del nitrato disuelto indica claramente que se trata de nitrato procedente de fertilizantes sintéticos, no es necesario realizar la determinación isotópica del boro ($\delta^{11}\text{B}$), ni del azufre y oxígeno de la molécula sulfato disuelto en agua ($\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ y $\delta^{18}\text{O-SO}_4^{2-}$). En el caso de que la determinación isotópica del nitrato genere dudas o indique un origen orgánico, se procederá a la determinación isotópica del boro, así como del S y O del sulfato disuelto para discriminar entre un origen humano o animal de la muestra. Primero se analizará la composición isotópica del boro y si este no fuera concluyente, posteriormente se medirá la $\delta^{34}\text{S}$ y $\delta^{18}\text{O}$ del sulfato. Estas determinaciones isotópicas del boro y el sulfato se realizarán en los casos necesarios, pero siempre como mínimo en un 50% de las muestras en las que se realice la determinación isotópica del ión nitrato.

Para completar esta analítica multi-isotópica en algunas muestras además será necesario realizar análisis isotópicos de hidrógeno y oxígeno de la molécula de agua ($\delta^2\text{H-H}_2\text{O}$ y $\delta^{18}\text{O-H}_2\text{O}$) para confirmar la procedencia del nitrato en la masa de agua analizada. Como mínimo se realizará en un 10% de las muestras en las que se realice la determinación isotópica del ión nitrato.

El número de muestras máximo en las que realizar analíticas multisotópicas es de 1.500 unidades. El número de análisis isotópicos son aproximados en los casos del boro (750 analíticas) y el sulfato (750 analíticas): en función de los resultados de los isótopos del ión nitrato podrá variar el número de determinación isotópica del boro ($\delta^{11}\text{B}$) y del sulfato disuelto en agua ($\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ y $\delta^{18}\text{O-SO}_4^{2-}$), pero siempre habrá que realizarlos en un mínimo del 50% de las muestras.

El objeto de este contrato abarca los siguientes lotes y fases:

LOTE 1: ANALÍTICA CONVENCIONAL DE LAS MUESTRAS

A) Determinación de macroconstituyentes en las muestras de agua:

Se realizará el análisis de compuestos nitrogenados (nitrato, nitrito, amonio y nitrógeno total), sulfatos, fosfatos, cloruros, carbonatos y fósforo, junto con los parámetros fisicoquímicos en muestras de aguas subterráneas y de aguas superficiales.

A continuación se detallan los parámetros a analizar:

- *Conductividad (a 20°C) ($\mu\text{S/cm}$)*
- *Ph*
- *Ca (mg/L)*
- *Mg (mg/L)*
- *K (mg/L)*
- *Na (mg/L)*
- *Nitratos (mg/L)*
- *Nitritos (mg/L)*
- *Amonio (mg/L)*
- *N Total (mg/L)*
- *Sulfatos (mg/L)*
- *Fosfatos (mg/L)*
- *Cloruros (mg/L)*
- *Carbonatos (mg/L)*

- *Fósforo total ($\mu\text{g/L}$)*
- *Boro (mg/L)*

El número máximo de muestras a analizar es de 1.500 unidades.

En todas las unidades se analizarán los parámetros anteriores y en un máximo del 30% de las muestras será necesario realizar el análisis del parámetro Clorofila. En la oferta se deberá incluir el análisis de este parámetro y su precio, teniendo en cuenta el porcentaje de muestras señaladas.

Con el objeto de asegurar la calidad analítica de datos resultantes de los análisis a realizar, el ofertante que efectúe estos trabajos deberá estar acreditado para la realización de ensayos/análisis de aguas continentales superficiales, aguas continentales subterráneas conforme a la norma UNE-EN ISO/IEC 17025, por la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC) u otras entidades de acreditación de cualquier Estado miembro de la Unión Europea, siempre que dichos organismos se hayan sometido con éxito al sistema de evaluación por pares previsto en el Reglamento (CE) n.º 765/2008, de 9 de julio de 2008.

Estas acreditaciones podrán ser solicitadas por Tragsatec para su verificación.

En la oferta, se debe incluir las tablas con la información en cuanto a la metodología a aplicar para el análisis de cada parámetro y norma de calidad bajo la que se asegure la calidad analítica del resultado.

TRAGSATEC acordará con el adjudicatario el calendario de entrega de las muestras para la realización de los análisis. Los trabajos se realizarán en una única fase con un muestreo en campo por todo el territorio nacional que durará aproximadamente de 8 a 10 meses, con envíos diarios al laboratorio.

El transporte de las muestras al laboratorio correrá a cargo de TRAGSATEC siempre que se encuentre dentro del territorio nacional. Si el laboratorio se encuentra fuera de España, el oferente deberá indicar un centro de recogida de las muestras en una de las principales ciudades españolas, y a partir de este centro el oferente asumirá los costes de transporte, custodiará las muestras y se asegurará de mantener la calidad y condiciones térmicas (refrigeradas a 4°C) de las mismas, recomendando que no transcurran más de 24 horas desde la toma de muestra hasta su recepción en

las instalaciones del laboratorio, manteniéndose en refrigeración.

El laboratorio deberá contar con una capacidad demostrable de acogida y almacenamiento en condiciones idóneas hasta su analítica para todas las muestras que sean necesarias.

Las determinaciones deberán finalizarse transcurridos 15 días naturales desde la entrega de las muestras, a excepción del parámetro Clorofila que se podrá entregar en un plazo máximo de 20 días naturales, debiendo remitir los resultados de estas analíticas en dicho plazo a contar desde la fecha de entrega registrada por TRAGSATEC.

LOTE 2: ANALÍTICA MULTISOTÓPICA DE LAS MUESTRAS

B) Determinación analítica de la relación isotópica $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ y $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ y relación isotópica $\delta^2\text{H}$ y $\delta^{18}\text{O}$ en muestras de agua.:

Se realizarán análisis para determinar la relación que existe entre los dos isótopos estables del nitrógeno, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ y los dos isótopos del oxígeno, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, en nitrato disuelto en muestras de agua subterránea y agua superficial, procedentes de diversas zonas de España.

Con la finalidad de poder realizar estas medidas isotópicas sobre matrices acuosas muy diversas, con aguas con salinidad variable, localmente con concentraciones elevadas de cloruro, sulfato, etc o aguas poco salinas, se exige utilizar una metodología analítica específica. Por tanto los análisis del NO_3^- disuelto se realizarán mediante el método “Chemical Conversion of Nitrate and Nitrite to Nitrous Oxide for Nitrogen and Oxygen Isotopic Analysis in Freshwater and Seawater” propuesto por McIlvin y Altabet en 2005 en la revista Analytical Chemistry (vol. 77, pp. 5589-5595). Este método se basa en la reducción del nitrato a $\text{N}_2\text{O}(\text{g})$ mediante Cd y su ulterior preconcentración mediante un sistema de purificación de gases conectado a un IRMS, para una vez concentrado realizar la medida de la relación isotópica del $^{18}\text{O}-\text{N}_2\text{O}$ y $^{15}\text{N}-\text{N}_2\text{O}$. En el caso de presencia de nitrito y/o amonio, este será eliminado previamente para evitar la interferencia de este compuesto en la medida isotópica del nitrato.

Las muestras se deben procesar por duplicado y en cada serie de muestra se deben incluir patrones internacionales (USGS-34 y USGS-35) e internos, con una proporción mínima de cada 10 muestras una tanda de patrones también por duplicado. Los patrones se deberán procesar siguiendo el mismo

procedimiento que las muestras, según el principio de idéntico tratamiento descrito en el trabajo “Referencing strategies and techniques in stable isotope ratio analysis” en la revista Rapid Communications in Mass Spectrometry (vol. 15, pp. 501-519) por Werner y Brand en 2001.

Durante esta fase de trabajo, se realizará la determinación analítica de la relación isotópica $\delta^2\text{H}$ y $\delta^{18}\text{O}$ en la molécula agua, a seleccionar en función del criterio del laboratorio y con el fin de completar la analítica isotópica del nitrato.

Esta analítica isotópica **de $\delta^2\text{H}$ y $\delta^{18}\text{O}$ en la molécula agua** se realizará en un mínimo del 10% de las muestras para caracterizar las aguas analizadas, contando para la selección de estas muestras con la colaboración de TRAGSATEC y en función de la distribución de los puntos muestreados.

El número y tipo de muestras líquidas que se analizarán es el siguiente:

- Analíticas isotópicas del ión nitrato : $\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3^-$ y $\delta^{18}\text{O}-\text{NO}_3^-$ en la totalidad de las muestras de agua, 1.500 analíticas.
- Analíticas isotópicas de la molécula de agua: $\delta^2\text{H}-\text{H}_2\text{O}$ y $\delta^{18}\text{O}-\text{H}_2\text{O}$ en un mínimo del 10% de las muestras, 150 analíticas.

TRAGSATEC acordará con el adjudicatario el calendario de entrega de las muestras para la realización de los análisis. Los trabajos se realizarán en una única fase con un muestreo en campo por todo el territorio nacional que durará aproximadamente de 8 a 10 meses, con envíos diarios al laboratorio.

El transporte de las muestras al laboratorio correrá a cargo de TRAGSATEC siempre que se encuentre dentro del territorio nacional. Si el laboratorio se encuentra fuera de España, el oferente deberá indicar un centro de recogida de las muestras en una de las principales ciudades españolas, y a partir de este centro el oferente asumirá los costes de transporte, custodiará las muestras y se asegurará de mantener la calidad y condiciones térmicas (refrigeradas a 4°C) de las mismas, de manera que no trascurran más de 48 horas desde la toma de la muestra hasta su recepción en las instalaciones del laboratorio, manteniéndose en refrigeración.

El laboratorio deberá contar con una capacidad demostrable de acogida y almacenamiento en condiciones idóneas hasta su analítica para todas las muestras que sean necesarias.

Esta fase deberá finalizarse en cada una de las muestras transcurridos 60 días naturales desde la entrega de las muestras y envío de los resultados de la analítica convencional por parte de TRAGSATEC, necesarios para iniciar los análisis isotópicos de las muestras recibidas. Se deberán remitir los resultados de estas analíticas en dicho plazo a contar desde el día siguiente a la fecha de envío desde TRAGSATEC de los resultados de la analítica convencional.

C) Determinación analítica de las composiciones isotópicas de S y O del sulfato disuelto ($\delta^{34}\text{S}$, $\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$) y de boro disuelto ($\delta^{11}\text{B}$) en las muestras de agua:

Una vez analizados los resultados del isótopo de nitrato, que permitirá discernir entre origen inorgánico y orgánico, el adjudicatario deberá realizar estas nuevas determinaciones multi-isotópicas en aquellas muestras que presenten dudas o un posible origen orgánico con el fin de discernir entre fuentes de contaminación ganaderas o urbanas, así como la determinación de posibles procesos de desnitrificación.

Será necesario determinar las relaciones isotópicas de $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ y $\delta^{18}\text{O-SO}_4^{2-}$ en aquellas muestras que lo requieran y **como mínimo en un 50% de las muestras**, cada una de ellas seleccionadas de entre las 1.500 muestras líquidas anteriores en función de los resultados de la analítica de la composición isotópica de N y O de nitrato. Para ello el laboratorio deberá haber procesado la totalidad de las muestras para su conservación en condiciones idóneas para la realización de estas determinaciones, en caso necesario.

Respecto a las determinaciones de $\delta^{11}\text{B}$, al igual que en el caso anterior, será necesario realizarlas en aquellas muestras que lo requieran y **como mínimo en un 50% de las muestras**.

La determinación de $\delta^{11}\text{B}$ del boro disuelto y de $\delta^{34}\text{S}$ y $\delta^{18}\text{O}$ de la molécula de sulfato, se deberá realizar por métodos estándar. En el caso de la composición isotópica del sulfato, se deberá ser capaz de determinar esta relación isotópica en concentraciones bajas de hasta 15 mg/L de BaSO_4 en 1 L de agua.

Una vez obtenidos los resultados isotópicos de N y O del nitrato, se seleccionarán las muestras a analizar en esta fase. Se dispone de un plazo de 60 días naturales para realizar estas analíticas.

D) Elaboración y entrega de informe de resultados de la analítica multisotópica para cada una de las muestras analizadas:

Una vez realizadas las analíticas anteriores, el adjudicatario elaborará los siguientes informes:

- Informe de resultados analíticos de $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ y $\delta^{18}\text{O-NO}_3^-$ para cada muestra analizada. El modelo de informe debe incluir la información detallada en el apartado de especificaciones técnicas de este pliego técnico. Este informe deberá incluir además, las recomendaciones relativas a la realización de estudios multi-isotópicos indicando en qué muestras realizar la determinación de la composición isotópica de S y O del sulfato ($\delta^{34}\text{S}$, $\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$) y de B del boro ($\delta^{11}\text{B}$) disueltos. Este informe se deberá remitir en un plazo de 60 días naturales desde la entrega de las muestras y empezará a contar a partir del envío de los resultados de la analítica convencional por parte de TRAGSATEC,
- Informe de resultados analíticos de $\delta^{11}\text{B}$, $\delta^{34}\text{S}$ / $\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$ para cada muestra analizada. El modelo de informe debe incluir la información detallada en el apartado de especificaciones técnicas de este pliego técnico. Se dispone de un plazo de 60 días naturales, desde la entrega del informe de resultados analíticos de $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ y $\delta^{18}\text{O-NO}_3^-$, para entregar este informe de resultados analíticos.

E) Elaboración de informe final de caracterización de las zonas muestreadas:

El adjudicatario elaborará un informe final de conclusiones donde incluirá la interpretación de los resultados de los análisis multi-isotópicos de las muestras, agrupándolas por zonas de estudio. Este informe incluirá, para cada zona de estudio, las conclusiones sobre el origen de la contaminación por nitratos para cada muestra, y las conclusiones sobre la evolución temporal de la contaminación y la posible existencia de procesos de atenuación natural de la contaminación por nitratos.

Las zonas de estudio, se definirán de forma conjunta con Tragsatec, en base a la proximidad en la localización de los puntos de muestreo analizados o por la caracterización de las presiones o límites de las masas de aguas analizadas. Se estima que cada zona contendrá entre 25 y 30 puntos de muestreo.

Se dispone de un plazo de 30 días naturales, desde la entrega del último informe de resultados analíticos, para la elaboración y entrega de este informe final.

F) Resultados y soporte científico-técnico:

Siendo un trabajo con un matiz de investigación importante para la identificación de técnicas que permitan mejorar el cumplimiento de la Directiva de Nitratos, la empresa adjudicataria prestará todo el soporte científico-técnico necesario al MITECO y a la representación española en la Comisión Europea para intercambio en sus tareas de recopilar, compartir, intercalibrar enfoques, defender posturas e intercambiar mejores prácticas en el ámbito de los trabajos objeto de este Pliego.

El lote 2 del presente pliego se corresponde con la fase B hasta la fase F.

Las empresas pueden presentar oferta para uno de los lotes o para ambos lotes, teniendo en cuenta las especificaciones para cada uno de los lotes y los plazos que se manejan para el desarrollo de todos los trabajos.

2. Especificaciones técnicas

Los trabajos requeridos por Tragsatec para los lotes definidos son los que se describen a continuación, incluyen la recepción, preparación, análisis de muestras e informe de resultados:

LOTE 1: ANALÍTICA CONVENCIONAL DE LAS MUESTRAS

- El suministro de los envases correspondientes para la toma de muestras será a cargo de TRAGSATEC. El laboratorio indicará la metodología del procedimiento a seguir para una correcta toma de muestras y proporcionará estabilizadores en caso que fuese necesario. En caso de necesidad de reutilización de envases, el laboratorio realizará el lavado y entrega de los mismos al personal de Tragsatec. Una vez realizado el análisis, los envases quedarán en poder de TRAGSATEC.
- Las muestras se entregarán por parte de TRAGSATEC, refrigeradas entre 2º y 5º C de temperatura, en el propio laboratorio o se enviará vía paquetería cualquier día de lunes a jueves. El laboratorio devolverá a TRAGSATEC las neveras en las que han sido transportadas las muestras para mantenerlas refrigeradas.
- Cada bote será entregado debidamente etiquetado con los datos:
 - Código de identificación de la muestra
 - Fecha y hora de la toma de muestra

- Lugar del muestreo
- Origen de la muestra: superficial o subterránea

- Se entregará la correspondiente hoja de cadena de custodia para que sea debidamente seguida y cumplimentada por el laboratorio durante todo el proceso hasta su entrega a TRAGSATEC junto con el boletín de ensayo correspondiente.

- Elaboración y entrega por el laboratorio del boletín de ensayo debidamente cumplimentado, firmado y sellado (también en formato digital) junto con el original de la cadena de custodia cumplimentada.

Cada informe de ensayo deberá contener como mínimo los siguientes datos:

- Solicitante: TRAGSATEC
- Código de identificación de la muestra
- Tipo de determinación realizada
- Fecha y hora de la recepción de la muestra
- Fecha y hora del inicio del análisis
- Fecha y hora del final de análisis
- Tipo de envase
- Tipo de muestra (agua superficial o subterránea)
- Método de ensayo utilizado para cada parámetro analizado
- Resultado obtenido para cada parámetro, con sus unidades correspondientes
- Identificación de si la cantidad se considera detectada, no detectada, o detectada no cuantificada.
- Identificación del límite de cuantificación del método analítico utilizado para la determinación
- Cualquier hecho especial observado en el curso del análisis y cualquier operación no especificada en el método o considerada como optativa, que pudiera haber modificado los resultados
- Fecha del boletín de ensayo
- Firma y sello

- Los resultados de las determinaciones se deberán proporcionar en formato digital, además de formato editable (.txt, .mdb, o .xls) o en su defecto, disponer de página web con clave de acceso para autorizados de Tragsatec.

LOTE 2: ANALÍTICA ISOTÓPICA DE LAS MUESTRAS

TRAGSATEC enviará las muestras al laboratorio, en varias alícuotas según el tipo de analítica isotópica a realizar.

- El suministro de los envases correspondientes para la toma de muestras será a cargo de TRAGSATEC. El laboratorio indicará la metodología del procedimiento a seguir para una correcta toma de muestras y proporcionará estabilizadores en caso que fuese necesario. En caso de necesidad de reutilización de envases, el laboratorio realizará el lavado y entrega de los mismos al personal de TRAGSATEC. Una vez realizado el análisis, los envases quedarán en poder de TRAGSATEC.
- Las muestras se entregarán por parte de TRAGSATEC, refrigeradas entre 2º y 5º C de temperatura, en el propio laboratorio o se enviará vía paquetería cualquier día de lunes a jueves. El laboratorio devolverá a TRAGSATEC las neveras en las que han sido transportadas las muestras para mantenerlas refrigeradas.
- En un periodo inferior a las 12 h de la llegada de las muestras al laboratorio se efectuará la preparación de las alícuotas necesarias para realizar las mediciones isotópicas de nitrógeno y oxígeno de la molécula de nitrato, de azufre y oxígeno de la molécula de sulfato disuelto y de boro del boro disuelto.

Determinación analítica relación isotópica $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ y $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ en muestras de agua:

- Las muestras para la medida isotópica de la molécula de nitrato disuelto deben estar filtradas a 0,2 μm de tamaño de poro y preservadas de forma congelada, en un periodo inferior a las 12 h de la llegada de las muestras al laboratorio. El volumen mínimo aconsejado es de 20 ml repartidos equitativamente en dos alícuotas. Únicamente se empleará una alícuota para la medida de la composición isotópica de la molécula de nitrato disuelto. La otra alícuota se almacenará en congeladores de alta capacidad de almacenaje y con llave de cierre para su custodia.
- Método analítico:
Se utilizará el método "Chemical Conversion of Nitrate and Nitrite to Nitrous Oxide for

Nitrogen and Oxygen Isotopic Analysis in Freshwater and Seawater” propuesto por McIlvin y Altabet en 2005 en la revista Analytical Chemistry (vol. 77, pp. 5589-5595). Este método se basa en la reducción del nitrato a N_2O (g) mediante Cd y su ulterior preconcentración mediante un sistema de purificación de gases conectado a un IRMS, para una vez concentrado realizar la medida de la relación isotópica del $^{18}O - N_2O$ y $^{15}N - N_2O$. En el caso de presencia de nitrito y/o amonio, este será eliminado previamente para evitar la interferencia de este compuesto en la medida isotópica del nitrato.

○ Expresión de resultados:

$\delta^{15}N_{NO_3}$: Los resultados analíticos se presentarán de acuerdo con los protocolos internacionales de la IAEA referenciados al estándar internacional V-AIR. Para cada análisis isotópico se aportará la precisión analítica del resultado, calculada como la desviación estándar de las réplicas.

$\delta^{18}O_{NO_3}$: Los resultados analíticos se presentarán de acuerdo con los protocolos internacionales de la IAEA referenciados al estándar internacional V-SMOW. Para cada análisis isotópico se aportará la precisión analítica del resultado, calculada como la desviación estándar de las réplicas.

○ Especificaciones de calidad analítica: Se deberán cumplir como mínimo las siguientes especificaciones:

○ Incertidumbre del método analítico: $\delta^{18}O_{N_2O}: \pm 1,5\text{‰}$; $\delta^{15}N_{N_2O}: \pm 1,0\text{‰}$

- Límite de detección: $< 3\text{mg/L}$

- Patrones internacionales: se deberán emplear como mínimo 4 patrones, de los cuales 3 ó 4 deberán ser internacionales (ej., USGS-32, USGS-34, USGS-35), y patrones internos de laboratorio previamente calibrados con patrones internacionales. Los patrones deben cubrir un rango isotópico de $\delta^{15}N$ y de $\delta^{18}O$ suficientemente amplio para que las muestras presenten composiciones isotópicas comprendidas entre los valores de los patrones extremos de acuerdo con las recomendaciones de la IAEA (Coplen, 2011). En el caso de que una muestra presente una composición isotópica superior o inferior a los valores isotópicos de los patrones, esta deberá ser repetida incluyendo patrones de composición isotópica más ligera o pesada,

- Relación patrones/muestra: 4 patrones cada 10 muestras.

- Réplicas: Tanto la preparación de las muestras como el análisis isotópico se realizará por duplicado. En el caso de que la desviación estándar entre las réplicas sea superior a 1,0 ‰ para $\delta^{15}N_{NO_3}$ y/o superior a 1,5 ‰ para $\delta^{18}O_{NO_3}$, se deberá repetir la muestra por

quaduplicado.

Determinación analítica relación isotópica $\delta^2\text{H}$ y $\delta^{18}\text{O}$ en muestras de agua

- o Método analítico: en función de la salinidad de la muestra, se recomienda utilizar uno de los siguientes métodos:
 - Salinidad < 10.000 $\mu\text{S}/\text{Cm}$: Método de espectroscopia láser “Cavity Ring-Down Spectroscopy-CRDS” o Método de pirolisis acoplado a espectrometría de masas de relaciones isotópicas (TC-IRMS).
 - Salinidad alta > 10.000 $\mu\text{S}/\text{Cm}$: Método de pirolisis acoplado a espectrometría de masas de relaciones isotópicas (TC-IRMS).
- o Expresión de resultados:

Los resultados se presentarán de acuerdo con los protocolos internacionales de la IAEA referenciados al estándar internacional V-SMOW.

Para cada análisis isotópico se aportará la precisión analítica del resultado, calculada como la desviación estándar de las réplicas.
- o Especificaciones de calidad analítica: Se deberán cumplir como mínimo las siguientes especificaciones:
 - Incertidumbre del método analítico: CRDS: $\delta^{18}\text{O}$: $\pm 0,2\text{‰}$; $\delta^2\text{H}\text{‰}$: $\pm 0,8$; TC-IRMS: $\delta^{18}\text{O}$: $\pm 0,5\text{‰}$; $\delta^2\text{H}$: $\pm 1,5\text{‰}$
 - Patrones internacionales: USGS-46, USGS-47, USGS-48 y USGS-50.
 - Relación patrones/muestras: CRDS: 4 patrones cada 7 muestras (8 inyecciones por cada muestra o patron); TC-IRMS: 3 patrones cada 7 muestras.

En el caso de que una muestra presente una composición isotópica superior o inferior a los valores isotópicos de los patrones, esta deberá ser repetida incluyendo patrones de composición isotópica más ligera o pesada.

 - Réplicas: CRDS: 8 inyecciones por muestra; TC-IRMS: 3 réplicas por muestra.

Determinación analítica de las composiciones isotópicas de S y O del sulfato disuelto ($\delta^{34}\text{S}-\text{SO}_4^{2-}$ y $\delta^{18}\text{O}-\text{SO}_4^{2-}$) en las muestras de agua:

- o Conservación y preparación de las muestras:

Las muestras deben estar filtradas a 0,45 μm de tamaño de poro y preservadas a 4°C, en un periodo inferior a las 12 h de la llegada de las muestras al laboratorio. El volumen de agua necesario para la medida isotópica de oxígeno y azufre del sulfato disuelto será de 1 L como máximo. Los recipientes deben llenarse en su totalidad, para evitar la acumulación de aire en el espacio de cabeza del recipiente. Las muestras se almacenarán en frigoríficos de alta capacidad de almacenaje a 4°C y con llave de cierre hasta su posterior análisis. Si al realizar el procedimiento de preparación de la muestra de agua para el análisis de la composición isotópica del sulfato disuelto sobra agua, ésta será almacenada en recipientes de HDPE sin dejar espacio de cabeza para su guarda y custodia a 4°C.

○ Método analítico:

Se recomienda utilizar el método de precipitación del sulfato disuelto como BaSO_4 (Dogramaci et al., 2001). El BaSO_4 debe ser separado de la solución mediante un filtrado a 0,45 μm y secado en una estufa a 50 °C para eliminar toda la humedad. Previo al análisis isotópico de azufre y oxígeno del sulfato, las muestras deberán ser mufladas a 100°C para evitar interferencia con el oxígeno de la humedad de la muestra. La $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4}$ se analizará mediante analizador elemental acoplado en flujo continuo a un espectrómetro de masas de relaciones isotópicas (EA-IRMS) y el $\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$ con pirolizador acoplado en flujo continuo a un espectrómetro de masas de relaciones isotópicas (TC-IRMS.).

○ Expresión de resultados:

$\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4}$: Los resultados analíticos se presentarán de acuerdo con los protocolos internacionales de la IAEA referenciados al estándar internacional V-CDT.

$\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$: Los resultados analíticos se presentarán de acuerdo con los protocolos internacionales de la IAEA referenciados al estándar internacional V-SMOW. Para cada análisis isotópico se aportará la precisión analítica del resultado, calculada como la desviación estándar de las réplicas.

Especificaciones de calidad analítica: Se deberán cumplir como mínimo las siguientes especificaciones:

- Precisión del método analítico: $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4}$: $\pm 0,4$ ‰; $\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$: $\pm 0,7$ ‰.

- Límite de detección: 15 mg/L de BaSO_4 en 1 L de agua.

○ Patrones internacionales:

- $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4}$: se deberán emplear como mínimo 4 patrones, de los cuales 3 ó 4 deberán ser internacionales (ej., NBS-127, IAEA-SO-5 e IAEA-SO-6; Halas y Szaran, 2001), y patrones internos de laboratorio previamente calibrados internamente con patrones internacionales. En el caso de que una muestra presente una composición isotópica superior o inferior a los

valores isotópicos de los patrones, esta deberá ser repetida incluyendo patrones de composición isotópica más ligera o pesada.

- $\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$: se deberán emplear como mínimo 3 patrones, de los cuales 1 deberá ser internacional (NBS-127). En el caso de que una muestra presente una composición isotópica superior o inferior a los valores isotópicos de los patrones, esta deberá ser repetida incluyendo patrones de composición isotópica más ligera o pesada.

- Relación patrones/muestra: $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4}$: 4 Patrones cada 10 muestras; $\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$: 3 Patrones cada 6 muestras (por duplicado).

- Réplicas: $\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$: El análisis isotópico de muestras y patrones se realizará por duplicado.

Análisis para la medida isotópica de boro ($\delta^{11}\text{B}$) del boro disuelto

- Conservación y preparación de las muestras:

La preparación de las muestras previo a su análisis isotópico a nivel de traza se llevará a cabo en una sala blanca ultralimpia que presente las certificaciones de calidad ISO7 en sala y ISO5 en estaciones de trabajo. También será necesario un sistema de producción de agua ultrapura con filtro específico para eliminar el boro del agua.

Para la purificación de las muestras para el análisis isotópico del boro deben estar disueltas con ácido nítrico y se debe ajustar el pH de la solución a 7-8. El boro se debe purificar en columnas cromatográficas, previamente acondicionadas, de resina de amberlita.

- Método analítico:

Se recomienda el siguiente método analítico: el $\delta^{11}\text{B}$ se analizará mediante un Espectrómetro de Masas Multicolector con Plasma Acoplado Inductivamente (MC-ICP-MS) (Aggarwal et al., 2003), o mediante Espectrómetro de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente de Alta Resolución (HR-ICP-MS) siguiendo el método de Gäber y Bahr (1999).

- Expresión de resultados:

Los resultados analíticos se presentarán de acuerdo con los protocolos internacionales de la IAEA referenciados al estándar internacional NIST-951a (Catanzaro et al., 1970).

Para cada análisis isotópico se aportará la precisión analítica del resultado, calculada como la desviación estándar de cómo mínimo 40 medidas realizadas para cada muestra.

- Especificaciones de calidad analítica:

Se deberán cumplir como mínimo las siguientes especificaciones:

- Incertidumbre del método analítico: inferior a 1,2% (2σ).

- Límite de detección: 2 ng/mL (ppb) (para muestras con blanco de protocolo despreciable)

<1% boro total) o 8 ng/mL (para muestras con blanco de protocolo significativo >1% boro total).

- Patrones internacionales: NIST-951a.

-Relación patrones/muestra: debe utilizar el método “bracketing”, en el que se analiza el patrón (a una concentración de boro similar al de las muestras) antes y después de la medida de cada muestra. Para cada muestra y patrón se realizarán como mínimo 40 medidas.

-Réplicas: Tanto la preparación de las muestras como el análisis isotópico se realizará por duplicado en un 10% del total de muestras analizadas.

Elaboracion de informes de resultados analítica multisotópica para cada una de las muestras analizadas

Tras realizar las diferentes analíticas isotópicas y para el cumplimiento de la calidad se deberá presentar un informe exhaustivo de resultados analíticos que incluya:

1. Solicitante: TRAGSATEC
2. Código de identificación de la muestra
3. Tipo de determinación realizada
4. Fecha y hora de la recepción de la muestra
5. Procedimiento para la preparación de muestras de agua para el análisis multi-isotópico.
6. Técnica analítica y equipo empleado para cada analítica isotópica
7. Descripción de los patrones internacionales e internos de laboratorio empleados, indicando las referencias de los patrones internacionales, así como los valores teóricos de la composición isotópica para cada patrón.
8. Incertidumbre del método analítico.
9. Resultados analíticos. Se debe indicar: i) el rango isotópico de los patrones empleados; ii) cada cuantas muestras se han intercalado los patrones; iii) método de corrección de datos; iv) tabla con los resultados isotópicos previo a la corrección de las muestras y de los patrones en el orden que han sido medidos, los valores isotópicos de las muestras y los patrones una vez corregidos, promedio y desviación estándar de las réplicas analizadas; v) Para isótopos de N, O, S, e H: gráficas de las composiciones isotópicas experimentales y corregidas para cada tanda de muestras, en las que se visualice la proyección de las muestras y los patrones en la recta de calibrado.
10. En los informes analíticos se deberá indicar quiénes han redactado, revisado y validado el informe, junto con la fecha y firma digital del investigador responsable del proyecto con

una titulación de doctor con más de 20 años de experiencia en geoquímica isotópica de N, S, H, B y O aplicada a hidrogeología.

Los resultados de las determinaciones se deberán proporcionar en formato digital, además de formato editable (.txt, .mdb, o .xls) o en su defecto, disponer de página web con clave de acceso para autorizados de TRAGSATEC.

Elaboracion de informe final para caracterización de las fuentes de contaminación en las zonas muestreadas

Una vez finalizadas todas las analíticas isotópicas para el conjunto de las muestras, se presentará un informe final con los resultados obtenidos y la justificación de la analítica isotópica realizada en cada una de las muestras, junto con el posible origen de la contaminación por nitratos en cada una de ellas.

Para mejor comprensión de todos estos resultados se agruparán los datos isotópicos obtenidos en diferentes zonas de estudio, con un orden de magnitud estimado entre 25 a 30 puntos de muestreo para cada una de las zonas facilitando así la representación e interpretación de las conclusiones. Esta agrupación por zonas se realizará teniendo en cuenta la localización geográfica de los puntos de muestreo, la caracterización de las presiones, los límites de zonas vulnerables y/o zonas sensibles, límites de las masas de agua, etc. Esta agrupación por zonas deberá contar con las recomendaciones y orientaciones de TRAGSATEC.

El informe final de interpretación de resultados deberá contener la siguiente información para cada zona de estudio:

- Interpretación del origen de la contaminación para cada punto de muestreo
- Evolución temporal de la contaminación y evaluación de la presencia de atenuación natural de la contaminación por nitratos
- Resumen ejecutivo para cada zona

Este informe final deberá presentarse con fecha y firma digital de un responsable con una titulación de doctor con más de 10 años de experiencia en geoquímica isotópica.

Resultados y Soporte científico-técnico

A medida que se vayan obteniendo los resultados de los análisis isotópicos, la empresa adjudicataria los reportará al personal de TRAGSATEC en el formato digital que se indique e incluyendo la información especificada.

Además, en este archivo se indicarán todas las anomalías o comentarios en la recepción de la muestra o en el proceso de análisis que faciliten la interpretación de los resultados.

Estas metodologías presentadas para la detección y análisis podrán sufrir modificaciones y se deberán adaptar en función de los criterios que puedan surgir por indicaciones del Ministerio para la Transición Ecológica y Reto Demográfico o que provengan de recomendaciones europeas. Por lo tanto, estos cambios se deberán asumir y realizar por la empresa adjudicataria no suponiendo coste adicional alguno.

TRAGSATEC creará una plataforma de intercambio con el objeto de:

- Recoger los resultados de las actividades
- Publicar y actualizar periódicamente los métodos de muestreo y análisis
- Identificar las zonas y localizar los puntos de muestreo
- Caracterización de las presiones en las zonas muestreadas
- Resultados de las analíticas en cada uno de los puntos de muestreo

El MITECO creará un grupo de trabajo para dar seguimiento a los resultados de estos trabajos y que contará con la participación de personal de la Dirección General del Agua, Confederaciones Hidrográficas y Comunidades Autónomas, implicados desde hace años en actividades relacionadas con la Directiva de nitratos y en el reporting habitual de información a la Comisión Europea. Este grupo representa a España en la Comisión Europea en lo relativo a esta Directiva.

La empresa adjudicataria prestará todo el soporte científico-técnico necesario a este grupo y a la representación española en la Comisión Europea para intercambio en sus tareas de recopilar, compartir, intercalibrar enfoques, defender posturas e intercambiar mejores prácticas en el ámbito de los trabajos objeto de este Pliego. Por ello es necesario que la empresa adjudicataria disponga para estos trabajos de un grupo de técnicos con amplia experiencia y de un perfil de reconocido prestigio con altos conocimientos en materia de geoquímica isotópica aplicada a hidrogeología. El equipo de trabajo deberá ser dirigido por un responsable con una titulación de doctor con más de 10

años de experiencia en geoquímica isotópica aplicada a hidrogeología con una trayectoria profesional amplia en esta materia. Este soporte científico-técnico deberá prestarse en español, el responsable de los trabajos con titulación de doctor deberá ser nativo español o disponer de titulación con nivel C2 en lengua española.

Esta experiencia se deberá acreditar con un número de trabajos y publicaciones durante los últimos años en foros y revistas científicas de alto índice de impacto a nivel internacional.

Se deberá presentar una carta de compromiso por parte del responsable de los trabajos o doctor para asegurar la realización de este soporte científico-técnico.

Estas actividades de soporte científico-técnico, así como las de recepción y preparación de la muestra, la de entrega de resultados e informes, se entiende que estarán incluidas en el precio de las determinaciones mult isotópicas a realizar dentro del Lote 2.

No Se admite la presentación de variantes

Madrid a 12 de Septiembre de 2022