

# MEMORIA FINAL

**Evaluación de parámetros de control  
medioambiental en aguas de transición**

**Responsable principal: Juan Mora Pastor**

**Conselleria de Agricultura: Recursos hídricos en la Comunitat Valenciana**





## **ÍNDICE**

	<b><u>Página</u></b>
<b>1. Adecuación entre el proyecto propuesto y el resultado final</b>	<b>5</b>
<b>2. Planteamiento conceptual</b>	<b>6</b>
2.1. Aguas de transición	6
2.2. Indicadores de calidad para aguas de transición	7
2.3. Análisis de metales en muestras medioambientales	8
2.4. Objetivos de la investigación	10
<b>3. Planteamiento metodológico</b>	<b>11</b>
3.1. Reactivos	11
3.2. Instrumentación	12
3.3. Pretratamiento de la muestra	13
<b>4. Evaluación de los participantes del proyecto</b>	<b>33</b>
<b>5. Resultados del proyecto</b>	<b>39</b>
<b>7. Bibliografía</b>	<b>41</b>



## **1. Adecuación entre el proyecto propuesto y el resultado final**

Las aguas de transición son masas de agua parcialmente salinas próximas a las desembocaduras de los ríos y cuyo control ambiental está regulado por la Directiva Marco del Agua (Directiva 2013/39/UE) y el Real Decreto 817/2005. En la Comunidad Valenciana están identificadas como aguas de transición la desembocadura de los ríos Júcar y L'estany, y las salinas de Santa Pola y Calpe.

Hasta el momento, se ha realizado una evaluación exhaustiva del estado ecológico y químico de las aguas de transición en la desembocadura del Júcar y L'estany. Por lo que respecta a las aguas de transición de las salinas de Santa Pola y Calpe, se han realizado estudios sobre el estado ecológico pero no el químico. Se debe tener en cuenta que el contenido salino de estas masas de agua es muy elevado ( $200 \text{ g L}^{-1}$ ) y hace muy complicado los análisis a los niveles de concentración requeridos.

En este proyecto se han evaluado diferentes metodologías para determinar los metales regulados por el Real Decreto 817/2005 (Cd, Pb, Hg, Ni, As, Cu, Cr, Se, Zn) en aguas de transición con un contenido salino superior al 22 % (salmueras). Las técnicas empleadas han sido CVAAS con un analizador directo de Hg (sin reactivos químicos) e ICP-MS para el resto de metales ya que, son las técnicas que a priori ofrecen unos límites de detección adecuados a los establecidos por el Real Decreto 817/2005. Los resultados obtenidos muestran que, para la determinación de mercurio, es necesario utilizar algún tipo de pretratamiento sobre las muestras antes de realizar el análisis ya que los límites de detección alcanzados en este trabajo son superiores a los establecidos en la normativa. Por lo que respecta al resto de metales, la situación no es mucho mejor. Las salmueras tienen que ser diluidas antes de su análisis y, además, es necesario

el empleo de la célula de colisión y el modo HMI para matrices con un elevado contenido en sólidos en suspensión. Todo ello implica que los límites de detección no sean lo suficientemente bajos para cuantificar metales según las Normativas establecidas. Es necesario, por tanto, de algún tipo de pretratamiento para separar el analito de la matriz y, además, preconcentrarlo. Los resultados en este trabajo demuestran que se puede analizar los metales en salmueras de forma sencilla y rápida mediante Microextracción Dispersiva Líquido-Líquido. El empleo de esta metodología permite determinar los metales en las salmueras según las normativas vigentes.

## **2. Planteamiento conceptual**

### *2.1 Aguas de transición*

Las aguas de transición son masas de agua superficiales próximas a las desembocaduras de los ríos. Se trata de aguas parcialmente salinas como consecuencia de su proximidad a las aguas costeras, pero que reciben una notable influencia de los flujos de agua dulce. [1]

Tal y como indica la Directiva Marco del Agua (Directiva 2000/60/CE) y el Real Decreto 817/2005, de 11 de septiembre, cada país miembro de la Unión Europea debe garantizar la protección y la conservación del medio acuático (aguas superficiales continentales, aguas de transición, aguas costeras y aguas subterráneas). En España los recursos hídricos se encuentran agrupados en confederaciones hidrográficas las cuales son gestionadas por las diferentes comunidades autónomas. [1, 2] La Generalitat Valenciana, como administración competente, lleva a cabo la evaluación y el control, de manera periódica, de las

masas de agua enmarcadas dentro de la confederación hidrográfica del Júcar. Para ello desarrolla planes hidrológicos que recogen los programas de control diseñados para la evaluación del estado de las aguas y las medidas de prevención y vigilancia que deben aplicarse. Para la realización de dichos planes hidrográficos las masas de agua se clasifican en masas de agua subterránea y masas de agua superficiales. Estas últimas a su vez se dividen en: (i) ríos; (ii) lagos; (iii) aguas de transición; (iv) aguas costeras y (v) masas de agua muy modificadas y artificiales. [3 – 5]

Por lo que respecta a las aguas de transición en la confederación hidrográfica del Júcar, se han identificado como tal las siguientes masas de agua [5]:

- AT-T02: Estuario mediterráneo micromareal con cuña salina (Desembocadura del Júcar y L'Estany)
- AT-T07: Salinas (Calpe y Santa Pola)

## *2.2 Indicadores de calidad para aguas de transición*

Los indicadores empleados para la evaluación del estado de las aguas están establecidos en el Real Decreto 817/2015 y dependen del tipo de masa de agua. Por lo que concierne a las aguas de transición, los parámetros más relevantes son [5]:

### A. Estado ecológico

- a. Indicadores biológicos: (i) fitoplacton; (ii) angiospermas; (iii) macroinvertebrados bentónicos; y (iv) peces

- b. Elementos de calidad fisicoquímicos: (i) amonio; (ii) nitritos; (iii) nitratos; (iv) nitrógeno total; (v) fosfatos; (vi) fósforo total; e (iv) índice FAN

#### B. Estado Químico

- a. Sustancias orgánicas y metales recogidos en el anexo IV y V del Real Decreto 817/2015.

Hasta la fecha, en la Comunidad Valenciana, se han estudiado de forma detallada (estado ecológico y químico) las aguas de transición en la desembocadura del Júcar y de L'estany. Por otro lado, también se ha realizado un perfil ecológico de las salinas de Santa Pola y de Calpe. Sin embargo, no se disponen de datos a nivel químico para este último tipo de aguas. Se debe tener en cuenta que el agua de las salinas presenta un elevado contenido en sales (200 g/L) que dificulta mucho el análisis a nivel químico y hace prácticamente imposible que se puedan alcanzar los niveles de cuantificación exigidos para metales y compuestos orgánicos establecidos por el Real Decreto 817/2015 (Anexo III C.1). Por ello, la evaluación química de estas masas de agua se ha estado realizando por criterio de experto y se ha evaluado como bueno con una confianza baja al no tener datos reales [5].

#### *2.3 Análisis de metales en muestras medioambientales*

El análisis de metales en muestras medioambientales se realiza de forma mayoritaria mediante técnicas de Espectroscopía Atómica. Entre las diferentes técnicas Espectroscópicas se encuentran las de absorción atómica: (i) Espectroscopía de Absorción Atómica en Llama (FAAS), (ii) Espectroscopía de Absorción Atómica en Horno de Grafito (GFAAS), (iii) Espectroscopía de



Absorción Atómica mediante Generación de Hidruros (HGAAS) y (iv) Espectroscopía de Absorción Atómica de Vapor Frío (CVAAS). FAAS y GFAAS permiten analizar la mayoría de elementos; mientras que HGAAS se emplea para determinar especies que formen hidruros con facilidad (As, Sb, etc.) y, por su parte, CVAAS es específica para determinar Hg. En muchas aplicaciones, los límites de detección que proporcionan son suficientes para cuantificar los metales presentes en alimentos. Sin embargo, la principal limitación de estas técnicas es que son monoelementales, por lo que la velocidad de análisis es baja cuando se quieren cuantificar varios metales de forma simultánea. Por este motivo, cada vez se emplea con mayor profusión las técnicas de plasma: Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-AES) y Espectrometría de Masas acoplada a Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS), pues permiten realizar determinaciones multielementales, agilizando enormemente el proceso de análisis [6, 7].

Atendiendo a los límites establecidos por Real Decreto 817/2015 y al número de metales a cuantificar, la técnica de análisis ideal para aguas de transición sería ICP-MS. Sin embargo, el análisis de metales en este tipo de aguas no es fácil por el elevado contenido salino. Se debe tener en cuenta que las sales son una fuente de interferencias espectrales y no espectrales (efectos de matriz). [9, 10] El cloruro de sodio afecta negativamente a todos los procesos de excitación y ionización de los metales en el plasma. Además, puede provocar la obturación y deposición de sal en el interior del equipo (conos de la interfase de extracción y óptica iónica). Para evitar estos inconvenientes, el analista dispone de varias herramientas que simplifican el análisis. Así, por ejemplo, las interferencias espectrales debidas a especies poliatómicas se pueden eliminar

mediante el empleo de una célula de colisión/reacción. Las interferencias no espectrales (variación de la señal, baja precisión, obturaciones) se pueden minimizar utilizando el modo HMI (High Matrix Introduction kit) que diluye el aerosol antes de su introducción en el plasma. A pesar de que estas estrategias permiten realizar análisis de rutina, implican un deterioro de los límites de detección (alrededor de un orden de magnitud). Otra posible vía de actuación sería el empleo de sistemas de introducción de muestras alternativos (e.g. nebulizadores, atomización electrotérmica) pero implican cierto coste económico y no siempre están disponibles en todos los laboratorios de análisis. Por último, cabría la posibilidad de realizar un pretratamiento de la muestra para extraer y preconcentrar los analitos. Este tipo de estrategias suelen ser relativamente sencillas, económicas y permiten mejorar los límites de detección y reducir interferencias. A priori no cabe duda que implican un aumento en el tiempo de análisis, pero existen en el mercado metodologías muy sencillas como la Microextracción Dispersiva Líquido-líquido que es rápida, apenas se tarda unos minutos en realizarlas. [10-12]

Normalmente, de los metales descritos en la directiva, el análisis de Hg se suele llevar a cabo mediante CVAAS ya sea a través de la generación de Hg atómico con  $\text{SnCl}_2$  en medio ácido o mediante descomposición térmica y amalgamación. [13, 14] La ventaja de esta última opción es su sencillez (no digestión de la muestra), rapidez y reproducibilidad (se evita la pérdida del Hg en el análisis).

#### *2.4 Objetivos de la investigación*

El objetivo de este trabajo es evaluar diferentes estrategias para determinar los metales regulados según los límites establecidos en el Real Decreto 817/2005 para aguas de transición con un contenido salino superior al 22 % (salmueras). En la bibliografía se han descrito numerosas estrategias para el análisis de agua de mar (contenido salino del 3-5 %), pero apenas se encuentra información para aguas con un mayor contenido de sólidos en suspensión y esto supone un serio hándicap para el control de salmueras (aguas de las salinas de Santa Pola y Calpe). Las técnicas analíticas que se pretenden utilizar son ICP-MS y CVAAS con un analizador directo (sin reactivos químicos) ya que son, a priori, las únicas que proporcionan los límites de detección requeridos para las aguas de transición.

### **3. Planteamiento metodológico**

En esta sección se describen los materiales, instrumentación y estrategias utilizadas para llevar a cabo la determinación de metales en agua de transición

#### *3.1 Reactivos*

Las muestras de agua de mar y salmueras utilizadas en este trabajo se prepararon en el laboratorio a partir de NaCl 99.5 % (Panreac, Castellar del Vallés, Barcelona, España) y agua ultrapura obtenida del sistema de purificación Milli-Q water Direct-Q3 (Millipore Inc, París, Francia). Las muestras salinas analizadas por ICP-MS se doparon con una disolución patrón multielemental de 1000 mg L<sup>-1</sup> (ICP-IV, Merck, Darmstadt, Alemania), y disoluciones monoelementales de As 1000 mg L<sup>-1</sup>, Se 1000 mg L<sup>-1</sup> (Merck, Darmstadt, Alemania). Por lo que respecta al análisis de Hg, las muestras se prepararon a

partir de disolución patrón monoelemental de Hg 1000 mg L<sup>-1</sup> (High-Purity Standards, Charleston, Carolina del Sur, E.E.U.U.). Adicionalmente, se utilizó ácido nítrico Suprapur (69 % w w<sup>-1</sup>) (Panreac, Castellar del Vallés, Barcelona, España).

Para llevar a cabo la microextracción líquido-líquido dispersiva se utilizó: cloroformo ≥ 99.8 % (Sigma Aldrich, San Luis, Misuri, E.E.U.U.) como extractante, metanol ≥ 99.8 % (Sigma Aldrich, San Luis, Misuri, E.E.U.U.) como dispersante, disolución de ácido Etilendiamotetraacético (EDTA) al 0,1 %, preparada a partir de EDTA 99 % (Panreac, Castellar del Vallés, Barcelona, España), y disolución de ditiocarbamato pirrolidina de amonio (APDC) al 10 %, preparada a partir de APDC 99 % (Sigma Aldrich, San Luis, Misuri, E.E.U.U.), como complejantes y, por último, una disolución tampón de pH 6 preparada a partir de ácido Acético glacial (99.7 % w w<sup>-1</sup>) (Panreac, Castellar del Vallés, Barcelona, España) y Acetato sódico 99 % (Panreac, Castellar del Vallés, Barcelona, España).

### *3.2 Instrumentación*

Se han empleado dos instrumentos para el análisis de metales en aguas de transición. El análisis de mercurio se realizó en un Analizador de Mercurio DMA-80 *dual cell* (Milestone s.r.l., Sorisole, Italia) utilizando las condiciones experimentales recomendadas por el fabricante. El resto de metales se analizaron con un ICP-MS serie 7700x (Agilent Technologies, Santa Clara, California, E.E.U.U.). El análisis en esta última técnica se llevó a cabo con dos tipos de nebulizadores: Micromist (Glass Expansion, Australia) y un micro nebulizador de alta eficiencia OneNeb (Agilent Technologies, Santa Clara,

E.E.U.U.). Ambos nebulizadores se acoplaron a una cámara de nebulización de doble paso tipo Scott. Debido al alto contenido en NaCl de las muestras analizadas (3-22%), y con objeto de mitigar las interferencias espectrales y no espectrales, los análisis se llevaron a cabo utilizando la célula de colisión (para interferencias espectrales) y el modo HMI (para interferencias no espectrales). El modo HMI permite disminuir la concentración de sólidos disueltos que se introduce en el plasma diluyendo el aerosol con una corriente adicional de argón. A pesar de estos dispositivos, las muestras de salmuera (22%) no se pueden introducir directamente y requieren ser diluidas hasta una concentración final del 3%. Alternativamente, se ha estudiado la posibilidad de analizar las muestras tras un tratamiento de extracción-concentración mediante DLLME. La optimización de esta estrategia se realizó utilizando un espectrómetro de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente ICP-AES serie 720 (Agilent Technologies, Santa Clara, California, E.E.U.U.). En este caso, el sistema de introducción de muestras está formado por el nebulizador Micromist (Glass Expansion, Australia), un cámara de nebulización ciclónica y una válvula de inyección en flujo (sistema FIA) para introducir la muestra (25  $\mu$ L) obtenida tras la microextracción (50  $\mu$ L). Las condiciones instrumentales empleadas para el ICP-MS se encuentran en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones instrumentales en ICP-MS.

Equipo ICP	ICP-MS serie 7700x
Potencia del plasma (W)	1600
Flujo de Argón ( $L \text{ min}^{-1}$ )	
Plasma	14,99
Auxiliar	0,9
Nebulizador	0,33
Modo HMI	0,56
Flujo Helio celda de colisión ( $mL \text{ min}^{-1}$ )	4,3
Flujo de muestra ( $mL \text{ min}^{-1}$ )	0,9

### 3.3 *Pretratamiento de muestra*

#### 3.3.1 Análisis de Hg mediante CVAAS

Para la realización del análisis de mercurio se prepararon disoluciones dopadas con  $600 \text{ ng kg}^{-1}$  de mercurio y con diferentes concentraciones de NaCl con el fin de simular diferentes tipos de agua: (i) Agua ultrapura (0% NaCl); (ii) Agua de mar (3% NaCl); y (iii) Salmueras (22% NaCl).

#### 3.3.2 Análisis de metales mediante ICP-MS

Atendiendo a las recomendaciones del fabricante, la concentración de NaCl máxima que se puede introducir en el instrumento trabajando en el modo HMI es de un 3%. Por ello, se prepararon disoluciones con  $20 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$  de cada uno de los elementos al 2 % de  $\text{HNO}_3$  y con concentraciones de NaCl del 0, 1 y 3 %. De forma alternativa, se estudió la posibilidad de analizar los metales de interés tras un tratamiento de extracción-concentración mediante DLLME. Para ello se prepararon disoluciones salinas al 0, 3 y 22 % de NaCl dopadas con  $250 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$  de cada metal. A continuación, a 5 mL de cada una de estas disoluciones, dispuestas en tubos de centrifuga, se añadieron 32  $\mu\text{L}$  de la disolución de EDTA al 0,1 % junto con 42  $\mu\text{L}$  de la disolución de APDC al 10 % para formar complejos de los distintos metales. Después se añadieron 150  $\mu\text{L}$  de la disolución tampón de ácido Acético – Acetato para ajustar el pH a un valor de 6. A continuación, la mezcla extractora formada por 200  $\mu\text{L}$  de Cloroformo (extractante) y 430  $\mu\text{L}$  de MeOH (dispersante) se añadió rápidamente a las muestras preparadas previamente con la ayuda de una jeringa de 2.5 mL produciendo una disolución turbia debido a la dispersión de pequeñas gotas de la mezcla extractora en la disolución acuosa de la muestra. Seguidamente, para recoger las gotas de

extractante, las cuales contienen los diferentes metales que había en la muestra, la disolución turbia obtenida se centrifugó durante 3 minutos a 4000 r. p. m. y la gota formada en el fondo del tubo se recogió con la ayuda de una jeringa de 2.5 mL. Los extractos se analizaron, por un lado, directamente en ICP-AES con un sistema FIA y, por otro lado, en ICP-MS tras evaporar todo el cloroformo y reconstituir el residuo seco con ácido nítrico diluido al 2% y volumen final de 500  $\mu$ L.

#### **4. Evaluación de los participantes en el proyecto**

El grupo de investigación del proyecto está formado por diversos investigadores y alumnos predoctorales que tienen una amplia experiencia y formación en el uso de técnicas espectroscópicas de plasma a nivel fundamental (estudios de efectos de matriz [15,16,17,18,19,20] y desarrollo de sistemas de introducción de muestras [21,22,23,24] como aplicado (análisis de muestras medioambientales [25,26]).

#### **5. Resultados del proyecto**

##### *5.1 Análisis de Mercurio (Hg)*

En primer lugar, y con objeto de evaluar las bondades de CVAAS para el análisis directo de Hg en muestras salinas (sin dilución), se han llevado a cabo el análisis de muestras de agua destilada y de NaCl al 3% y al 22% con un contenido en Hg de 500-600 ng Kg<sup>-1</sup>. Las muestras salinas se pueden analizar directamente y no requieren de ningún tipo de pretratamiento. Eso sí, las navetas donde se deposita la muestra se deben cubrir con una capa de

alúmina para asegurar que la evaporación del agua sucede de forma reproducible y sin reacciones vigorosas. La Tabla 2 muestra los resultados de los análisis del agua destilada y las muestras salinas. Tal y como se puede observar en dicha tabla, la concentración de Hg obtenida para las disoluciones salinas (3 y 22%) está en consonancia con los valores esperados. La precisión de las medidas estuvo alrededor del 5%, valor razonablemente bueno atendiendo a los niveles de concentración donde se trabaja. Sorprendentemente, los valores de Hg en la muestra de agua destilada fueron un 45% inferiores a lo esperado. Esta *aparente* anomalía está relacionada con la estabilidad del Hg en disolución ya que es un elemento muy volátil y, además, puede quedar adherido a las paredes del recipiente. En las muestras salinas, los iones cloruro ayudan a estabilizar el Hg en disolución mediante la formación de complejos clorados (e.g.  $\text{HgCl}_4^{2-}$ ). [27-29] Estos resultados tienen una gran relevancia a nivel práctico ya que la prevalencia de este metal en las salmueras será mucho mayor que en aguas con un menor contenido salino, donde el Hg puede perderse por volatilidad.

Tabla 2. Valores de concentración de mercurio ( $\text{ng kg}^{-1}$ ) en disoluciones con diferente contenido de NaCl. (Media  $\pm$  intervalo de confianza; n = 3; 95 % nivel de significación; RSD: %)

NaCl	Concentración teórica	Concentración obtenida	RSD (%)
0 %	500	270 $\pm$ 30	11
3 %	500	500 $\pm$ 30	5
22 %	600	600 $\pm$ 30	5

La normativa vigente sobre el contenido de contaminantes en aguas de transición, Real Decreto 817/2015, establece en el Anexo V apartado 3. b que el límite de cuantificación (LC) fijado para cada una de las sustancias contaminantes será igual o inferior al 30 % del valor establecido en la Norma de



Calidad Ambiental. En el caso del mercurio la concentración máxima admisible es de  $0,07 \mu\text{g L}^{-1}$ , por lo que el límite de cuantificación establecido, según el criterio anterior, es de  $0,02 \mu\text{g L}^{-1}$  para las aguas de transición.

En este trabajo, el límite de detección (LD) ( $0,04 \mu\text{g L}^{-1}$ ) y LC ( $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) obtenido para las muestras salinas al 3 y al 22 % fueron superiores a los establecidos por la normativa. La diferencia no es grande, pero obliga utilizar algún tipo de pretratamiento previo para preconcentrar el Hg antes de su análisis. En cualquier caso, los análisis mediante el analizador de Hg son muy sencillos, de bajo coste, con un consumo mínimo de reactivos y son fáciles de implementar en cualquier laboratorio de análisis.

### *5.2 Análisis de metales mediante ICP-MS*

Las salmueras no se pueden analizar directamente mediante ICP-MS ya que el elevado contenido en sales provoca la obturación del nebulizador, de la antorcha del plasma y de la interfase entre el plasma y el analizador de masas. Además, afecta negativamente a la atomización e ionización de los analitos del plasma. Por ello, se han evaluado dos posibles estrategias de análisis. Por un lado, diluir las muestras (1:7) de forma que el contenido en sales no sea superior al 3% y poder así realizar el análisis. Por otro lado, se ha evaluado la posibilidad de realizar un tratamiento de extracción y preconcentración mediante DLLME. Esta metodología es muy sencilla y reduciría significativamente los efectos de matriz. Además, se podría emplear en los laboratorios de análisis de forma sencilla y con un coste mínimo.

### 5.2.1 Dilución

En primer lugar, se realizó un ensayo para determinar cuál es el efecto de la concentración de NaCl sobre la señal analítica en ICP-MS. Estas pruebas se realizaron utilizando la célula de colisión para eliminar las interferencias espectrales y del sistema HMI para reducir la carga de matriz que se introduce en el plasma. Si no se emplean estos dispositivos, es imposible realizar el análisis de muestras salinas por las interferencias espectrales y no espectrales que produce el NaCl. Para ello, se prepararon matrices de NaCl al 0% (agua destilada, matriz de referencia), 1% y al 3%. Todas las disoluciones se doparon con  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  de analito.

La Figura 1 muestra los resultados de  $I_{\text{rel}}$  para diferentes metales en las matrices de NaCl al 1 y al 3% con el sistema convencional de introducción de muestras del ICP-MS.  $I_{\text{rel}}$  se define como el cociente entre las señales obtenidas en la matriz salina respecto a la de agua destilada (0% NaCl). Valores de  $I_{\text{rel}}$  inferiores a la unidad indican efectos de matriz negativos (supresión de la señal). Tal y como se puede observar en este gráfico, el NaCl reduce la señal analítica y su efecto es más significativo al aumentar la concentración de matriz. La caída en la señal para la matriz del 3% es de promedio entre un 20-30 %.

Diversos trabajos [9, 30, 31] indican que los efectos de matriz dependen del sistema de introducción de muestras seleccionado. Por ello, se ha estudiado la posibilidad de utilizar un micronebulizador (Oneneb) para reducir estos efectos. [32,33] Cuando se trabaja con este nebulizador (Figura 2) se observa que los efectos de matriz disminuyen y la señal para la disolución al 3% de NaCl es sólo un 20 % inferior a la del agua y, para algunos elementos, incluso no se registran efectos de matriz. Los menores efectos de matriz que presenta este

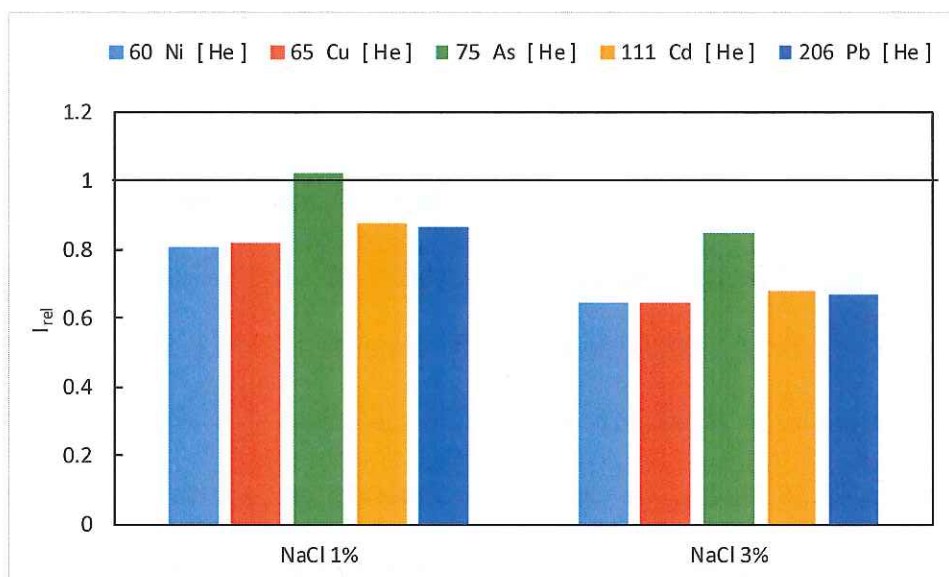


Figura 1. Valores de  $I_{rel}$  para diferentes metales en las matrices de NaCl con el nebulizador Micromist.

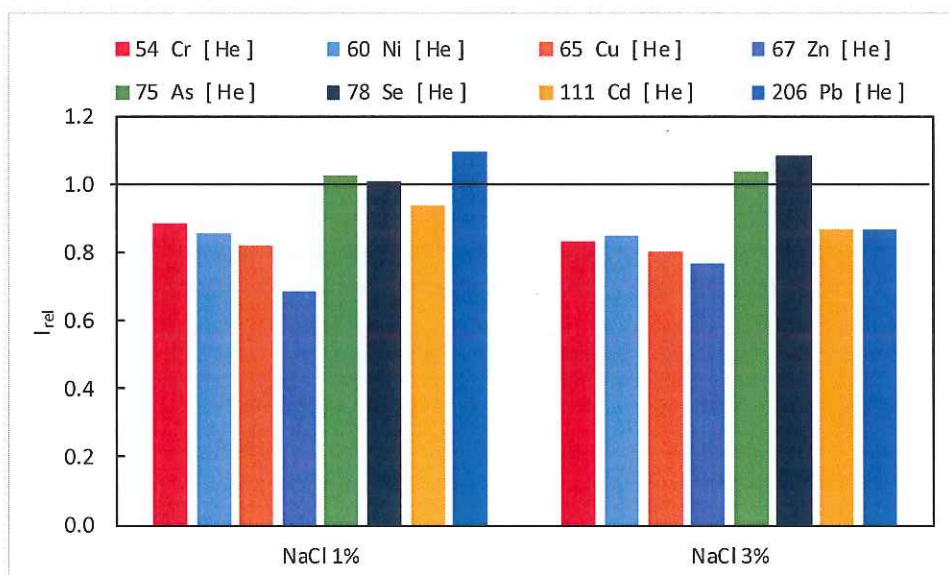


Figura 2. Valores de  $I_{rel}$  para diferentes metales en las matrices de NaCl con el nebulizador OneNeb.

nebulizador están relacionados con su mayor eficiencia en la generación del aerosol y con el efecto Coulomb, que consiste en la división de las gotas generadas por el aerosol en otras más pequeñas como consecuencia de las fuerzas de repulsión que existen entre las cargas contenidas en el interior de la gota. [8, 9] A la vista de estos resultados, el Oneneb parece un buen nebulizador para analizar muestras salinas. Además, el uso de este nebulizador también

resulta beneficioso porque proporciona una señal analítica entre 2-3 veces mayor a la del Micromist, permitiendo reducir los límites de detección.

Una vez seleccionado el sistema de introducción más adecuado para el análisis de muestras salinas, se determinaron los LD y LC comparándolos con los descritos en la normativa de aguas de transición. Para las muestras de NaCl al 3%, se calcularon a partir de la recta de calibrado. Por lo que respecta a las salmueras (22 % NaCl), se calcularon teniendo en cuenta que las muestras deben diluirse antes del análisis (1:7) para que la concentración de sólidos no supere el 3%. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3. Al igual que sucedía con el Hg, el LD de metales en las salmueras es superior al LC establecido en la normativa y no es posible realizar los análisis según la legislación vigente.

Tabla 3. Límites de detección ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) para muestras con 22 % NaCl (Salmueras) y límites establecidos en la normativa ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ).

Elemento	LODs 22 % NaCl	NCA-CMA <sup>a</sup>	LOQs <sup>b</sup>
Cr	140	5 <sup>e</sup>	1,5 <sup>e</sup>
Ni	14	34	10,2
Cu	14	25	7,5
Zn	140	60	18
As	7	25	7,5
Se	14	10	3
Cd	0,7	0,45-1,5 <sup>c</sup>	0,135-0,45 <sup>c</sup>
Pb	1,4	14	4,2

a. Valor de concentración máxima admisible establecida en Real Decreto 817/2005.

b. Límites de cuantificación establecido por el Real Decreto 817/2005.

c. Rango de variación dependiendo de la dureza del agua

A priori, las capacidades analíticas de ICP-MS son más que suficientes para cuantificar metales a niveles de concentración inferiores a las  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Sin embargo, se debe tener en cuenta que el NaCl afecta negativamente al transporte de analito y a las condiciones energéticas del plasma, incluso cuando

se emplea el modo HMI. De hecho, el uso de este modo diluye el aerosol antes de introducirlo en el plasma lo que disminuye la sensibilidad. Pruebas realizadas con patrones acuosos con y sin el modo HMI muestra que la pérdida en señal (i.e. LD/LC) es de un orden de magnitud.

A la vista de estos resultados queda demostrado que la única forma de acometer el análisis de metales en las salmueras es mediante el empleo de algún tipo de tratamiento de extracción-preconcentración. Esta estrategia sería beneficiosa porque separaría el analito de la matriz y ya no resultaría necesario el empleo del modo HMI (mejor sensibilidad y LD). Además, por otro lado, preconcentraría los metales de la muestra y mejoraría aún más si cabe los parámetros analíticos del método.

### 5.2.2 Extracción-preconcentración

Se han descrito en la bibliografía diversas estrategias para separar y preconcentrar metales en muestras medioambientales. En este trabajo, se pretende utilizar DLLME ya que no presenta los inconvenientes de las extracciones líquido-líquido convencionales y garantiza una elevada velocidad de análisis. De hecho, DLLME requiere de un consumo mínimo de reactivos y apenas genera residuos. [10, 34-37]

Con objeto de evaluar la validez de DLLME para determinar metales en muestras salinas, se realizaron una serie de ensayos con muestra de agua destilada y muestras de NaCl al 3% y al 22%. Los detalles experimentales del procedimiento están descritos en la sección 3.3.2. Las diferentes muestras se doparon con  $250 \mu\text{g L}^{-1}$  y se empleó cloroformo como extractante. Los extractos

del proceso se analizaron directamente con un sistema FIA e ICP-AES para hacer un *screening* rápido y evaluar de forma sencilla las bondades (e inconvenientes) del procedimiento.

La Figura 3 muestra  $I_{rel}$  para diferentes metales con la matriz salina al 22%. En este caso, los valores de  $I_{rel}$  permiten comparar la influencia de la matriz en el proceso de extracción. Tal y como se observa en el gráfico, la señal de analito obtenida en la matriz salina al 22% es igual o incluso superior a la obtenida en agua. Dicho en otras palabras, la matriz salina no tiene ningún efecto negativo sobre el proceso de extracción, de hecho es beneficioso

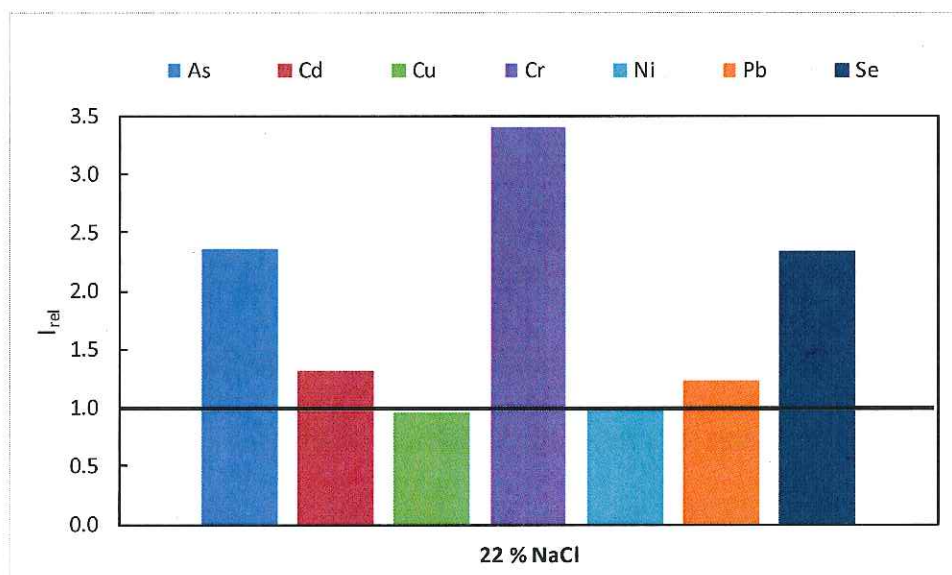


Figura 3. Valores de  $I_{rel}$  para diferentes metales en la matriz de NaCl al 22% tras emplear DLLME

. A la vista de estos resultados, se decidió analizar los extractos de DLLME mediante ICP-MS. No obstante, en este caso, y con objeto de reducir posibles efectos de matriz de carbono [15,16,17,18,35,36,37] se prefirió evaporar completamente el cloroformo y reconstituir las muestras con ácido antes del análisis. La Tabla 4 muestra los LD que se obtendrían de analizar los extractos de DLLME para las muestras de salmuera. Como se pueda observar en esta

tabla, los LD para la mayor parte de elementos se encuentra por debajo del LC establecido por el Real Decreto 817/2005. Por lo que respecta a Cr, As y Se, los LD no son todavía lo suficientemente bajos para llevar a cabo las determinaciones. No obstante, este inconveniente se podría subsanar de varias formas como: (i) aumentando el volumen de muestra sobre el que se realiza la extracción; (ii) utilizando una menor dilución del extracto de cloroformo o analizando directamente este; y (iii) optimizando el procedimiento de DLLME para estos elementos con algún otro agente quelante que favorezca su extracción.

Tabla 4. Límites de detección ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) para muestras con un 22 % NaCl (Salmueras) con pretratamiento de muestra basado en DLLME y límites establecidos en la normativa ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ).

Elemento	LODs 22 % NaCl	NCA-CMA <sup>a</sup>	LOQs <sup>b</sup>
Cr	5	5 <sup>e</sup>	1,5 <sup>e</sup>
Ni	0.06	34	10,2
Cu	1	25	7,5
Zn	5	60	18
As	5	25	7,5
Se	5	10	3
Cd	0,004	0,45-1,5 <sup>c</sup>	0,135-0,45 <sup>c</sup>
Pb	0.02	14	4,2

- Valor de concentración máxima admisible establecida en Real Decreto 817/2005.
- Límites de cuantificación establecido por el Real Decreto 817/2005.
- Rango de variación dependiendo de la dureza del agua

## 6. Evaluación final

Los resultados de este proyecto demuestran que es posible determinar la concentración de metales en salmueras (NaCl 22%) según la Directiva Marco del Agua (Directiva 2013/39/UE) y el Real Decreto 817/2005. Eso sí, independientemente de la técnica de detección, es imperativo el empleo de una etapa de extracción-preconcentración previa. El análisis directo de las salmueras mediante CVAAS o ICP-MS, aunque es factible, no proporciona los límites de

detección requeridos para cumplir las Normativas vigentes. En este trabajo, se ha empleado la Microextracción Dispersiva Líquido-Líquido con buenos resultados para extraer y preconcentrar metales. Esta metodología es muy sencilla, barata y fácilmente aplicable en los laboratorios de análisis de forma rutinaria.

## **7. Bibliografía**

[1] Ministerio de la Presidencia. Real Decreto 817/2005, de 11 de septiembre, por el que se establecen los criterios de seguimiento y evaluación del estado de las aguas superficiales y las normas de calidad ambiental. 2015.

[2] Parlamento Europeo. Directiva 2013/39/UE del Parlamento Europeo y del consejo de 12 de agosto, por la que se modifican las Directivas 2000/60/CE y 2008/105/CE en cuanto a las sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas. 2013.

[3] Confederación Hidrográfica del Júcar. Plan hidrológico de la demarcación hidrográfica del Júcar. Memoria Ciclo de planificación hidrológica 2009-2015.

[4] Confederación Hidrográfica del Júcar. Plan hidrológico de la demarcación hidrográfica del Júcar. Memoria Ciclo de planificación hidrológica 2015-2021.

[5] Confederación Hidrográfica del Júcar. Plan hidrológico de la demarcación hidrográfica del Júcar. Anexo 12 Ciclo de planificación hidrológica 2015-2021.

[6] Montaser, Inductively coupled plasma mass spectrometry, Wiley-VCH, New York, 1998.



- [7] P. W. J. M. Boumans. Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy, Part 1: Methodology, Instrumentation and Performance; and Part 2: Applications and Fundamentals. Wiley, New York (1987).
- [8] Agatemor, D. Beauchemin. Matrix effects in inductively coupled plasma mass spectrometry: A review. *Analytica Acta*, 2011, 706, 66-83
- [9] J. L. Todolí, L. Gras, V. Hernandis, J. Mora. Elemental matrix effects in ICP-AES. *J. Anal. Atom. Spectrom.* 2002, 17, 142-169.
- [10] L. Rocha, A. D. Batista, F. R. P. Rocha, G. L. Donati, J. A. Nóbrega. Greening simple preparation in inorganic analysis. *Trends. Anal. Chem.* 2013, 45, 79-92.
- [11] J. Ma, D. Yuan, K. Lin, S. Feng, T. Zhou, Q. Li. Applications of flow techniques in seawater analysis. A review. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 2016, 10, 1-10.
- [12] L. Ranjbar, Y. Yamini, A. Saleh, S. Seidi, M. Faraji. Ionic liquid based dispersive liquid-liquid microextraction combined with ICP-OES for the determination of trace quantities of cobalt, copper, manganese, nickel and zinc in environmental water samples. *Microchimica Acta*, 2012, 177, 119-127.
- [13] USEPA. Method 7473 Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation, and atomic absorption spectrophotometry. Revision 0, February, 2007.
- [14] USEPA. Method 245.1 Determination of mercury in water by cold vapor atomic absorption spectrometry. Revision 3.0, 1994.

- [15] G. Grindlay, J. Mora, L. Gras, M.T.C. de Loos-Vollebregt, Carbon-related matrix effects in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry *Spectrochim Acta Part B*, 2008, 63, 234-243.
- [16] G. Grindlay, J. Mora, M. de Loos-Vollebregt, F. Vanhaecke, Systematic study on the influence of carbon on the behavior of hard-to-ionize elements in inductively coupled plasma–mass spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B*, 2013, 86, 42-49.
- [17] M.C. García-Poyo, G. Grindlay, L. Gras, M.T.C. de Loos-Vollebregt, J. Mora, Non-spectral interferences due to the presence of sulfuric acid in inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B*, 2015, 105, 71–76.
- [18] G. Grindlay, L. Gras, J. Mora, M.T.C. de Loos-Vollebregt, Carbon-, sulfur-, and phosphorus-based charge transfer reactions in inductively coupled plasma–atomic emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B*, 2016, 115, 8-15.
- [19] S. Maestre, J. Mora, L. Gras, J.L. Todolí, Study of matrix effects produced by inorganic species in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with several spray chambers, *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy*, 2000, 45, 124-132.
- [20] J.M. Cano, J.L. Todolí, V.Hernandis, J. Mora, The role of the nebulizer on the sodium interferent effects in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2002, 17, 57-63
- [21] G. Grindlay, J. Mora, S. Maestre, L. Gras, Introduction of organic solvent solutions into inductively coupled plasma - atomic emission spectrometry using a microwave assisted sample introduction system, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, 2006, 21, 1403-1411.

- [22] G. Grindlay, J. Mora, V. Hernandis, L. Gras, Design and evaluation of an improved microwave-based thermal nebulizer for liquid sample introduction in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *J. Anal. Atom. Spectrom*, 2007, 22, 129-139.
- [23] G. Grindlay, S. Maestre, J. Mora, V. Hernandis, L. Gras, *J. Anal. Atom. Spectrom*, 2005, 20, 455-461.
- [24] G. Grindlay, L. Gras, J. Montiel, V. Hernandis, J. Mora, Design and evaluation of a new fully microwave-assisted sample introduction device for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *J. Anal. Atom. Spectrom*, 2010, 25, 519-525.
- [25] A. Cuesta, J.L. Todolí, J. Mora, A. Canals, Rapid determination of chemical oxygen demand by a semi-automated method based on microwave sample digestion, chromium(VI) organic solvent extraction and flame atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 1998, 372, 399-409
- [26] S.E. Maestre, J. Mora, v. Hernandis, J.L. Todolí, A system for the direct determination of the nonvolatile organic carbon, dissolved organic carbon, and inorganic carbon in water samples through inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Anal. Chem.* 2003, 75, 111-117
- [27] S. Caroli, G. Forte, A. L. Iamiceli, A. Lusi. Stability of mercury aqueous solutions: An open issue. *Microchemical Journal*, 1996, 54, 418-428.
- [28] J. L. Parker, N. S. Bloom. Preservation and storage techniques for low-level aqueous mercury speciation. *Science of the total environment*, 2005, 337, 253-263.

- [29] M. Ambe, K. Suwabe. The preparation of standard solutions of mercury at the ppb level. *Analytica Chimica Acta*, 1997, 92, 55-60.
- [30] J. M. Cano, J. L. Todolí, V. Hernandis, J. Mora. The role of the nebulizer on the sodium interferent effects in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, 2002, 17, 57-63.
- [31] S. Maestre, J. Mora, J. L. Todolí. Studies about the origin of the non-spectroscopic interferences caused by sodium and calcium in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. Influence of the spray chamber design. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*, 2002, 57, 1753-1770.
- [32] M.A. Aguirre, N. Kovachev, B. Almagro, M. Hidalgo, A. Canals. Compensation for matrix effects on ICP-OES by on-line calibration methods using a new multi-nebulizer based on Flow Blurring technology. *J. Anal. At. Spectrom.* 25, 2010, 1724–1732.
- [33] C.D. Pereira, M.A. Aguirre, J.A. Nóbrega, M. Hidalgo, A. Canals. Correction of matrix effects for As and Se in ICP OES using a Flow Blurring® multiple nebulizer. *J. Anal. At. Spectrom.* 27, 2012), 2132–2137.
- [34] S. R. Yousefi, F. Shemirani. Development of a robust ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction against high concentration of salt for the preconcentration of trace metals in saline aqueous samples: Application to the determination of Pb and Cd. *Analytica chimica acta*, 669, 2010, 25 – 31.
- [35] M. Soylak, E. Yilmaz. Ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction of lead as pyrrolidinedithiocarbamate chelate prior to its flame atomic absorption spectrometric determination. *Desalation*, 275, 2011, 297 - 301.

[36] P. Hemmatkhah, A. Bidari, S. Jafarvand, M. R. M. Hosseini, Y. Assadi. Speciation of chromium in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction and flame atomic absorption spectrometry. *Microchim. Acta*, 2009, 166, 69 – 75.

[37] H. M. Al-Saidi, A. A. A. Emara. The recent developments in dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration and determination of inorganic analytes. *Journal of Saudi chemical society*, 2014, 18, 745 – 761.

