

TESIS  
DOCTORAL

2013

TESIS DOCTORAL

HAFIDA  
EL MAI

TÉCNICAS DE PRECONCENTRACIÓN EN EL ANÁLISIS DE METALES TRAZA.  
FRACCIONAMIENTO QUÍMICO EN EL CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN  
METÁLICA DE LA BAHÍA DE TÁNGER

TÉCNICAS DE PRECONCENTRACIÓN EN EL  
ANÁLISIS DE METALES TRAZA.

FRACCIONAMIENTO QUÍMICO EN EL  
CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN METÁLICA  
DE LA BAHÍA DE TÁNGER

HAFIDA EL MAI

FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA  
UNIVERSIDAD DE CÁDIZ

2013





FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

TESIS DOCTORAL

---

*TÉCNICAS DE PRECONCENTRACIÓN EN EL ANÁLISIS  
DE METALES TRAZA.*

*FRACCIONAMIENTO QUÍMICO EN EL CONTROL DE LA  
CONTAMINACIÓN METÁLICA DE LA BAHÍA DE TÁNGER*

---

*HAFIDA EL MAI*

2013



***TÉCNICAS DE PRECONCENTRACIÓN EN EL ANÁLISIS  
DE METALES TRAZA.  
FRACCIONAMIENTO QUÍMICO EN EL CONTROL DE LA  
CONTAMINACIÓN METÁLICA DE LA BAHÍA DE TÁNGER***

La presente Tesis Doctoral ha sido dirigida por las Doctoras **Dña. M<sup>a</sup> Dolores Galindo Riaño**, Profesora Titular de Universidad del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Cádiz y **Dña. Estrella Espada Bellido**, Profesora Sustituta Interina del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Cádiz, y cumple los requisitos exigidos por la legislación vigente.

Puerto Real a 11 de Marzo de 2013

Fdo.: Dña. M<sup>a</sup> Dolores Galindo Riaño

Fdo.: Dña. Estrella Espada Bellido

Memoria presentada por la Licenciada en Química  
**Dña. Hafida El Mai**  
para optar al grado de Doctor por la Universidad de Cádiz

Fdo.: Hafida El Mai





Dr. D. DOMINICO GUILLÉN SÁNCHEZ, PROFESOR TITULAR DE UNIVERSIDAD Y DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA DE LA UNIVERSIDAD DE CÁDIZ

CERTIFICA: Que el presente trabajo, realizado íntegramente en los laboratorios de este Departamento bajo la dirección conjunta de las Profesoras Dra. Dña. María Dolores Galindo Riaño y Dra. Dña. Estrella Espada Bellido, reúne las condiciones exigidas para optar al Grado de Doctor en Química.

Y para que así conste, expido y firmo el presente certificado, en Cádiz a 11 de Marzo de 2013.

Fdo: Dominico Guillén Sánchez



Los trabajos de investigación presentados en la presente Tesis Doctoral han sido realizados gracias a la financiación recibida de la Junta de Andalucía y de la Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI). Estos trabajos se encuentran recogidos en las siguientes publicaciones y comunicaciones a congresos.

### Publicaciones

- A. Aouarram, M. D. Galindo, H. El Mai, J. J. Vicente, M. Garcia-Vargas, M. Stitou, F. El Yousfi, M. Ammari, and L. Ben Allal. "*Distribution and Source of Trace Metals in Coastal Water of the Bay of Tangier (North West Morocco)*". Fresenius Environmental Bulletin 17, 1688-1696 (2008).
- H. El Mai, M. D. Galindo Riaño, E. Espada Bellido, M. García Vargas, M. Stitou y F. El Yousfi. *A novel liquid membrane for preconcentration and separation of Fe(III) ions and the redox speciation of Fe(II)/Fe(III) in water samples*. En preparación.
- H. El Mai, M. D. Galindo Riaño, E. Espada Bellido, M. García Vargas, M. Stitou y F. El Yousfi. *Determination of silver traces by anodic stripping voltammetry using modified carbon paste electrode*. En preparación.
- H. El Mai, M. D. Galindo Riaño, E. Espada Bellido, M. García Vargas, M. Stitou y F. El Yousfi. *Sensitive adsorptive stripping voltammetric method for the determination of iron in seawater*. En preparación.

### Congresos

- H. El Mai, M. D. Galindo, M. García-Vargas, M. Stitou y F. El Yousfi. "*Application of stripping voltammetry for the determination of iron in polluted river water using an aroylhydrazone ligand as derivative reagent*", III<sup>eme</sup> Edition du Congrès International "Eaux, Dechets et Environnement (EDE 3)", Noviembre 2011, Fèz (Marruecos).
- H. El Mai, M. D. Galindo, M. García-Vargas, M. Stitou y F. El Yousfi. "*Speciation of dissolved silver and colloidal silver nanoparticles in water samples using modified carbon paste electrode by DPASV*" Fifth International Workshop on "Biosensors for Food Safety and Environmental Monitoring, Octubre 2011, Ouarzazate (Marruecos)



- H. El Mai, M. D. Galindo, M. García-Vargas, F. El Yousfi, M. Stitou y A. Aouarram. "Electrochemical behaviour of modified carbon paste electrodes by using Schiff base ligands for trace metals analysis" 11<sup>th</sup> European Meeting on Environmental Chemistry (EMEC11), Diciembre 2010, Portoroz (Eslovenia).
- H. El Mai, M. D. Galindo, A. Aouarram, M. García-Vargas, M. Stitou y F. El Yousfi. "Evaluation of Metallic pollution in water samples of the bay of Tangier". II<sup>ème</sup> Edition du congrès international "Eaux, Dechets et Environnement-Union des pays de la méditerranée", Noviembre 2009, Al Jadida (Marruecos).
- H. El Mai, M.D. Galindo, M. Díaz de Alba, M.J. Casanueva, M. García, M. Stitou, F. El Yousfi y E. Espada. "Analytical applications of organic reagents in different preconcentration and separation techniques for water analysis". III congreso marroquí-español sobre la Química orgánica (CMERAM), Mayo 2009, Tetuán (Marruecos).
- H. EL Mai, M. D. Galindo Riaño, M. García Vargas, M. Stitou y F. El Yousfi. "Application of a novel liquid membrane for chemical speciation of iron in aquatic environmental samples". 12<sup>as</sup> Jornadas de Análisis Instrumental (JAI), Octubre 2008, Barcelona (España).
- A. Aouarram, M. D. Galindo, H. El Mai, J. J. Vicente, M. Garcia-Vargas, M. Stitou, F. El Yousfi, M. Ammari, y L. Ben Allal. "Distribution and Source of Trace Metals in Coastal Water of the Bay of Tangier (North West Morocco)". 14<sup>th</sup> International Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediterranean Region, Octubre 2007, Sevilla (España).
- H. EL Mai, M. D. Galindo Riaño, M. García Vargas, M. Stitou and F. El Yousfi. "Behaviour of different Metal/Hydrazone complexes in differential pulse cathodic stripping voltametry". 4<sup>ème</sup> Rencontre Nationale d'Electrochimie (RNE 4), Junio 2006, Tetuán (Marruecos).
- H. EL Mai, M. D. Galindo Riaño, M. García Vargas, M. Stitou and F. El Yousfi. "Bulk liquid membrane of Fe(II)/Fe(III) speciation in water using 2-hydroxibenzaldehyde benzoylhydrazone". Fifth International Symposium on Environment, Catalysis and Process Engineering (ECGP'5), Marzo 2006, Fés (Marruecos).

Durante el tiempo de la realización de la presente Tesis Doctoral han sido muchos los momentos buenos que he vivido, pero también ha habido momentos de desesperación y de agobio. Aún así, me quedo con un buen recuerdo, porque tanto en los buenos como en los malos momentos siempre he podido contar con diferentes personas, capaces de alegrarse conmigo, de buscar soluciones y dispuestas a ayudarme. Por este motivo, me gustaría agradecer a todos los que de una manera u otra han estado a mi lado durante este tiempo y sin los cuales no hubiera sido posible encontrarme en estos momentos escribiendo estas palabras.

En primer lugar, me gustaría agradecer de manera muy especial a mis directoras de Tesis, la Dra. M<sup>a</sup> Dolores Galindo Riaño, por toda su ayuda y dedicación durante todo este tiempo, sin la cual no hubiera sido posible sacar esta Tesis adelante. A ella, le debo, en definitiva, todo lo que he aprendido durante estos años, ya que siempre ha estado dispuesta a escucharme, orientarme y corregirme a pesar de tener infinidad de ocupaciones. También quiero darle las gracias por preocuparse siempre por buscarme financiación. Para mí ha sido mucho más que mi directora de Tesis pudiendo contar con ella siempre que la he necesitado. Y, por otro lado, a la Dra. Estrella Espada Bellido, por su apoyo y ayuda siempre que la he necesitado, por sus palabras de ánimo así como por su amistad. Las dos son directoras excelentes y no tengo suficientes palabras para expresarles mi agradecimiento.

Así mismo, me gustaría expresar mi gratitud al Dr. Manuel García Vargas, por la oportunidad que me ha dado para formar parte de su grupo y por estar siempre dispuesto a ayudar, transmitir sus conocimientos y orientarme en cada una de las etapas de mi carrera investigadora.

Mi más sincero agradecimiento al Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Cádiz, donde se ha realizado íntegramente este trabajo, así como a la Junta de Andalucía y a la Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI), por la financiación de los trabajos recogidos en esta Tesis Doctoral.

A la Universidad de Cádiz por abrirme sus puertas y darme la oportunidad de realizar los trabajos de investigación de esta Tesis doctoral.

Mi más profundo agradecimiento a Cádiz y a España, por acogerme y hacerme sentir como en casa y permitirme aprender de su cultura.

A la universidad Abdelmalek Essaâdi donde he realizado mi carrera y mis estudios de posgrado, y a todos los profesores que han participado en mi formación. Por ello, me gustaría agradecer a los profesores Aniss Bakkali, Badreddine Souhail, Rachad El Mail, Khalid Riffi Temsamani, y especialmente a Farida el Yousfi que además de ser mi profesora ha sido una amiga con quien he podido contar en muchas ocasiones.

Me gustaría también mostrar mi profundo agradecimiento hacia el Pr. Mostafa Stitou con quien he empezado mi formación investigadora en la Facultad de Ciencias de la Universidad Abdelmalek Essaâdi. Sin los conocimientos científicos que me ha transmitido, no hubiera sido fácil empezar una Tesis Doctoral. Muchas gracias por todas tus muestras de apoyo, de ayuda y de amistad infinitos.

También me gustaría agradecer a todos mis compañeros de grupo y mencionar a todas aquellas personas que durante este tiempo han pasado o aún se encuentran en el laboratorio, especialmente a Abdellah, Marga, Mariló, María José, Clara, Juan, Félix, María del Mar y Ana, por toda vuestra ayuda y comprensión porque sin duda sois los que mejor entendéis los altibajos que una Tesis conlleva, y sobre todo por haberme demostrado que no sólo sois compañeros de trabajo, sino amigos con los que siempre podré contar. Muchas gracias a todos.

No puedo dejar de agradecer también a los alumnos colaboradores Antonio, Adrián, Nicolás y Pedro, porque siempre ha sido posible contar con ellos.

Quiero también dar las gracias a todos mis compañeros de la Facultad de Ciencias del Mar, Carolina, Cristina, José, Mostafa, Gemma, Mirella y Juan Pinto, por la ayuda que me han prestado cada vez me ha hecho falta. Así como a los profesores, Miguel Milla, Pilar Martínez, Carlos Moreno, Manuel Pedro y Juan Verdugo, que más de una vez me han brindado su ayuda y su apoyo.

A todas las personas que forman o han formado parte del departamento de Química Analítica, por su colaboración y por ser mi familia durante todo este tiempo, especialmente a Laura, José María, Joaquín y Ángel.

A Beni por su valiosa ayuda en relación a los análisis de las muestras de sedimentos llevados a cabo en la ultima parte de este trabajo, y a los Servicios Centrales de Ciencia y Tecnología de la Universidad de Cádiz por poner a nuestra disposición sus equipos e instalaciones.

A Rajae, Samira, Karima y Loubna, mis compañeras y mis amigas desde que empezamos la carrera investigadora.

A mis amigas y compañeras de piso Widad, Nawal, Khadija y Bouchra, por aportar sus toques de creatividad a esta Tesis, por sus ánimos en los momentos de desesperación y por estar siempre dispuestas a ayudarme. Juntas hemos compartido momentos inolvidables. Todas hemos seguido caminos idénticos, por lo que casi nos hemos vuelto inseparables.

A mis amigos y amigas Javier, Fran, Mohammed, Ahmed, Nohman, Sanae, Nadia, Fatiha, Iman, Hicham y, en lugar muy destacado, Yolanda y Carmen por todo su apoyo, su amistad y sus consejos, y al resto de mis amigos a los que no menciono individualmente por temor a dejarme algún nombre en el tintero.

En definitiva, a todas aquellas personas, tanto dentro, como fuera del ámbito universitario que desinteresadamente brindaron su colaboración para hacer posible este trabajo.

No se me puede olvidar dar Gracias a "ALLAH", por estar conmigo en todo momento a lo largo de mi vida, por darme la oportunidad de conocer a todas estas personas tan buenas y amables y por darme fuerzas para seguir adelante.

En último lugar, quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a mis hermanos Mohammed, Nour Eddine, Redouan, Mostafa, Soulaiman y mi hermana Bahija, que nunca han dejado de animarme. Gracias por vuestro apoyo incondicional. También a mi cuñada Jamila por ser parte de mi familia y a mi pequeño sobrino Zaid al que quiero mucho.

A mis padres, Mohammed y Zohra por todo su apoyo y cariño a lo largo de toda mi vida, por estar siempre a mi lado y por haber confiado en mí. Muchas gracias por ayudarme y comprenderme. Todo lo que soy es gracias a vosotros. Os quiero mucho.

Al resto de mi gran familia, que sin saber a que me dedicaba siempre me apoyaban para tener el primer doctor de la familia.

Y, por supuesto, a una personita muy especial para mi, a mi princesita Sarita, por los maravillosos momentos que he vivido con ella y sigo viviendo, por su sonrisita que siempre me ha animado y me ha dado fuerzas para seguir adelante. Con todo mi cariño, mi cielo.



A mis padres por su amor y cariño incondicional

A mis hermanos y a mi hermana por su apoyo

A mi hija por ser la razón de mi vida



---

## ÍNDICE

---

<b>OBJETIVOS</b> .....	1
<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN</b> .....	7
I.1. Naturaleza y tipos de contaminantes de los sistemas acuáticos.....	8
I.2. Metales pesados y medio ambiente: Definición.....	10
I.3. Toxicidad de metales pesados.....	14
I.4. Transporte y vías de entrada de los metales pesados en el medio ambiente.....	29
I.4.1. Origen de los metales pesados en los sistemas acuáticos.....	31
I.4.2. Distribución de metales pesados en el medio acuático.....	35
I.5. Especiación y biodisponibilidad de metales pesados.....	38
I.6. Métodos de análisis de metales pesados en aguas naturales.....	44
<b>CAPÍTULO II. DESARROLLO DE UNA MEMBRANA LÍQUIDA DE VOLUMEN PARA EL ANÁLISIS DE HIERRO EN AGUA DE MAR</b> .....	61
II.1. Membranas líquidas.....	62
II.1.1. Extracción líquido-líquido.....	63
II.1.2. Membranas líquidas.....	67



---

II.1.3. Tipos de membranas líquidas.....	68
II.1.4. Eficacia del proceso de transporte en una membrana líquida.....	73
II.1.5. Mecanismos de transporte en membranas líquidas.....	74
II.1.6. Extractantes orgánicos.....	76
II.1.7. Aplicaciones industriales de las membranas líquidas.....	82
II.1.8. Aplicación de membranas líquidas al análisis de metales pesados en aguas.....	83
II.2. El hierro en el medio ambiente.....	92
II.2.1. El hierro en los ecosistemas acuáticos.....	93
II.2.1.1. Implicaciones biológicas del hierro en los océanos.....	97
II.2.1.2. Niveles de concentración y distribución.....	98
II.3. Métodos de determinación de hierro en agua de mar.....	98
II.3.1. Determinación directa de hierro.....	99
II.3.2. Determinación de hierro con etapa previa de preconcentración...	100
II.3.2.1. Preconcentración por extracción líquido-líquido.....	100
II.3.2.2. Preconcentración por extracción sólido-líquido.....	100
II.3.2.3. Preconcentración por intercambio iónico.....	101
II.3.2.4. Preconcentración por voltamperometría de redisolución...	101
II.4. Desarrollo de un nuevo método para la separación y preconcentración de hierro en aguas mediante el diseño de una membrana líquida.....	105
II.4.1. Celda de membrana líquida empleada para la preconcentración de hierro.....	105
II.4.2. Estudios previos para la elección del transportador y del disolvente orgánico.....	107
II.4.3. Características del ligando transportador de la membrana líquida propuesta: 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH).....	111
II.4.4. Pruebas preliminares del proceso de extracción-reextracción de Fe <sup>3+</sup> mediante membrana líquida utilizando el ligando 2-HBBH.....	115
II.4.4.1. pH de la fase cargada.....	115
II.4.4.2. Influencia de la temperatura en el proceso de transporte	

---

de Fe <sup>3+</sup> con 2-HBBH.....	119
II.4.4.3. Influencia del volumen de la membrana líquida (V <sub>o</sub> ).....	119
II.4.5. Propiedades del ligando transportador de la membrana líquida en disolución: 2-hidroxibenzaldehido benzoilhidrazona (2-HBBH).....	121
II.4.5.1. Disolución de 2-HBBH en tolueno.....	121
II.4.5.2. Determinación de la estequiometría del complejo Fe <sup>3+</sup> -2-HBBH.....	123
II.4.5.2.1. Características de la disolución acuo-etanólica de Fe <sup>3+</sup> -2-HBBH.....	123
II.4.5.2.2. Aplicación del método de las variaciones continuas o método de Job.....	125
II.4.5.2.3. Aplicación del método de la razón molar o proporción de moles.....	127
a) Cálculo de la estequiometría con ligando constante...	128
b) Cálculo de la estequiometría con metal constante.....	130
II.4.5.3. Determinación de la constante de formación del complejo Fe <sup>3+</sup> -2-HBBH.....	131
II.4.5.4. Naturaleza de la carga del complejo Fe <sup>3+</sup> -2-HBBH.....	134
II.4.6. Optimización de la metodología de membrana líquida propuesta.	137
II.4.6.1. Diseño multivariante secuencial: el método <i>Simplex</i> .....	138
II.4.6.2. Selección de las variables en la aplicación del método <i>Simplex Modificado</i> .....	143
II.4.6.3. Resultados experimentales del <i>Simplex Modificado</i> .....	145
II.4.7. Otros factores que influyen en la eficacia del sistema de membrana líquida propuesto.....	148
II.4.7.1. Influencia de la salinidad de la fase acuosa cargada.....	148
II.4.7.2. Influencia de la temperatura.....	150
II.4.8. Método de preconcentración del Fe <sup>3+</sup> mediante una membrana líquida de 2-HBBH.....	150
II.4.8.1. Reproducibilidad del método propuesto.....	152

---

II.4.8.2. Sensibilidad del método: límite de detección y de cuantificación.....	153
II.4.8.3. Exactitud del método de preconcentración propuesto.....	156
II.4.8.3.1. Aplicación a muestras de agua de mar sintética.....	156
II.4.8.3.2. Muestra de agua de referencia certificada.....	158
II.4.8.3.3. Aplicación del método de preconcentración propuesto en la determinación de hierro en muestras reales de agua de mar .....	159
II.5. Especiación de $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ mediante el método de membrana líquida propuesto.....	161
II.5.1. Aplicación de la membrana líquida desarrollada a la determinación de $\text{Fe}^{2+}$ .....	161
II.5.2. Estabilización de $\text{Fe}^{2+}$ en la fase cargada.....	165
II.5.2.1. Estabilización del $\text{Fe}^{2+}$ en la fase cargada mediante purga con nitrógeno.....	166
II.5.2.2. Estabilización mediante el empleo de agentes complejantes de $\text{Fe}^{2+}$ .....	167
II.5.3. Diseño de un método de especiación de Fe disuelto en aguas mediante el empleo de la membrana líquida propuesta.....	170
II.6. Conclusiones y perspectivas.....	175
 <b>CAPÍTULO III. TÉCNICAS VOLTAMPEROMÉTRICAS DE REDISOLUCIÓN.....</b>	<b>211</b>
III.1. Introducción.....	211
III.2. Principios generales.....	212
III.3. Modalidades de voltamperometría de redisolución.....	214
III.3.1. Voltamperometría de redisolución anódica (ASV).....	216
III.3.2. Voltamperometría de redisolución catódica (CSV).....	217
III.3.3. Voltamperometría de redisolución catódica adsortiva (AdCSV)..	218

---

III.4. Aspectos instrumentales.....	221
III.4.1. Señales de excitación en voltamperometría de redisolución.....	224
a) Voltamperometría de impulso diferencial (DPV).....	225
b) Voltamperometría cíclica (CV).....	229
III.5. Aplicaciones de la voltamperometría de redisolución.....	231
<b><i>CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE HIERRO EN AGUAS POR VOLTAMPEROMETRÍA DE REDISOLUCIÓN CATÓDICA ADSORTIVA EMPLEANDO LA 2-HBBH.....</i></b>	<b>245</b>
IV.1. La voltamperometría de redisolución catódica adsorptiva en el análisis de hierro en aguas.....	246
IV.2. Estudios de aplicabilidad de la 2-HBBH en AdCSV.....	248
IV.2.1. Características voltamperométricas de la 2-HBBH.....	249
IV.2.2. Comportamiento electroquímico de diversos metales en presencia de 2-HBBH.....	251
IV.2.3. Influencia del electrolito en el comportamiento electroquímico del ión Fe <sup>3+</sup> en presencia de 2-HBBH .....	255
IV.3. Características analíticas de la 2-HBBH y de su complejo metálico con Fe <sup>3+</sup> .....	261
IV.3.1. Estabilidad de la disolución etanólica de la 2-HBBH.....	262
IV.3.2. Estabilidad del complejo Fe <sup>3+</sup> -2-HBBH en disolución acuotética.....	263
IV.3.3. Estequiometría del complejo Fe <sup>3+</sup> -2-HBBH.....	265
IV.3.3.1. Método de la razón molar.....	265
a) Metal constante.....	266
b) Reactivo constante.....	267
IV.3.3.2. Método de variaciones continuas de Job.....	269
IV.3.4. Determinación de la constante de formación del complejo Fe <sup>3+</sup> -2- HBBH.....	273
IV.3.5. Determinación de la carga del complejo Fe <sup>3+</sup> -2-HBBH.....	274

---

IV.4. Optimización del método de análisis de Fe <sup>3+</sup> por AdCSV empleando 2-HBBH.....	275
IV.4.1. Influencia del potencial de deposición.....	276
IV.4.2. Influencia del tiempo de equilibración.....	276
IV.4.3. Influencia del tiempo de deposición.....	278
IV.4.4. Efecto del tamaño de la gota del electrodo HMDE.....	278
IV.4.5. Efecto del salto de potencial.....	280
IV.4.6. Efecto de la amplitud de impulso.....	280
IV.4.7. Efecto de la velocidad de agitación.....	281
IV.4.8. Efecto del tiempo del salto de potencial.....	282
IV.4.9. Estabilidad de la señal voltamperométrica.....	283
IV.5. Características analíticas del método propuesto.....	286
IV.5.1. Rango de linealidad.....	286
IV.5.2. Límite de detección.....	289
IV.5.3. Precisión del método.....	290
IV.5.4. Estudio de interferencias en el análisis de Fe <sup>3+</sup> mediante DP-AdCSV.....	291
a) Interferencias de metales.....	292
b) Interferencias de sales.....	294
IV.5.5. Validación del método.....	296
IV.5.5.1. Aplicación del método a la muestra de referencia certificada LGC6011.....	297
IV.5.5.2. Aplicación del método propuesto a muestras reales.....	298
IV.6. Comparación del método propuesto con otros descritos en la bibliografía.....	300

---

<b><i>CAPÍTULO V. ANÁLISIS DE PLATA EN AGUAS MEDIANTE UN NUEVO ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON 2-HBBH</i></b> .....	309
V.1. Plata.....	310
V.1.1. Plata en el medio acuático.....	311
V.1.2. Plata coloidal.....	313
V.1.3. Métodos de análisis de plata.....	314
V.2. Electroodos modificados químicamente.....	314
V.2.1. Fundamentos teóricos y antecedentes bibliográficos.....	314
V.2.2. Electroodos de pasta de carbono.....	316
V.2.2.1. Electroodos de pasta de carbono modificados.....	317
V.2.2.2. Aplicación de electroodos de pasta de carbono modificados por agentes complejantes a la preconcentración, separación y determinación de metales pesados .....	319
V.3. Desarrollo y optimización del método.....	321
V.3.1. Procedimiento experimental y estudios previos.....	323
V.3.1.1. Preparación del electrodo de pasta de carbono modificado.....	323
V.3.1.2. Comportamiento electroquímico de los diferentes electroodos de pasta de carbono modificados.....	326
V.3.1.3. Influencia del pH, naturaleza y concentración del electrolito.....	332
V.3.2. Características analíticas del complejo $\text{Ag}^+$ -2-HBBH.....	336
V.3.2.1. Características espectrofotométricas del complejo $\text{Ag}^+$ -2-HBBH en disolución.....	336
V.3.2.2. Estequiometría del complejo $\text{Ag}^+$ -2-HBBH.....	337
a) Cálculo de la estequiometría por el método de la razón molar: Metal constante.....	337
b) Cálculo de la estequiometría por el método de la razón molar: Reactivo constante.....	339

---

c) Cálculo de la estequiometría por el método de las variaciones continuas o método de Job.....	341
V.3.2.3. Cálculo de la constante de formación del complejo $\text{Ag}^+$ -2-HBBH.....	345
V.3.3. Optimización de las variables químicas e instrumentales.....	346
V.3.3.1. Influencia del potencial de reducción.....	346
V.3.3.2. Influencia de la velocidad de barrido.....	347
V.3.3.3. Influencia de la amplitud de impulso.....	349
V.3.3.4. Influencia del tiempo de equilibración.....	349
V.3.3.5. Influencia de la velocidad de agitación.....	350
V.3.3.6. Influencia del tiempo de acumulación y de reducción.....	351
V.3.3.7. Influencia de tiempo de purga.....	353
V.3.3.8. Influencia de la agitación en la etapa de reducción.....	353
V.3.3.9. Influencia de la composición de la pasta de carbono.....	355
a) Ligando modificador.....	355
b) Aceite mineral.....	356
V.3.3.10. Influencia del tamaño del electrodo.....	357
V.3.3.11. Comportamiento del electrodo diseñado a pH ácidos.....	359
V.3.4. Regeneración del electrodo.....	362
V.3.5. Estabilidad de la pasta de carbono.....	365
V.3.6. Parámetros analíticos del método propuesto.....	366
V.3.6.1. Reproducibilidad del método propuesto.....	367
V.3.6.2. Recta de calibrado.....	367
V.3.6.3. Limite de detección y cuantificación.....	370
V.3.6.4. Interferencias de los metales.....	370
V.3.6.5. Influencia de la presencia de cloruros en la muestra.....	372
V.3.6.6. Validación del método propuesto.....	373
V.3.7. Aplicabilidad del método propuesto a la determinación de plata coloidal. Especiación de plata iónica y plata coloidal.....	375
V.3.8. Validación de la especiación de plata.....	378

V.3.9. Comparación del método propuesto para la determinación de plata en aguas con otros métodos propuestos en la bibliografía.....	379
--	-----

<b><i>CAPÍTULO VI. CONTAMINACIÓN METÁLICA EN EL RÍO MGHOGHA Y EL LITORAL DE LA CIUDAD DE TÁNGER (MARRUECOS)</i></b> .....	393
VI.1. El sector de agua en Marruecos.....	394
VI.2. Zona de estudio: ciudad de Tánger (Marruecos).....	398
VI.3. Estudios previos de contaminación en el litoral de Tánger.....	403
VI.4. Análisis de los metales pesados en el río Mghogha y el litoral de la ciudad de Tánger.....	406
VI.4.1. Toma de muestras.....	406
VI.4.1.1. Toma de muestras de sedimentos.....	407
VI.4.1.2. Toma de muestras de aguas.....	410
VI.4.1.3. Protocolo de limpieza del material.....	413
VI.4.2. Metodología de análisis de las muestras de sedimentos.....	416
VI.4.2.1. Pretratamiento de las muestras.....	416
VI.4.2.2. Granulometría.....	417
VI.4.2.3. Caracterización mineralógica.....	419
VI.4.2.4. Materia orgánica en los sedimentos.....	419
VI.4.2.5. Análisis de metales pesados.....	420
a) Contenido metálico total.....	421
b) Concentración metálica en la fase lixiviable.....	422
c) Análisis de la especiación metálica.....	423
VI.4.3. Metodología de análisis de las muestras de agua.....	427
VI.4.3.1. Parámetros físico-químicos.....	427
VI.4.3.2. Pretratamiento de las muestras de agua.....	430
a) Digestión de las muestras de agua para el análisis del contenido metálico total.....	430
b) Digestión de las muestras de agua para el análisis del	



---

contenido metálico disuelto.....	431
VI.4.3.3. Análisis de metales pesados en aguas.....	431
a) Análisis de Zn, Cd, Pb y Cu.....	431
b) Análisis de Fe.....	432
c) Análisis de Ni y Co.....	433
c) Análisis de Hg.....	434
VI.4.4. Resultados de los análisis de las muestras de sedimentos del río Mghogha.....	435
VI.4.4.1. Granulometría.....	435
VI.4.4.2. Caracterización mineralógica.....	436
VI.4.4.3. Materia orgánica en los sedimentos.....	441
VI.4.4.4. pH y salinidad.....	442
VI.4.4.5. Análisis de la concentración metálica en la fase lixiviable	443
VI.4.5. Resultados de análisis de las muestras de agua de la zona cercana a la orilla.....	457
VI.4.5.1. Parámetros físico-químicos.....	457
VI.4.5.2. Contenido metálico en las muestras de agua.....	460
VI.4.6. Resultados de análisis de las muestras de agua en la costa a cierta distancia de la orilla.....	468
VI.4.6.1. Parámetros físico-químicos.....	468
VI.4.6.2. Contenido metálico en las muestras de agua.....	470
VI.4.7. Resultados de análisis de las muestras de sedimentos de la costa de la Bahía de Tánger.....	474
VI.4.7.1. Granulometría y carga orgánica.....	474
VI.4.7.2. Caracterización mineralógica.....	475
VI.4.7.3. Análisis de metales pesados: contenido total y especiación metálica.....	476
Conclusiones generales.....	493
Anexos.....	499

## ***OBJETIVOS DE LA TESIS***

---

Durante los últimos años, el desarrollo industrial ha ocasionado que un gran número de sustancias se incorporen al medio ambiente, siendo indudable que esta transformación afecta significativamente a la salud pública. Entre las sustancias potencialmente contaminantes se destacan los metales pesados o metales traza conocidos por su toxicidad y su alta persistencia.

Los elementos traza juegan un papel de gran importancia en la vida de nuestro planeta, algunos pueden ser altamente tóxicos y otros, considerados esenciales, pueden incluso llegar a ser tóxicos a determinadas concentraciones. Estas circunstancias dependen en gran medida de las formas químicas en las que se encuentren los metales.

La mayor parte de la contaminación ambiental por estos metales es ocasionada por la actividad humana. Las descargas de aguas residuales constituyen unas de las fuentes más importantes de ingreso de estas sustancias al medio ambiente, especialmente en medios acuáticos, lo que supone una amenaza directa contra la vida humana y acuática. Dado que esta toxicidad puede presentarse incluso a concentraciones muy pequeñas a nivel de trazas e ultratrazas, se hace necesario disponer de técnicas analíticas rápidas y simples de elevada sensibilidad capaces de cuantificar dichas concentraciones.

Los métodos analíticos usuales para la evaluación de metales pesados en muestras de aguas naturales están basados en el empleo de técnicas de espectroscopía atómica. No obstante, determinan concentraciones totales y no distinguen entre fracciones químicas; además, pueden presentar interferencias de matriz, sobre todo en el caso de muestras de agua de mar, por lo que requieren como paso previo etapas de preconcentración que demoran los análisis y pueden incrementar la contaminación de la muestra por excesiva manipulación. Por el contrario, los métodos electroquímicos han mostrado para ciertos metales pesados notables resultados en cuanto a su sensibilidad, rapidez y escasos efectos de matriz en este tipo de muestras (análisis de contenidos totales y especiación).

Por ello, la presente Tesis Doctoral tiene como objetivo fundamental el desarrollo de nuevas metodologías analíticas de elevada sensibilidad y bajo coste, así como rápidas y sencillas, para la cuantificación de metales pesados en aguas naturales. Para ello, se ha hecho uso de ligandos orgánicos tipo hidrazonas, de interesantes propiedades quelatantes para numerosos iones metálicos, aplicándolos en el desarrollo de nuevas metodologías analíticas basadas en membranas líquidas y en voltamperometría de redisolución.

Las membranas líquidas que utilizan estos reactivos como agentes transportadores de metales, resultan especialmente válidas para su aplicación en aguas naturales de naturaleza salina como son las aguas de estuario y de mar, ya que por su diseño permiten eliminar el efecto de la matriz que suele interferir en el análisis de metales. Por otro lado, esta tecnología combina la extracción con disolventes con un proceso de reextracción en único paso, que se traduce en un ahorro de tiempo y manipulación de muestra, siendo esto último algo muy importante en la determinación de elementos traza metálicos, y cuya cuantificación puede verse enormemente afectada por procesos de contaminación durante el tratamiento de la muestra. Por otra parte, la aplicación de la Voltamperometría de Redisolución ha supuesto un notable avance en diversos campos del análisis medioambiental, y en especial, por sus excelentes prestaciones en el análisis de metales en muestras acuosas salinas, como es el caso del agua de mar, a diferencia de otras técnicas instrumentales

como la espectroscopía atómica, para las que la matriz salina suele ser un interferente a tener en cuenta.

Además, y desde el punto de vista de la Química Analítica aplicada, en el segundo bloque de la Tesis se ha llevado a cabo la evaluación de la calidad medioambiental del litoral marroquí afectado por los vertidos urbanos e industriales de la ciudad de Tánger. En la zona de estudio existe una gran variedad de empresas e industrias dedicadas a la metalurgia, cerámica, textil, agroalimentaria, etc., que vierten de forma directa y/o indirecta contaminantes nocivos al medio ambiente. Los vertidos producidos por estas industrias son diversos y la gran mayoría no están sujetos a ningún tipo de control medioambiental. Todo ello se ha realizado en el ámbito de la cooperación internacional en estudios medioambientales que existe entre la Universidad de Abdelmalek Essaâdi y la Universidad de Cádiz, que fomentan la cooperación científica y docente en estos temas.

De forma más concreta, esta Tesis Doctoral presenta una serie de objetivos particulares que consisten en:

►► Desarrollo de metodologías de análisis en estudios de contaminación por metales pesados en ecosistemas acuáticos. En este apartado se incluyen los siguientes estudios:

- Desarrollo de una nueva metodología de preconcentración y análisis de metales pesados basados en la utilización de membranas líquidas para la separación y/o preconcentración de metales trazas en muestras de agua natural con matriz compleja, como pueden ser las muestras de agua de mar, de río, etc.
- Desarrollo de nuevas metodologías analíticas de elevada sensibilidad para la cuantificación de las formas químicas de bajo peso molecular de metales pesados empleando voltamperometría de redisolución adsortiva (AdCSV) a partir de la formación de quelatos metálicos y aplicables en aguas naturales, de elevada sensibilidad.

- Diseño de electrodos modificados químicamente con ligandos orgánicos para su utilización como sensores electroquímicos aplicables en la determinación de metales pesados en aguas.
- Aplicación del fraccionamiento químico en la evaluación de la calidad ambiental y el control de la contaminación metálica de la bahía de Tánger. Este estudio se desarrolla a partir del:
- Estudio del impacto de la intensa actividad antropogénica de la ciudad de Tánger sobre los niveles metálicos en sus aguas.
  - Evaluación de los niveles metálicos totales y su especiación química, tanto en aguas como en sedimentos.

## *CAPÍTULO I*

---

### *INTRODUCCIÓN*

---



## ***CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN***

---

En los últimos años, el medio ambiente se ha ido contaminando progresivamente como resultado de las actividades del hombre, ocasionando en algunos casos que grandes cantidades de sustancias, algunas nocivas, se incorporen al mismo llegando a los ecosistemas acuáticos [Dzikowitzky y col., 2004; 2011; Echols y col., 2009]; parte de estas sustancias proceden de residuos industriales, agrícolas o domésticos. Afortunadamente, y salvo casos muy graves de contaminación, el carácter fundamentalmente dinámico de estos sistemas permite la renovación de las masas de agua, sobre todo en las costas mediante su desplazamiento y mezcla con las aguas oceánicas procedentes de áreas más alejadas, llegando así a facilitar la dispersión y, por consiguiente, la atenuación espacial y temporal de episodios localizados de contaminación antropogénica [Janssen y col., 2003]. Sin embargo, los procesos naturales de depuración están restringidos en aquellas áreas que presentan, bien sea un confinamiento geográfico que dificulta la renovación natural de sus aguas, o bien, que reciban regularmente aportes hídricos con elevados índices de contaminación, como es el caso de ciertas zonas costeras como bahías y estuarios, haciendo que puedan ser, a veces, muy sensibles a los efectos de la contaminación ambiental y, en consecuencia, que el riesgo para la biota y para el propio ser humano pueda ser elevado. Además, es especialmente preocupante cuando las sustancias contaminantes presentan un alto grado de toxicidad y un lento proceso de degradación natural.



## **I.1. NATURALEZA Y TIPOS DE CONTAMINANTES DE LOS SISTEMAS ACUÁTICOS**

Generalmente, la mayor preocupación sobre la calidad de las masas de agua radica en la presencia potencial de contaminantes microbiológicos o químicos. Éstos últimos pueden incluir productos químicos orgánicos e inorgánicos, procedentes de fuentes industriales, agrícolas y/o de la escorrentía urbana. Los contaminantes del agua pueden agruparse en algunas categorías generales, tal y como se resumen en la **Tabla I.1 [Manahan, 2010]**.

Dado que los contaminantes del agua pueden provenir de una variedad de fuentes, es importante tener marcadores de contaminación del agua que sean indicativos de las fuentes. Existen diversos ejemplos según el origen del contaminante. Así, algunos herbicidas pueden servir como marcadores de la escorrentía agrícola. Tradicionalmente se usan las bacterias fecales coliformes provenientes de fuentes domésticas, como marcadores de contaminación microbiana o viral. Potencialmente, los metabolitos humanos endógenos así como los constituyentes de los alimentos, los productos farmacéuticos y los productos de cuidado personal pueden indicar la entrada de contaminación desde fuentes del alcantarillado. La cafeína procedente del consumo de café, té y bebidas de cola puede ser un marcador muy útil de fuentes domésticas de contaminación del agua **[Kurissery y col., 2012]**.

Dentro de la lista de contaminantes, los metales pesados ocupan una posición única, ya que no pueden ser degradables y, una vez depositados, permanecerán en el medio acuático prácticamente sin ningún cambio cualitativo. La gran importancia de este grupo de elementos sobre el medio ambiente radica en su resistencia a la biodegradación, su tendencia a la bioacumulación en los organismos vivos **[Cid y col., 2010]** y, en ciertos casos, a su elevada toxicidad a bajas concentraciones, constituyendo, por tanto, un riesgo muy destacado para los organismos vivos.

Generalmente los metales pesados se encuentran en concentraciones muy bajas en los ecosistemas acuáticos, aunque la actividad humana ha aumentado sus niveles en muchas aguas fluviales, costas y sedimentos procedentes de residuos mineros,

extracción de petróleo y gas, industrias (plaguicidas, pinturas, cuero, tejidos, fertilizantes, medicamentos), vertidos domésticos y residuos agrícolas entre otros.

**Tabla I.1. Tipos generales de contaminantes del agua [Manahan, 2010]**

<b>Fuente de contaminación</b>	<b>Impacto</b>
Metales pesados	Salud, biota acuática, toxicidad
Metales enlazados orgánicamente	Transporte de metales
Radionúclidos	Toxicidad
Contaminantes inorgánicos	Toxicidad, biota acuática
Asbesto	Salud humana
Nutrientes de algas	Eutrofización
Sustancias que dan acidez, alcalinidad, salinidad (en exceso)	Calidad del agua, vida acuática
Contaminantes orgánicos traza	Toxicidad
Medicamentos, anticonceptivos, ...	Calidad de agua, vida acuática
Bifenilos policlorados	Posibles efectos biológicos
Plaguicidas	Toxicidad, biota acuática, fauna
Residuos de petróleo	Efectos en la fauna, contaminación visual
Alcantarillado, residuos humanos y de animales	Calidad del agua, niveles de oxígeno
Materia orgánica medida como demanda bioquímica de oxígeno	Calidad del agua, niveles de oxígeno
Patógenos	Efectos en la salud
Detergentes	Eutrofización, fauna, contaminación visual
Compuestos carcinógenos químicos	Incidencia de cáncer
Sedimentos	Calidad del agua, vida acuática, fauna
Sustancias que dan sabor, olor y color	Calidad del agua, vida acuática, fauna, contaminación visual

## I.2. METALES PESADOS Y MEDIO AMBIENTE: DEFINICIÓN

Los metales están de forma natural en el medio ambiente, son aportados a los suelos y al ciclo hidrológico durante la erosión de rocas ígneas y metamórficas por la acción atmosférica física y química [Garrett, 2000; Jerez y col., 2010]. Algunos metales son naturalmente abundantes y tienen altas concentraciones de fondo (Al, Fe,...), y otros son más escasos, presentando bajas concentraciones naturales (Hg, Cd, Ag, Se,...).

Los metales pesados se definen como aquellos metales cuya densidad es por lo menos cinco veces mayor que la del agua ( $\geq 5 \text{ g/cm}^3$ ) [Flexner, 1987; Lozet y Mathieu, 1991; Fu y Wang, 2011]. Dichos elementos se encuentran de forma natural en la corteza terrestre a diferentes concentraciones [PNUMA, 1980]. El término metal pesado es ampliamente usado por los científicos medioambientales y su definición puede ser controvertida. En ocasiones también se les denomina metales traza, debido a su presencia en pequeñas concentraciones. Burrell [Burrell, 1974] incluye en esta definición a los metales que en la tabla periódica están en el rectángulo definido por Ti, Hf, As y Bi, y además dos elementos no metálicos: Se y Te.

Los llamados metales pesados, pueden considerarse como tal dependiendo a veces de su densidad, de su peso, o de su número atómico, pero también se relaciona con su toxicidad. Los más conocidos y comunes por sus efectos tóxicos y porque son fácilmente medibles en muestras marinas son mercurio, plomo, cadmio, arsénico, níquel, estaño y talio, entre otros. A estos metales, Ansari [Ansari y col., 2004] añade bario, cinc, cobre, hierro y manganeso.

Duffus [Duffus, IUPAC, 2002] realizó en 2002 una revisión de las definiciones que les han ido dando a los metales pesados a lo largo de la historia (Tabla I.2) y llegó a la conclusión de que se puede llamar metal pesado o metal tóxico a un grupo de metales y semi-metales (o metaloides) asociados a la contaminación y que tienen, ellos o sus compuestos, una gran toxicidad o eco-toxicidad. No obstante, su definición parece depender en gran medida del ámbito en el que se aplica.

**Tabla I.2.** Definiciones de "metal pesado" según las propiedades consideradas [Duffus, IUPAC, 2002]

Definición de "metal pesado"	Referencia
<i>En termino de densidad (g/cm<sup>3</sup>)</i>	
Metal con una densidad por encima de 7	Bjerrum, 1936
Metal con una densidad mayor que 4	Van Nostrand, 1964
Metal de alta densidad, especialmente un metal que tiene una densidad de 5,0 o más	Webster, 1976
Metal con una densidad superior a 5	Brewer y Scott, 1983
Metal con una densidad superior a 6	Davies, 1987
Metal de densidad mayor que 4	Grant y Grant, 1987
Metal con una densidad de 5,0 o mayor	Flexner, 1987
Metal cuya densidad es aproximadamente 5,0 o superior	Parker, 1989
Metal con una densidad superior a 5	Lozet y Mathieu, 1991
(En metalurgia) cualquier metal o aleación de alta densidad, especialmente uno que tiene una densidad mayor que 5	Morris, 1992
Metal con una densidad superior a 4,5	Streit, 1994
Elemento con una densidad superior a 6	Thornton, 1995
Metal con una densidad de 3,5 a 5	Falbe y Regitz, 1996
<i>En término de peso atómico</i>	
Metal con un elevado un peso atómico	Holister y Porteous, 1976
Metal con un peso atómico mayor que el del sodio (23)	Bennet, 1986
Metal con un peso atómico mayor que el del sodio (23), que forma jabones con ácidos grasos	Lewis, 1993
Elemento metálico con un peso atómico mayor que 40, excluyendo los alcalinotérreos, alcalinos, lantánidos y actínidos	Rand y col., 1995
Metal con una masa atómica elevada	Porteous, 1996

**Cont. Tabla I.2. Definiciones de "metal pesado" según las propiedades consideradas [Duffus, IUPAC, 2002]**

Definición de "metal pesado"	Referencia
<b>En término de peso atómico</b>	
"Metales pesados" es un término colectivo para los metales de alta masa atómica, particularmente los de transición que son tóxicos y no son metabolizados por los organismos vivos, tales como plomo, mercurio y cadmio	Harrison y Waites, 1998
Metales con un peso atómico relativamente alto, tales como mercurio, plomo, estaño, cadmio	Kemp, 1998
Término bastante ambiguo para cualquier metal, en cualquier forma química, con una masa atómica relativa bastante alta, especialmente los que son significativamente tóxicos (como plomo, cadmio y mercurio). Estos elementos persisten en el medio ambiente y pueden acumularse en tejidos de plantas y animales	Lawrence y col. 1998
Un metal tal como el cadmio, el mercurio y el plomo que tiene relativamente una alta masa atómica relativa. El término no tiene un significado químico preciso	Hunt, 1999
Metal con una alta masa atómica relativa. El término se aplica generalmente a los metales de transición comunes, tales como cobre, plomo o zinc	Oxford Dictionary of Science, 1999
Elemento metálico con un elevado peso atómico, que puede dañar a los seres vivos en concentraciones bajas y tiende a acumularse en la cadena alimentaria, tales como mercurio, cromo, cadmio, arsénico y plomo	EPA, 2000
<b>En término de número atómico</b>	
El bloque rectangular de elementos en la tabla periódica formado por titanio, hafnio, arsénico, bismuto en sus esquinas, pero incluyendo también el selenio y el telurio. Las densidades van desde 4,5 hasta 22,5 g/cm <sup>3</sup>	Burrell, 1974
Cualquier metal con un número atómico más alto que el del calcio	Venugopal y Luckey, 1975
Término utilizado actualmente a menudo para referirse a cualquier metal con número atómico >20, pero no hay acuerdo general	Phipps, 1981

**Cont. Tabla I.2. Definiciones de "metal pesado" según las propiedades consideradas [Duffus, IUPAC, 2002]**

Definición de "metal pesado"	Referencia
<b>En término de número atómico</b>	
En la microscopía electrónica, el metal de alto número atómico utilizado para introducir la densidad de electrones en una muestra biológica mediante la tinción, tinción negativa o sombreado metálico	Walker, 1988
Cualquier elemento con un número atómico mayor que 20	Hale y Margham, 1988
Metal con un número atómico entre 21 (escandio) y 92 (uranio)	Lyman, 1995
<b>En función de las propiedades químicas</b>	
"Metal pesado" es el nombre de una gama de aleaciones muy densas utilizadas para la detección de la radiación. Las densidades van desde 14,5 g/cm <sup>3</sup> para 76% de W, 20% Cu, 4% Ni hasta 16,6 g/cm <sup>3</sup> para 90% W, 7% Ni, Cu 3%	Birchon, 1965
Plomo, cinc, y los metales alcalinotérreos que reaccionan con los ácidos grasos para formar los "jabones de metales pesados" que se utilizan en grasas lubricantes, secadores de pintura y fungicidas	Hampel y Hawley, 1976
Cualquier metal que reacciona fácilmente con ditionona (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N), por ejemplo, zinc, cobre, plomo, etc	Bates y Jackson, 1987
Elementos metálicos de peso molecular relativamente alto	Stevenson y Wyman, 1991
<b>En función de la toxicidad</b>	
Elementos de uso general en la industria y genéricamente tóxicos para los animales y para los procesos aeróbicos y anaeróbicos, pero no todos son densos ni todos son metales. Incluye As, Cd, Cr, Cu, Pb, Hg, Ni, Se, Zn	Scott y Smith, 1981
Término genérico que se refiere al plomo, cadmio, mercurio y otros elementos que en general son relativamente tóxicos en la naturaleza, y a veces a los compuestos que contienen estos elementos. Recientemente, se ha utilizado el término "elementos tóxicos"	Hodgson y col., 1988

### I.3. TOXICIDAD DE METALES PESADOS

Algunos metales pesados son esenciales para la vida y otros son beneficiosos, pero muchos son altamente tóxicos [O'Shea y Geraci, 1999; Jerez y col., 2010]. Desde el punto de vista de la contaminación ambiental, los elementos tóxicos pueden clasificarse según Peterle [Peterle, 1991] como no críticos, tóxicos pero poco disponibles y altamente tóxicos y muy accesibles (Tabla I.3). Las concentraciones en las cuales los metales pueden ser considerados tóxicos cambian de una especie a otra. Un elemento puede ser esencial a niveles bajos para una especie, pero puede ser tóxico para otras. Los criterios para establecer si un metal pesado es esencial o no para el crecimiento normal de las plantas y/o los animales incluyen:

- El organismo no puede crecer ni puede completar su ciclo biológico sin un suministro adecuado del metal.
- El metal no puede ser totalmente reemplazado por otro metal.
- El metal tiene una influencia directa en el organismo y está involucrado en su metabolismo.

Tabla I.3. Elementos tóxicos en el medio ambiente [Peterle, 1991]

No críticos			Tóxicos pero poco disponibles o insolubles			Altamente tóxicos y muy accesibles		
Na	C	F	Ti	Ga	Hf	Be	As	Au
K	P	Li	La	Zr	Os	Co	Se	Hg
Mg	Fe	Rb	W	Rh	Nb	Ni	Te	Cu
Ca	S	Sr	Ir	Ta	Ru	Pd	Pb	Zn
H	Cl	Al	Re	Ba		Ag	Bi	Sn
O	Br	Si				Cd	Sb	Pt
N						Tl		

Algunos metales considerados contaminantes son necesarios en cantidades traza para los animales y plantas. Así pues, debe alcanzarse un equilibrio entre un exceso y un defecto en lo que se refiere a estos metales esenciales. En la Tabla I.4, se muestran

las actividades biológicas para los metales pesados que resultan esenciales para la vida. Estos últimos se incorporan usualmente a las proteínas, algunas de las cuales se comportan como enzimas o catalizadores biológicos. Los efectos producidos por deficiencias y por dosis excesivas de algunos elementos esenciales se reflejan en la **Tabla I.5**. Para los seres vivos, los iones metálicos juegan un doble papel en la fisiología. Mientras que algunos son indispensables para la vida (compuestos inorgánicos esenciales), otros pueden llegar a ser tóxicos en función de la dosis ingerida. En cualquier caso, en altas dosis cualquier metal es tóxico [Repetto, 1995].

**Tabla I.4.** Metales pesados esenciales para la vida en cantidades traza [Orozco-Barrenetxea y col., 2008]

Metal pesado en cantidad traza	Aspecto biológico
Cinc	Participa en la activación de varias enzimas de las plantas y es necesario para la síntesis del ácido indolacético, regulador de crecimiento
Cobalto	Activa muchas enzimas, presente en la vitamina B <sub>12</sub>
Cobre	Esencial en enzimas oxidativas y otras, también en la hemocianina
Cromo	Esencial en animales superiores, relacionado con la actividad de la insulina
Estaño	Esencial en ratas, aunque se desconoce su función
Hierro	Esencial en la hemoglobina y muchas enzimas; es el ión metálico de transición más importante
Manganeso	Activa varias enzimas importantes en el uso de las vitaminas B y C, activa la enzima responsable de la transformación de la glucosa en glicógeno por fosforilación
Molibdeno	Activa varias enzimas, es un componente de dos enzimas que intervienen en el metabolismo del nitrógeno
Vanadio	Esencial para plantas inferiores, ciertos animales marinos y el hombre



**Tabla I.5. Enfermedades producidas por deficiencia o toxicidad de metales esenciales [SGU, 2004]**

<b>Metal</b>	<b>Deficiencia</b>	<b>Toxicidad</b>
Arsénico	Disminución del crecimiento, fertilidad reducida y alta mortalidad perinatal en animales	Tóxico en piel y sistema nervioso. Posible cancerígeno
Bario	Deficiencia en el crecimiento, desarrollo del hígado e incremento en la mortalidad perinatal en animales. Disminución de la actividad enzimática de muchas enzimas	Sistema circulatorio
Cinc	Enanismo. Crecimiento retardado de las gónadas "Acrodermatitis enteropática" (Dermatitis periorificial y acral, alopecia y diarrea)	Fiebre metálica. Diarrea
Cobalto	Anemia. Enfermedad del "Hígado blanco" (Fotosensibilización, anemia y adelgazamiento)	Fallos cardíacos. Policitemia Eritrocitosis (trastorno en el cual aumenta la proporción de glóbulos rojos por volumen sanguíneo)
Cobre	Anemia. Mareos	Envenenamiento crónico de cobre Enfermedad de "Wilson-Bedlinton" (Toxicosis hereditaria por cobre: trastorno progresivo y generalmente mortal del metabolismo del cobre)
Cromo	Trastornos en el metabolismo de la glucosa	Daños en el riñón (Nefritis)
Hierro	Anemia	Hemocromatosis
Magnesio	Disfunción de las gónadas. Convulsiones Malformaciones del esqueleto. Enfermedad del "músculo blanco" (Degeneración no inflamatoria de los músculos esqueléticos)	Ataxia (Trastorno caracterizado por la disminución de la capacidad de coordinar los movimientos)
Selenio	Necrosis del hígado. Distrofias musculares Enfermedad del "músculo blanco"	"Enfermedad alcalina" (Erosión de las articulaciones de los huesos largos, atrofia y cirrosis hepática, atrofia cardíaca, anemia y ascitis). "Ceguera tambaleante" (Parálisis y fallos cardíacos)

La toxicidad de los metales pesados ha sido identificada desde hace muchos años. Así, los médicos griegos y romanos ya diagnosticaban síntomas de envenenamiento agudo por plomo mucho antes de que la toxicología se convirtiera en ciencia. Muchos estudios han demostrado el efecto tóxico de los metales pesados. Estos compuestos son altamente peligrosos y persistentes, por lo tanto pueden acumularse produciendo un serio impacto ambiental. La acumulación de metales pesados en los seres humanos se da por la ingesta de agua, plantas o animales que a su vez están contaminados con dichos metales.

La exposición a metales pesados en determinadas circunstancias es la causa de la degradación y muerte de la vegetación, los animales e incluso de daños directos para el hombre. Hoy en día se conoce mucho más sobre los efectos de estos elementos, cuya exposición está relacionada con problemas de salud. La toxicidad de los metales pesados se basa en que estos influyen de diversas formas en los procesos fisiológicos de los organismos. Si se exceden las cantidades necesarias de ingestión de estos metales pesados se puede llegar a un alto grado de envenenamiento que, según la cantidad, puede llegar a ser crónico. La intoxicación por metales pesados puede dañar e incluso reducir las funciones nerviosas y neurológicas, además de alterar la composición sanguínea o perjudicar órganos como los pulmones, riñones o hígado. Una larga exposición a su consumo puede provocar una degeneración muscular y neurológica progresiva, que pueden incluso derivar en Alzheimer, Parkinson, atrofia muscular o esclerosis múltiple. En general no suelen causar alergias, pero el contacto repetido y prolongado puede ser causa de cáncer [Glanze, 1996].

En general, la toxicidad de los metales se relaciona con las proteínas, muchas de ellas con actividad enzimática, afectando a diversos procesos bioquímicos, membranas celulares y orgánulos. Así, los efectos tóxicos de los metales se ejercen, salvo pocas excepciones, por interacción entre el ión metálico libre y la proteína, por mecanismos específicos entre los que se destacan los siguientes [Ferrer, 2003]:

- Interacción con metales esenciales por similitud electrónica
- Formación de complejos metal-proteína con inactivación de su función
- Inhibición enzimática de proteínas con grupos sulfhidrilo

- Afectación de orgánulos celulares: mitocondrias, lisosomas, microtúbulos.

De esta forma, los seres vivos pueden incorporar en su organismo paulatinamente ciertas concentraciones de metales pesados, que después de cierto tiempo pueden causar enfermedades e intoxicaciones crónicas, dañando tejidos u órganos. Sin embargo, como se ha comentado anteriormente, no todos los metales resultan ser dañinos para los seres vivos. Así, los elementos esenciales, en concentraciones adecuadas, son indispensables para diversas funciones biológicas. Un ejemplo de ello se encuentra en el papel del cobalto, cinc o molibdeno en los sistemas enzimáticos, o el hierro que forma parte de la hemoglobina.

El efecto tóxico de los metales pesados sobre los organismos vivos no sólo depende de la concentración en la que se encuentren presentes, sino también de su especiación química [Batley y col., 2004; Louis y col., 2008]. La toxicidad de estos elementos depende en gran medida de la forma química en la cual son introducidos en el organismo: por lo general los compuestos orgánicos de los metales son más tóxicos que los inorgánicos; por ejemplo, los compuestos orgánicos de mercurio y cadmio son 10-100 veces más tóxicos que los inorgánicos. Sin embargo esto no ocurre así con el arsénico, para el cual las formas orgánicas son menos tóxicas. Incluso el estado de oxidación puede determinar el carácter tóxico de un metal. Un ejemplo notable es el caso del cromo: mientras que el  $\text{Cr}^{3+}$  es un elemento esencial, el  $\text{Cr}^{6+}$  es altamente cancerígeno.

Uno de los casos más divulgados de intoxicación por metales pesados y el cual originó una mayor dedicación al estudio de sus efectos desde el punto de vista toxicológico, fue la célebre contaminación por mercurio en Japón (Minamata) en 1953 [Tomiyasu y col., 2008], debido a la ingestión de peces y moluscos contaminados. Otro caso de gran significación también ocurrió en Japón en el año 1956, en el distrito Toyama cuando una gran población consumió alimentos y aguas contaminados por cadmio del río Jintsu, dando lugar a la enfermedad "Itai-Itai" [Inaba y col., 2005; Nogawa y Suwazono, 2011; Gallego y col., 2012]. La fuente de contaminación por cadmio en el río Jintsu procedía de las actividades mineras de extracción de mineral de cinc, localizadas unos 50 Km arriba de la zona afectada y realizadas por la compañía

minera Makioko Co. Este efecto sobre las poblaciones ribereñas se relacionó con los elevados contenidos de cadmio que se encontraron en el arroz procedente de los arrozales localizados cerca de la mina y en los márgenes del río Jintsu [Kobayashi, 1971]. Se detectaron concentraciones relativamente elevadas en el grano de arroz (0,68 µg/g de peso fresco, unas diez veces superior a la media en arroz producido en otras áreas de Japón) [Moreno-Grau, 2003].

Numerosos estudios han abordado esta cuestión, existiendo unanimidad entre la comunidad científica respecto al carácter tóxico de los metales para los seres vivos. Afectan a las cadenas alimenticias, provocando un efecto de bioacumulación entre los organismos de la cadena trófica debido a la alta persistencia de los metales pesados en el entorno, al no tener, la mayoría de éstos, una función biológica definida. Bastante conocido es el caso en el que se incorporan a la cadena alimenticia a través de los organismos filtrantes presentes en los sedimentos, habiéndose observado en ciertas especies un factor de bioconcentración (cociente entre la concentración del metal contaminante en el organismo vivo y en el agua circundante) de 291500 para Fe y Pb, 200000 para Cr o 2260000 para el Cd [Castro, 2002]. Otros desastres ecológicos producidos por contaminación metálica se recogen en la **Tabla I.6**.

Por todo ello, los metales pesados se han convertido en un tema de gran importancia tanto en el campo ambiental como en el de salud pública [ATSDR, 2007]. Los daños que causan son tan severos y en ocasiones tan ausentes de síntomas previos, que las autoridades ambientales y de salud de todo el mundo ponen mucha atención en minimizar la exposición de la población, en particular de la población infantil, a estos elementos tóxicos.

Se puede diferenciar la mayor o menor peligrosidad de los metales en relación a diversos factores: toxicidad, abundancia, origen y la forma química en la que se encuentran entre otros. Desde el punto de vista legislativo, se utiliza la clasificación en función de la toxicidad. Así, en la **Tablas I.7 y I.8**, se ven ordenados los metales en función del nivel máximo permitido en la legislación europea de aguas potables [Directiva 98/83] y según la Agencia de Protección Ambiental [EPA, 2009], respectivamente. Cuando menor es su valor mayor es la toxicidad del elemento.

**Tabla I.6.** Otros desastres ecológicos producidos por contaminación metálica

Desastre ecológico	Origen	Residuos vertidos	Efectos
<p><b>Caso de Omai</b> (Guyana) 1995. Minería de oro.</p> <p>Contaminantes: Cianuro y metales pesados [Henderson, 1995]</p>	<p>Rotura de dique con colas de minería de oro (Compañía Cambior)</p>	<p>Aguas residuales de lixiviados de minerales extraídos con cianuro, con un elevado contenido en metales pesados, vertidos al río Potaro</p>	<p>Contaminación de las aguas, sedimentos, peces, plantas afectadas y, principalmente afecciones en las personas en contacto con el agua (quemaduras, alergias ...)</p>
<p><b>Caso de Aznalcóllar</b> (España) 1998. Mina de pirita.</p> <p>Contaminantes: As, Zn, Pb, Cd, Cu, Fe, Mn, Sb y Hg [Taggart y col., 2006]</p>	<p>Rotura de la presa de contención que retenía la balsa de decantación procedente de una mina de pirita (Empresa Bolidem-Apirsa)</p>	<p>Lodos y aguas tóxicos vertidos a los ríos Agrio y Guadiamar, llegando al estuario del Guadalquivir</p>	<p>Contaminación en ríos, campos agrícolas, estuario del Guadalquivir, llegando a afectar a algunos acuíferos del Parque Doñana. Especies de invertebrados, peces y aves acuáticas afectadas</p>
<p><b>Caso de Baia Mare</b> (Rumania) 2000. Minería de oro.</p> <p>Contaminantes: Cianuro, Pb, Zn, Cu, Cd y Au [Soldán y col., 2001]</p>	<p>Rotura de la balsa con colas de minería de oro (Mina de Aurul S.A., Compañía Baia Mare)</p>	<p>Agua contaminada con cianuro del lixiviado de la minería y elevados contenidos en metales pesados vertidos al río Tizsa</p>	<p>Contaminación de los suelos de la población de Bozinta, de las aguas del río Lapus, Tizsa y Danubio, afectando plantas, peces y ganado</p>
<p><b>Caso de Hungría</b> 2010. Fábrica de Aluminio.</p> <p>Contaminantes: Metales pesados y sosa [Szépvölgyi, 2011]</p>	<p>Rotura de una balsa de contención en una fábrica de aluminio</p>	<p>Lodo altamente tóxico con óxido ferroso, una mezcla de metales pesados como Pb, además de grandes cantidades de sosa utilizada para extraer el Al</p>	<p>Elevada contaminación alcalina, conteniendo metales pesados, produciendo quemaduras y problemas respiratorios en la población</p>
<p><b>Caso de China</b> 2012. Mina de cadmio.</p> <p>Contaminante: Cd [China, 2012]</p>	<p>Derrame de cadmio de una compañía minera (Jinhe, Guangxi)</p>	<p>Aguas residuales contaminadas con Cd vertidas en el río Liujiang en Liuzhou</p>	<p>La contaminación, causó la muerte de numerosos peces y generó preocupación entre la comunidad por la seguridad del agua potable</p>

**Tabla I.7.** Niveles máximos de metales permitidos en aguas potables por la legislación europea [Directiva 98/83, 1998; Orozco-Barrenetxea y col., 2008]

Metal	Nivel máximo permitido (µg/L)
Zn	5000
Cu	2000
Fe	200
Al	200
Mn	50
Cr	50
Ni	20
Pb	10
Se	10
As	10
Sb	5
Cd	5
Hg	1

A continuación, y de manera resumida, se exponen los efectos de los metales pesados considerados en esta tesis doctoral sobre la salud humana y los organismos acuáticos.

**Hierro:**

El hierro es un nutriente esencial para los organismos vivos y es tóxico a concentraciones altas. La inhalación de polvo que contenga óxido de hierro por vía respiratoria puede originar neumoconiosis, y su ingesta por vía oral hemocromatosis o cirrosis [Ministerio de Trabajo e Inmigración, 1998; Repetto, 1995]. La deficiencia de este metal aumenta la absorción de algunos metales tóxicos, como el cadmio. El hierro es un elemento importante en la vida de los peces, ya que es parte de la hemoglobina de su sangre. Cuando el hierro se presenta con una concentración demasiado alta en el

agua, puede causar daño a los peces. Este metal se puede adherir a las branquias del pez sofocándolo, produciéndole falta de oxígeno y por ende la muerte.

**Tabla I.8.** Niveles máximos de metales permitidos en agua potable por la Agencia de Protección Ambiental Norteamericana [EPA, 2009]

Normas EPA	Metal	Nivel máximo permitido (µg/L)
Normas primarias (obligatorias)	Ba	2000
	Cu	1300
	Cr	100
	Se	50
	Pb	15
	As	10
	Sb	6
	Cd	5
	Be	4
	Hg	2
	Tl	2
Normas secundarias (recomendadas)	Zn	5000
	Fe	300
	Al	200
	Ag	100
	Mn	50

**Plata:**

En niveles muy altos, la plata puede producir Argiria, un descoloramiento azul-grisáceo de la piel y otros órganos. La exposición a niveles altos de plata en el aire produce problemas respiratorios, irritación de la garganta y el pulmón y dolores de estómago. A veces, el contacto de la piel con la plata puede causar reacciones alérgicas leves, tales como sarpullido, hinchazón e inflamación. Concentraciones extremadamente altas pueden causar somnolencia, espasmos, confusión, inconsciencia,

coma o muerte. El contacto del líquido con los ojos puede causar graves daños en la córnea. La ingestión directa de plata puede causar molestias estomacales, náuseas, vómitos, diarrea y narcosis.

Desde el punto de vista ecotoxicológico, la responsable de la toxicidad de la plata es su forma iónica monovalente ( $Ag^+$ ). En los peces de agua dulce, la toxicidad de dicha forma iónica parece estar asociada a su unión con sitios específicos en las branquias, generando una reducción en la incorporación de iones sodio y cloruro mediante la inhibición de la actividad de la enzima sodio-potasio-adenosintrifosfatasa (NaKATPasa), causando una pérdida neta de iones del plasma sanguíneo, fallos circulatorios por el colapso de la regulación del volumen de fluido y, finalmente, la muerte del pez [Wood y col., 1999].

#### *Cinc:*

El cinc es un elemento esencial para el cuerpo humano con numerosos beneficios, entre los que está la síntesis de proteínas, la constitución de metaloenzimas y su participación en el crecimiento, además de ayudar a la prevención de diferentes patologías. La cantidad de cinc diaria recomendada está entre 4 y 16 mg, en función de la edad, el sexo y la forma física. Su déficit puede provocar retraso en el crecimiento, pérdida de apetito, alopecias o lesiones en la piel. La toxicidad del cinc por ingesta excesiva es poco común, pero se ha observado que produce trastornos intestinales, náuseas, vómitos y dolor abdominal [Pérez, 2005; Igwe y Abia, 2006]. Este metal se encuentra incluido en el grupo de elementos no clasificables, respecto a su actividad cancerígena, por la USEPA [IRIS, 2000].

Este elemento traza es un micronutriente esencial para la mayor parte de los organismos y actúa como cofactor en más de 200 enzimas [Vallee y Falchuk, 1993; Moreno-Grau, 2003], pero elevadas concentraciones en el ambiente pueden ser tóxicas. La biota acuática exhibe un amplio rango de sensibilidades al cinc, sin embargo parece no haber diferencias sistemáticas en la toxicidad de esta sustancia entre peces, invertebrados y plantas acuáticas.



**Plomo:**

El plomo no es un elemento esencial para los seres vivos. De la misma manera que el cadmio y el mercurio, su presencia provoca únicamente efectos nocivos en la salud [Pérez, 2005]. Es un metal pesado tóxico que forma complejos con diferentes enzimas para afectar virtualmente todos los pasos en el proceso de la síntesis de la hemoglobina, además de influir en el metabolismo de las porfirinas. Altos niveles de plomo en el ser humano han sido relacionados con encefalopatías, ataques o retrasos mentales [Igwe y Abia, 2006]. La intoxicación aguda por plomo es poco frecuente y tiene lugar por ingestión de compuestos de plomo o inhalación de vapores. Los síntomas de la intoxicación aguda son, en primer lugar, sequedad de boca, sed y gusto metálico, seguidos por náusea, dolores abdominales y vómitos. Los efectos de la intoxicación crónica por plomo pueden producir daños: gastrointestinales, neuromusculares, en el sistema nervioso central, hematológicos, renales y reproductivos. El plomo y sus compuestos están clasificados por la IARC en el grupo de agentes posiblemente cancerígenos para el hombre [IARC, 1987; Moreno-Grau, 2003].

Los compuestos orgánicos de plomo son más tóxicos que sus equivalentes inorgánicos. Cuando se halla en concentraciones elevadas, el plomo puede llegar a ser tóxico para la vida acuática produciendo una disminución de la abundancia de invertebrados bentónicos (reducción de crecimiento, fertilidad y suspensión de la reproducción), desarrollo anormal durante el crecimiento de los organismos así como un aumento en la mortalidad [WHO, 1989].

**Cobre:**

El cobre es otro elemento esencial para el organismo humano, siendo necesario un aporte de 30 a 80  $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{día})$ . En el organismo se encuentra fundamentalmente complejo con proteínas, además de formar parte de importantes enzimas que participan en diversos procesos de oxidación [Pérez, 2005]. La inhalación de polvos, humos o nieblas de sales de cobre puede causar congestión nasal o de las mucosas,

además de ulceración con perforación del tabique nasal [**Ministerio de Trabajo e Inmigración, 1998**]. La exposición aguda por ingestión a sales solubles de cobre, como el sulfato, puede producir necrosis hepática con consecuencia de muerte. La exposición crónica al cobre por ingestión de alimentos conservados en recipientes de este metal se ha asociado a la aparición de lesiones hepáticas en niños [**OMS, 1996; Moreno-Grau, 2003**]. No existen evidencias de efectos cancerígenos del cobre o sus compuestos por ninguna vía de exposición.

En los ambientes acuáticos el cobre existe en sus dos estados de oxidación más estables:  $\text{Cu}^+$  y  $\text{Cu}^{2+}$ . Este elemento traza esencial para la vida puede ser perjudicial para la biota en concentraciones elevadas. El cobre es un biocida de amplio espectro, que puede estar asociado con la toxicidad aguda y crónica, reducción en el crecimiento, interferencia con los procesos de esmoltificación en salmónidos y una amplia variedad de efectos subletales.

#### *Cadmio:*

La toxicidad del cadmio es muy compleja y se basa en las múltiples posibilidades que tiene para formar macromoléculas reemplazando a otros metales que desempeñan un papel importante en la actividad enzimática como el hierro y el cobre. El cadmio deriva sus características toxicológicas de su semejanza química con el cinc. También la afinidad del cadmio con el grupo sulfhídrico conduce a la formación de compuestos con proteínas de cadena corta [**Campos, 1987**].

La presencia de cadmio en el cuerpo humano puede provocar diferentes patologías en función del tipo de exposición y la duración de ésta. Así pues, puede causar desde irritación pulmonar hasta osteoporosis, consecuencia de la acción competitiva con el calcio al impedir la incorporación de este último al hueso. Su acción cancerígena está totalmente demostrada, afectando a pulmones y próstata [**Pérez, 2005**]. Debido a su toxicidad, el cadmio se encuentra sujeto a una de las legislaciones más severas en términos ambientales y de salud humana. Sus efectos tóxicos pueden ser agudos o crónicos. Los efectos agudos más importantes corresponden a la

inhalación de humos y materia particulada con cadmio, que produce neumonitis, edema pulmonar e incluso la muerte, tanto en animales de ensayo como en las personas expuestas. La solubilidad del compuesto de cadmio inhalado influye en su toxicidad. El sulfuro de cadmio, poco soluble, es menos tóxico que otros compuestos más solubles como el óxido, sulfato o cloruro de cadmio.

La exposición crónica a bajas concentraciones de cadmio causa distintos efectos tóxicos, entre los que destacan las enfermedades obstructivas pulmonares crónicas, la degeneración de los túbulos renales, la hipertensión y las alteraciones óseas. La consecuencia más seria del envenenamiento por cadmio es el cáncer de pulmón [IARC, 1993; Kazi y col., 2008; Marano y col., 2012].

El cadmio no es un elemento traza esencial para la biota acuática y puede ser tóxico a concentraciones elevadas [Zhang y col., 2012]. La exposición de los organismos acuáticos a este metal incluye mortalidad aguda, disminución de la abundancia de invertebrados bentónicos, disminución del crecimiento e inhibición de la capacidad reproductiva.

#### *Níquel:*

Se considera nutriente esencial tanto de animales como del ser humano. También forma parte de algunas enzimas, como la ureasa, y es capaz de activar otras como la carboxilasa o la tripsina. El níquel aportado por la dieta no produce aparentemente efectos tóxicos en el hombre. La absorción de níquel es muy baja, sobre todo en los tejidos. Sin embargo, una exposición crónica induce efectos toxicológicos, siendo relacionada con la dermatitis [Pérez, 2005].

Los compuestos de níquel están clasificados por la IARC en el grupo de agentes cancerígenos, mientras que el níquel metálico se encuentra clasificado en el grupo de elementos posiblemente cancerígenos para humanos [IARC, 2000; Moreno-Grau, 2003]. La exposición a compuestos de níquel se ha asociado a la aparición de cáncer del sistema respiratorio en numerosos estudios epidemiológicos realizados en el medio laboral.

En concentraciones altas, el níquel afecta a la supervivencia, el crecimiento y la reproducción de los organismos acuáticos [Khan y Nuggeoda, 2003], también altera el metabolismo de los carbohidratos y proteínas en diversas especies y deteriora las células, lo que unido a su capacidad de disminuir las reservas de glutatión en las células constituye un mecanismo epigenético de carcinogénesis [Krezel y Bal, 2004].

#### ***Cobalto:***

El cobalto es un nutriente esencial que forma parte de la cobalamina o vitamina B<sub>12</sub>, necesaria para la producción de hematíes cuya deficiencia causa anemia perniciosa. Sin embargo, diferentes compuestos de cobalto se describen como altamente tóxicos y/o radiotóxicos para los organismos y para el medio ambiente [Gault y col., 2010; Simonsen y col., 2012]. La mayor parte del cobalto presente en el organismo humano se almacena en los músculos, aunque las concentraciones más elevadas se alcanzan en el tejido adiposo. La ingestión crónica de elevadas cantidades de cobalto en tratamientos contra la anemia estimula la producción de hematíes y se ha relacionado con el desarrollo de bocio, efecto observado en la administración oral de cobalto en dosis de 3-4 mg/Kg para el tratamiento de la anemia falciforme. También se ha descrito la aparición de la miocardiopatía congestiva tras la ingestión de cantidades de cobalto superiores a 10 mg/día. En la exposición profesional a humos con cobalto se ha observado irritación y, en concentraciones superiores a 0,1 mg/m<sup>3</sup>, el desarrollo de neumoconiosis caracterizada por fibrosis pulmonar progresiva. Se ha relacionado la exposición profesional por vía cutánea con la aparición de dermatitis alérgica. El cobalto y sus compuestos están clasificados en el grupo de elementos posiblemente cancerígeno para el hombre [IARC, 2006].

El cobalto es un elemento esencial para el crecimiento de muchas especies de algas marinas, incluyendo diatomeas, dinoflagelados y crisófitas. También es un micronutriente esencial para algunas algas azul-verde llevado a través de las vías fotosintéticas, y es requerido por los microorganismos para la fijación de nitrógeno en leguminosas. Los invertebrados, como la *Daphnia magna*, son más sensibles a la

exposición crónica de cobalto que los peces, siendo utilizados como indicadores de toxicidad de este metal en los sistemas acuáticos [Nagpal, 2004].

**Mercurio:**

El mercurio en forma líquida no es peligroso para la salud. En cambio, su vapor sí es muy perjudicial [Igwe y Abia, 2006]. La inhalación de vapor es la principal vía de entrada de mercurio metálico al organismo; también puede ser absorbido a través del aparato digestivo o por penetración subcutánea. Su efecto toxicológico más destacable es la irritación pulmonar, que puede derivar en edema pulmonar agudo. Casi siempre la intoxicación aguda se debe a la ingestión de sales de mercurio, lo que produce una grave inflamación del tracto gastrointestinal [Ministerio de Trabajo e Inmigración, 1998].

El mercurio no es un elemento traza esencial para el metabolismo de los organismos vivos y puede ser tóxico a concentraciones elevadas para la vida acuática. Los efectos biológicos adversos incluyen letalidad, disminución de la fertilización y alteraciones en el desarrollo de los primeros tiempos de vida de los organismos bentónicos.

Las formas orgánicas del mercurio son más tóxicas que las inorgánicas [Campbell y col., 2003]. El mercurio metálico depositado en los fondos de los ríos, lagos y mares, se transforma en compuestos organometálicos por acción de la bacteria anaeróbica *Metanobacterium amelanskis* [Brack y Mendiola, 2000]. De las sustancias formadas, el metilmercurio ( $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ ) es la especie más peligrosa formando varios derivados extremadamente móviles (volátiles) y tóxicos. Estas bacterias que contienen metilmercurio pueden ser rápidamente adsorbidas por el fitoplancton y de ahí pasar a los organismos superiores.

Por lo que respecta a su comportamiento como agente cancerígeno, los compuestos de metilmercurio se encuentran clasificados por la IARC en el grupo de metales posiblemente cancerígenos para el hombre, mientras que el mercurio elemental y los compuestos de mercurio inorgánico están clasificados en el grupo de

los metales no clasificables en cuanto a su actividad cancerígena, siendo escasa la evidencia disponible tanto en lo referente a personas como a animales de ensayo [IARC, 1993; Moreno-Grau, 2003].

#### I.4. TRANSPORTE Y VÍAS DE ENTRADA DE LOS METALES PESADOS EN EL MEDIO AMBIENTE

A principios del siglo XX, los investigadores comenzaron a establecer los valores medios de los elementos metálicos en la corteza terrestre. Cabe mencionar a modo de ejemplo, los trabajos realizados por Clarke en 1924 y por Goldschmidt en 1933 [Wedepohl, 1995]. Posteriormente, y basados en estos datos, se han desarrollado varias aproximaciones para determinar dichos valores como la de Taylor en 1964 [Taylor, 1964], la de Wedepohl en 1995 [Wedepohl, 1995], los valores dados por Rudnick y Gao [Rudnick y Gao, 2003], y más recientemente los valores determinados por Hu y Gao [Hu y Gao, 2008].

En la **Tabla I.9** se muestran algunos de estos valores ampliamente utilizados en los estudios geoquímicos [Shazili y col., 2007]. Estos valores pueden mostrar una cierta variación de un estudio a otro, debido a varios factores, tales como las dificultades analíticas, o la variación en la composición de la corteza terrestre de una zona a otra [Hu y Gao, 2008]. Además, estos cálculos ignoran la variación geoquímica de los suelos a analizar [Covelli y Fontonlan, 1997], realizándose la determinación en todo el volumen del suelo en lugar de la fracción fina (<63  $\mu\text{m}$ ) [Abraham y Parker, 2008].

Los metales, que forman parte de los minerales de la corteza terrestre, se transportan de forma cíclica a través del medio ambiente (**Figura I.1**). Los procesos de erosión facilitan su eliminación de las rocas, posteriormente los metales emitidos son transportados siguiendo distintos mecanismos, algunos de los cuales incluyen la ingesta y transformación por parte de plantas y microorganismos. Los ciclos biogeoquímicos naturales de los metales se ven frecuentemente alterados por las actividades humanas [Spiro y Stigliani, 2004].

**Tabla I.9.** Abundancia de los elementos en la corteza terrestre según varios autores

Metal	Valores medios de la corteza terrestre, mg/Kg		
	Taylor (1964)	Wedepohl (1995)	Rudnick y Gao (2003)
Al	82300	79780	84176
Cd	0,2	0,1	0,08
Co	25	25	26,6
Cr	100	131	135
Cu	55	26	27
Mn	950	728	670
Ni	75	58,8	59
Pb	12,7	15	11
Zn	70	65	72
Fe	56300	43975	52218
Ti	5700	4063	3398

Teniendo en cuenta este ciclo general, los metales tienen tres vías principales de entrada en el medio acuático:

**Vía atmosférica:** se produce debido a la sedimentación de partículas emitidas a la atmósfera por procesos naturales o antropogénicos (principalmente combustión de materiales fósiles y procesos de fundición de metales).

**Vía terrestre:** producto de la escorrentía superficial de terrenos contaminados (minas, utilización de lodos como abono, lixiviación de residuos sólidos, precipitación atmosférica,...) y otras causas naturales.

**Vía directa:** como consecuencia de los vertidos directos de aguas residuales industriales y urbanas a los cauces fluviales.

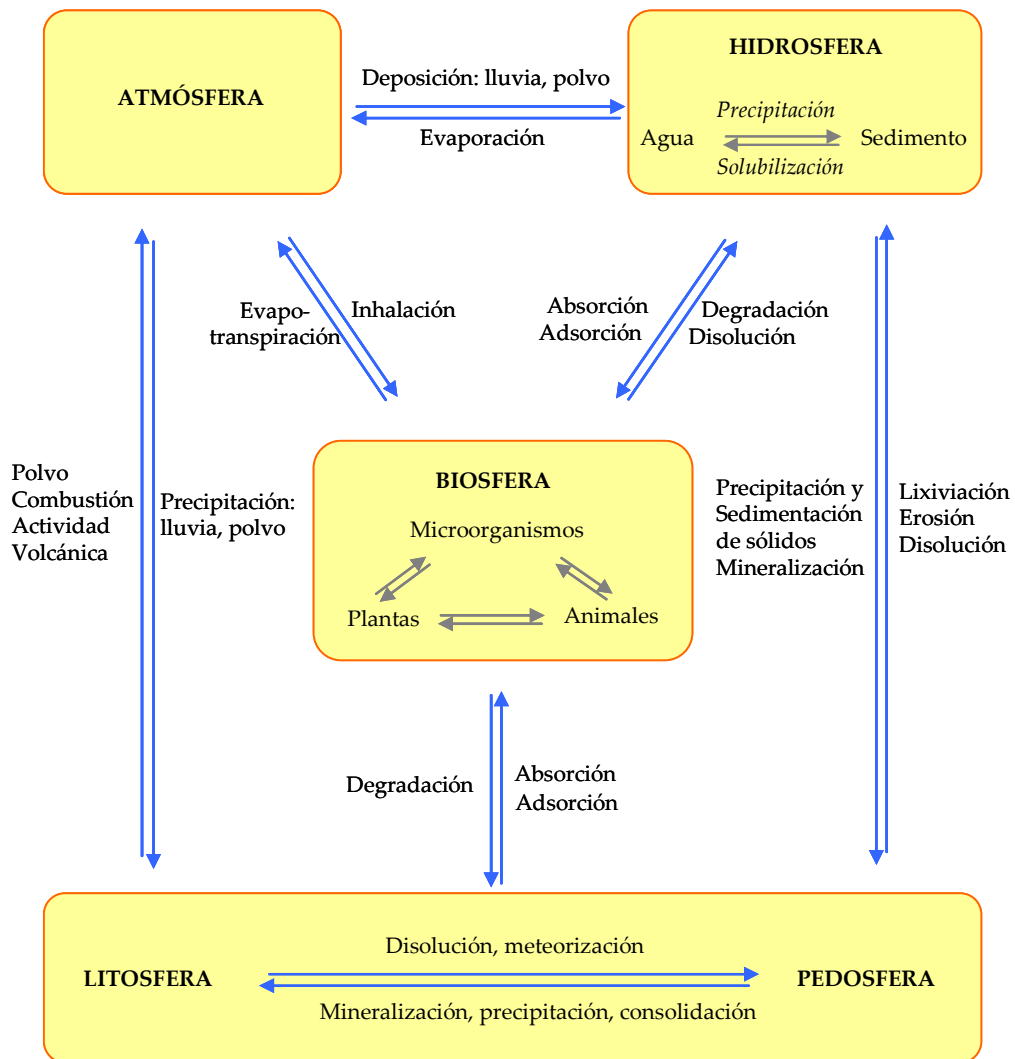


Figura I.1. Ciclo biogeoquímico general de los metales pesados [Rozas, 2001]

#### I.4.1. Origen de los metales pesados en los sistemas acuáticos

Los metales pesados son introducidos en los sistemas acuáticos continentales (ríos, lagos, embalses,...), como resultado de la acción de procesos naturales y/o antropogénicos. Se entiende por contaminación de origen antropogénico la procedente de la intervención humana en el ciclo biogeoquímico de los metales pesados. El uso de



estos elementos ha ido aumentando paralelamente al desarrollo industrial y tecnológico dando lugar a un aumento continuo de la concentración ambiental de algunos de estos metales pesados. Existe una gran diversidad de fuentes antropogénicas emisoras de metales pesados. Las principales fuentes de metales pesados en los sistemas acuáticos son las aguas residuales procedentes de las industrias que utilizan los cauces fluviales como vertederos. A menudo estos vertidos no se someten a procesos de depuración o su tratamiento es inadecuado. En la **Tabla I.10** están recogidos algunos procesos industriales por los que se introducen algunos metales pesados en el medio ambiente.

**Tabla I.10.** Principales fuentes antropogénicas de algunos metales pesados [Domènech y Peral, 2006]

Fuente	Zn	Cu	Pb	Cd	As	Ni	Co	Cr	Sb	Mn	Fe	V	Tl
Extracción de minerales	x	x	x	x	x	x							
Fundición			x	x	x								x
Industria metalúrgica	x	x	x					x	x	x			
Gestión de residuos	x	x	x			x		x		x			
Corrosión metálica	x	x	x	x		x	x	x			x		
Agricultura y ganadería	x	x	x		x					x			
Industria forestal y madera		x			x			x					
Quema de combustibles fósiles	x	x		x	x				x	x		x	
Pigmentos, pinturas y baterías	x	x	x	x	x	x		x	x				

Como puede verse de esta tabla, incluso actividades tradicionales como la agricultura y la ganadería aportan ciertos elementos metálicos al medio ambiente y a los sistemas acuáticos. Los orígenes agrícolas de los metales pesados en las aguas continentales son los causados por la lixiviación de los terrenos de cultivo en los que se ha producido una acumulación previa de dichos elementos debido al uso o abuso de plaguicidas, fertilizantes y desechos orgánicos susceptibles de ser utilizados como abono. En la **Tabla I.11** se muestran los contenidos metálicos de algunos plaguicidas utilizados en agricultura.

**Tabla I.11.** Porcentajes de metales pesados en algunos plaguicidas recomendados en agricultura [Adriano, 1986]

Tipo de plaguicida	Plaguicida	Composición metálica
<i>Insecticida</i>	Aceto-arsenito de cobre "Verde París"	2,3% As; 39% Cu
	Arseniato de plomo	4,2-9,1% As; 11-26% Pb
	Arseniato de calcio	0,8-26% As
	Sulfato de zinc	20-30% Zn
	Cloruro de mercurio (II)	6% Hg
<i>Fungicida</i>	Sulfato de cobre-sales de calcio	4-6% Cu
	Sales de cobre	2-56% Cu
	Sales de metil y fenil mercurio	0,6-6% Hg
	Mancozeb (derivado del ditiocarbamato)	16% Mn; 2% Zn
	Zineb y Ziram (derivados del ditiocarbamato)	1-18% Zn

Los contaminantes de origen ganadero son debidos a los desechos de los animales y a los que proceden del lavado de establos y granjas. La concentración de metales en dichos materiales es variable y depende del tipo de ganado, de la edad del animal, del tipo de establo e incluso del manejo de los desechos [Adriano, 1986]. En la

**Tabla I.12** se muestra la composición típica de metales pesados en los desechos de ganado vacuno y aves de corral.

**Tabla I.12.** Concentraciones de metales pesados en desechos de animales ( $\mu\text{g/g}$ ) [Adriano, 1986]

Metales	Origen de los desechos	
	Vacuno	Aves de corral
Sb	<0,08	0,08-0,1
As	0,88-2,2	0,57-0,66
Cd	0,24-0,28	0,42-0,58
Cu	21-24	4,4-31
Cr	20-30	5-10
Hg	0,03-0,05	0,04-0,06
Pb	2,1-3,3	2,1-90
Zn	86-115	36-158

Las aguas residuales de las ciudades también son portadoras de los metales pesados de origen doméstico. Los vertidos domésticos transportan una amplia gama de metales contenidos en las excreciones humanas, en los restos de los alimentos y en las aguas de lavado. Se puede incluir en este ámbito el aporte de metales a través de los combustibles fósiles que se utilizan en las calefacciones domésticas y los automóviles. Los metales pesados contenidos en las partículas de los humos de combustión (calefacciones, emanaciones gaseosas de automóviles,...) y las originadas por el desgaste de neumáticos, los ferodos de los discos de freno y otros materiales metálicos, pueden llegar a alcanzar los sistemas acuáticos directamente por la precipitación de partículas atmosféricas y lluvia, e indirectamente por la lixiviación de los terrenos donde previamente se produjo la deposición, alcanzando rápidamente los cursos fluviales.

Según algunas estimaciones [Nriagu y Pacyna, 1988, Domènech y Peral, 2006], el total de emisiones de metales traza a la hidrosfera suma un valor de  $10^9$  Kg al año, siendo las principales fuentes de emisión el vertido de aguas residuales domésticas, las plantas térmicas, las fundiciones y las plantas de producción de acero. Los metales que se emiten en mayor cantidad son Mn y Zn, con flujos de emisión estimados de alrededor de  $200-260 \cdot 10^6$  Kg/año. El orden de flujos de emisión de metales a la hidrosfera es el siguiente:

$$\text{Mn} > \text{Zn} > \text{Cr} > \text{Pb} > \text{Ni} \approx \text{Cu} > \text{Se} \approx \text{As} > \text{Sb} > \text{V} \approx \text{Mo} \approx \text{Cd} > \text{Hg}$$

Las emisiones de metales traza al suelo son superiores a las emisiones a la hidrosfera (Tabla I.13). Las estimaciones cifran el flujo de emisión al suelo de alrededor de  $6,5 \cdot 10^9$  Kg/año, y las principales fuentes de emisión son la deposición de cenizas procedentes de la combustión de carburantes fósiles, así como las pérdidas de metales a causa de la corrosión, o su dispersión debida a la aplicación de plaguicidas y fertilizantes que contienen metales en su formulación. Al igual que en la hidrosfera, las principales emisiones corresponden a Mn y Zn, con valores estimados de alrededor de  $1300-1700 \cdot 10^6$  Kg/año. El orden en cuanto a flujos de emisión al suelo es el siguiente:

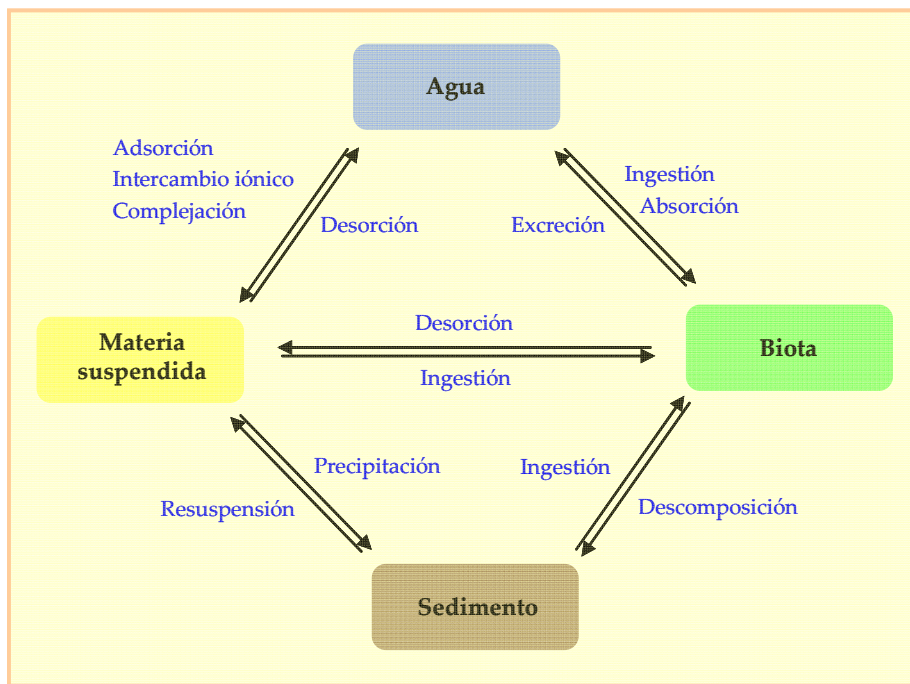
$$\text{Mn} > \text{Zn} > \text{Cu} \approx \text{Cr} > \text{Pb} > \text{Ni} > \text{V} > \text{As} \approx \text{Mo} > \text{Se} > \text{Cd} \approx \text{Sb} > \text{Hg}$$

#### I.4.2. Distribución de metales pesados en el medio acuático

En los sistemas acuáticos naturales han de considerarse una serie de compartimentos, entre los que se incluyen la columna de agua, las partículas sólidas en suspensión, los fondos sedimentarios y rocosos, y la biota. Entre todos ellos se establecen interacciones mediante procesos de transporte de masas, de manera que los metales pueden pasar de un compartimento a otro mediante distintos procesos, lo cual puede conllevar cambios en la composición química de los mismos. En la Figura I.2 se observan, esquemáticamente, los principales procesos físico-químicos mediante los cuales tiene lugar la distribución de los diversos metales en los ecosistemas acuáticos.

**Tabla I.13.** Descargas de metales traza ( $10^6$  Kg/año)  
 [Nriagu y Pacyna, 1988; Mohan y Pittman, 2006]

Metal	Agua	Suelo
Zn	226	1372
Cr	142	896
Pb	138	796
Ni	113	325
Cu	112	954
Se	41	41
As	41	82
Cd	9,4	22
Hg	4,6	8,3



**Figura I.2.** Principales procesos biológico-físico-químicos de transferencia de metales pesados entre los diferentes compartimentos ambientales del medio acuático [Casas y col., 1990]

Es de destacar que el agua de los ríos suele contener mayor concentración de metales pesados que el agua de mar, puesto que los ríos están sujetos a procesos de contaminación antropogénica más directa. Igualmente, en las zonas costeras y de estuarios, las concentraciones de estos metales suelen ser apreciablemente superiores a las presentes en el agua de mar oceánica. Estas concentraciones disminuyen a medida que aumenta la distancia respecto a la costa. Además, las concentraciones de los metales pesados en el agua de mar son muy bajas debido a procesos de precipitación, adsorción y sedimentación que favorecen su fijación en el sedimento. En la **Tabla I.14** aparecen recogidos y comparados los intervalos de concentraciones metálicas encontradas en diferentes muestras acuosas naturales: aguas de río, aguas costeras, bahías y estuarios, y aguas oceánicas [Crompton, 2007], pudiéndose apreciar estas diferencias.

**Tabla I.14.** Concentraciones metálicas medias encontradas en diferentes aguas naturales ( $\mu\text{g/L}$ ) [Crompton, 2007]

Metal	Agua de río	Agua costera, bahía y estuario	Agua de mar oceánica (superficial)
Al	73,0-6300,0	6,39-63,0	0,10-0,60
Cd	0,03-5,0	0,01-5,0	0,01-0,13
Co	0,20-10,0	0,01-0,25	0,03-0,16
Cr	0,05-23,0	0,10-3,30	0,005-1,26
Cu	0,11-200,0	0,07-20,02	0,01-2,80
Fe	1,0-3925,0	1,0-250,0	0,20-322,0
Hg	0,01-1,30	0,001-15,10	0,002-0,08
Mo	0,74-4,10	2,10-200,0	3,20-12,0
Ni	1,5-4,4	0,20-5,3	0,15-0,93
Pb	0,13-60,0	0,04-7,44	0,00004-9,00
Zn	0,86-630,0	0,01-200,0	0,05-10,92

## I.5. ESPECIACIÓN Y BIODISPONIBILIDAD DE METALES PESADOS

Los metales se encuentran en el medio ambiente y especialmente en los medios acuáticos naturales, distribuidos entre una variedad de fases distintas y en diferentes formas químicas en cada fase. En los estudios ambientales se pretende determinar las concentraciones de metal en cada fase e, idealmente, las concentraciones de cada una de las distintas especies químicas en que se halla presente.

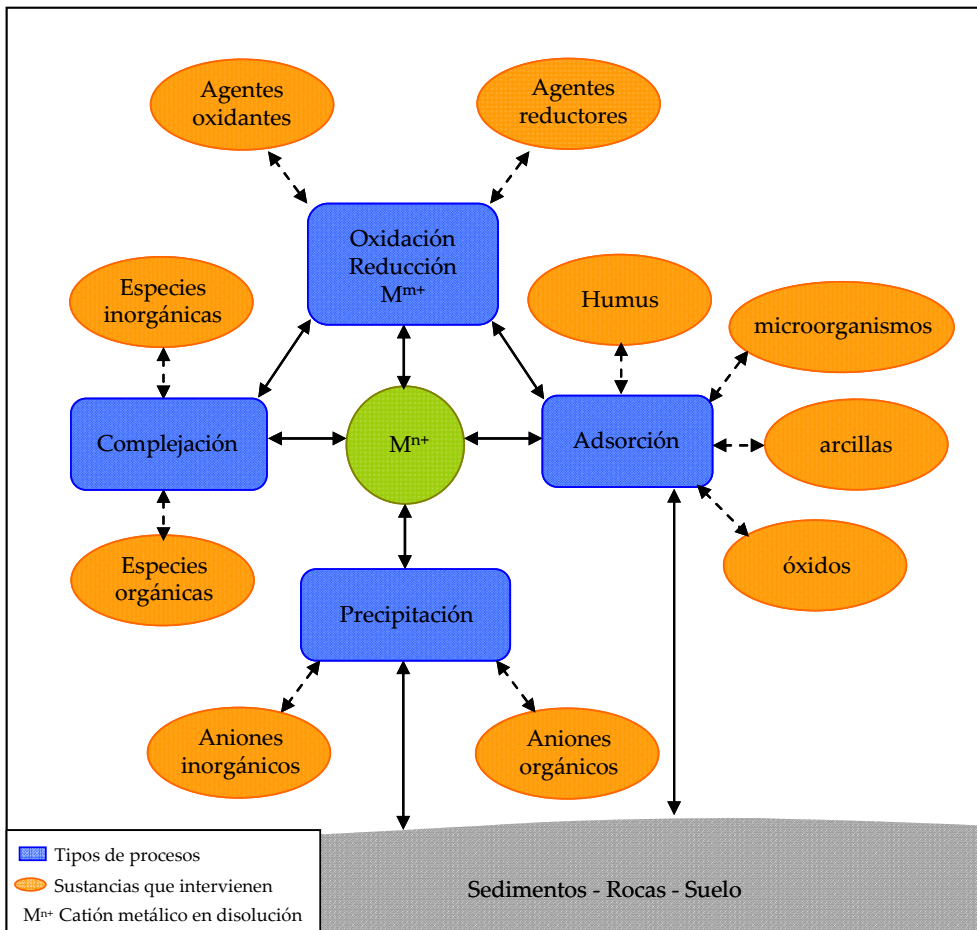
Esta última determinación es importante desde el punto de vista de la toxicidad, es decir, la forma en que se encuentran las especies metálicas en las aguas. Se refiere a un doble aspecto, por un lado la forma física (disolución, dispersión coloidal o suspensión), y por otro, la forma química (estado de oxidación, ión metálico, ión complejo,...). De esta forma surge el concepto de “especiación”, o distribución de un elemento en las forma físicas y químicas en las cuales puede existir en un sistema. En la **Figura I.3**, se representa un esquema muy general de los procesos en los que están implicados los metales en las aguas y que originan las diferentes formas en que pueden encontrarse.

En general, las formas iónicas libres y complejas del metal se encuentran en disolución; los productos de adsorción y de enlace con especies macromoleculares llevan al metal a una forma particulada y coloidal; la formación de especies poco solubles induce, junto a la precipitación de las mismas, la estabilización en algunos de los casos de formas coloidales ( $M_x(OH)_y$ ,  $M_xS_y$ , ...).

La proporción en la que un metal se encuentra en las distintas formas (iones libres-iones complejos, disuelto-suspensión), depende de la naturaleza de cada agua en concreto, ya que es función de la concentración de todas las sustancias presentes y de las condiciones de presión, pH, temperatura y fuerza iónica, que influyen en los valores de las constantes de equilibrio de cada uno de los procesos.

En muchas aguas naturales que no han sido alteradas por intervenciones antropogénicas significativas, existen pocas especies inorgánicas que pueden actuar como ligandos y formar complejos con metales disueltos, a excepción de los carbonatos y bicarbonatos, que dependiendo del pH, se pueden encontrar en mayor o menor

concentración en todas las aguas superficiales. Los cloruros y los sulfatos son también iones comunes en los sistemas naturales, especialmente en agua de mar donde presentan unas concentraciones de 0,029 y 0,56 mol/L, respectivamente.



*Figura I.3. Procesos principales en los que intervienen los cationes metálicos en las aguas [Orozco-Barrenetxea y col., 2008]*

La **Tabla I.15** muestra las principales especies inorgánicas acuosas de algunos iones metálicos importantes en los sistemas acuáticos. Todos los metales forman



acuocomplejos metálicos en medios acuosos, y los que están sujetos a reacciones redox se pueden presentar en diferentes formas dependiendo de las condiciones oxidantes o reductoras del medio en que se encuentren [Van Loon y Duffy, 2011]. En agua de mar, la alta concentración de cloruros y, en menor medida, de sulfatos favorece la formación de complejos de ciertos metales con estos ligandos.

La fase disuelta representa la fuente biodisponible principal de metales para los organismos. Esta fracción está favorecida en condiciones de pH bajo, ya que la solubilidad de la mayoría de los metales aumenta a pH ácido, excepto para As, Mo, Se y Cr, los cuales tienden a estar más disponibles a pH alcalino [Kabata-Pendias, 2000]. En medios de pH moderadamente alto se produce la precipitación de los iones metálicos como hidróxidos o carbonatos, pudiendo disminuir la toxicidad metálica. Así, por ejemplo, al aumentar progresivamente la concentración de iones hidroxilo, el  $\text{Cd}^{2+}$  soluble forma secuencialmente diferentes especies de hidroxilos:  $\text{Cd}(\text{OH})_2$  (precipitado) y  $\text{CdOH}^+$ ,  $\text{Cd}(\text{OH})_3$  y  $\text{Cd}(\text{OH})_4^{2-}$  (solubles). En medios muy alcalinos, pueden nuevamente pasar al agua como hidroxicomplejos [Prieto-Méndez, 2009].

La formación de materia en suspensión está favorecida por un alto pH y alta concentración de materia orgánica particulada. Estas condiciones favorecen que los metales se depositen en los sedimentos del fondo, o que permanezcan como material particulado en suspensión si hay suficiente energía que remueva los sedimentos.

Un punto importante a considerar en la especiación de metales pesados es su complejación con los ligandos orgánicos presentes en el agua. En los océanos, el contenido en materia orgánica disuelta varía desde 1 mg/L en aguas profundas (en unidades COD: carbono orgánico disuelto) hasta valores diez veces superiores en aguas superficiales. Aunque la naturaleza química de esta materia no está bien caracterizada, se pueden citar como ejemplos, ligandos procedentes de la actividad humana, como EDTA, o bien sustancias húmicas y compuestos poliméricos de composición variable que contienen grupos aptos para la coordinación del tipo de alcoholes, fenoles, ácidos carboxílicos,...

**Tabla I.15.** Principales especies inorgánicas de iones metálicos importantes en los sistemas acuáticos <sup>a</sup> [Van Loon y Duffy, 2011].  
(Se consideran sólo las especies inorgánicas, y las moléculas de agua coordinadas no están incluidas en la fórmula)

Metal	pH=4		pH=7		pH=10	
	Condiciones oxidantes	Condiciones reductoras	Condiciones oxidantes	Condiciones reductoras	Condiciones oxidantes	Condiciones reductoras
Sodio	Na <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>
Potasio	K <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>
Magnesio	Mg <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup> , MgSO <sub>4</sub> <sup>0</sup> (sw)	Mg <sup>2+</sup> , MgSO <sub>4</sub> <sup>0</sup> (sw)	Mg <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>
Calcio	Ca <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , CaSO <sub>4</sub> <sup>0</sup> (sw)	Ca <sup>2+</sup> , CaSO <sub>4</sub> <sup>0</sup> (sw)	Ca <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>
Aluminio	Al <sup>3+</sup> , AlOH <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup> , AlOH <sup>2+</sup>	Al(OH) <sub>3</sub> <sup>+</sup> , Al(OH) <sub>3</sub> <sup>0</sup> , Al(OH) <sub>4</sub> <sup>-</sup> (sw)	Al(OH) <sub>3</sub> <sup>+</sup> , Al(OH) <sub>3</sub> <sup>0</sup> , Al(OH) <sub>4</sub> <sup>-</sup> (sw)	Al(OH) <sub>4</sub> <sup>-</sup>	Al(OH) <sub>4</sub> <sup>-</sup>
Vanadio	H <sub>2</sub> VO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , VO <sub>2</sub> <sup>+</sup>	VO <sup>2+</sup>	H <sub>2</sub> VO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , HVO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , V <sub>10</sub> O <sub>28</sub> <sup>6-</sup>	VO <sup>2+</sup>	VO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	
Cromo	HCrO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	CrOH <sup>2+</sup>	HCrO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , CrO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	CrOH <sup>2+</sup> , Cr(OH) <sub>2</sub> <sup>+</sup>	CrO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Cr(OH) <sub>4</sub> <sup>-</sup>
Manganeso	Mn <sup>2+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	MnO <sub>2</sub> <sup>0</sup> , MnCl <sup>+</sup> (sw)	Mn <sup>2+</sup> , MnCl <sup>+</sup> (sw), MnSO <sub>4</sub> (sw)	MnO <sub>2</sub> <sup>0</sup>	MnCO <sub>3</sub> <sup>0</sup>
Hierro	FeOH <sup>2+</sup> , Fe(OH) <sub>2</sub> <sup>+</sup>	Fe <sup>2+</sup>	Fe(OH) <sub>3</sub> <sup>0</sup>	Fe <sup>2+</sup> , FeCO <sub>3</sub> <sup>0</sup>	Fe(OH) <sub>4</sub> <sup>-</sup>	FeOH <sup>+</sup> , Fe(OH) <sub>2</sub> <sup>0</sup>
Cobalto	Co <sup>2+</sup>	Co <sup>2+</sup>	Co <sup>2+</sup> , CoCO <sub>3</sub>	CoCO <sub>3</sub>	Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	CoCO <sub>3</sub>
Níquel	Ni <sup>2+</sup> , NiSO <sub>4</sub> <sup>0</sup>	Ni <sup>2+</sup>	Ni <sup>2+</sup> , NiHCO <sub>3</sub> <sup>+</sup> , NiCl <sup>+</sup> (sw)	Ni <sup>2+</sup> , NiHCO <sub>3</sub> <sup>+</sup> , NiCl <sup>+</sup> (sw)	NiOH <sup>+</sup> , Ni(OH) <sub>2</sub> <sup>0</sup> , NiCO <sub>3</sub>	NiOH <sup>+</sup> , Ni(OH) <sub>2</sub> <sup>0</sup> , NiCO <sub>3</sub>

Cont. Tabla I.15. Principales especies inorgánicas de iones metálicos importantes en los sistemas acuáticos <sup>a</sup> [Van Loon y Duffly, 2011]

Metal	pH=4		pH=7		pH=10	
	Condiciones oxidantes	Condiciones reductoras	Condiciones oxidantes	Condiciones reductoras	Condiciones oxidantes	Condiciones reductoras
Cobalto	$\text{Co}^{2+}$	$\text{Co}^{2+}$	$\text{Co}^{3+}$ , $\text{CoCO}_3$	$\text{CoCO}_3$	$\text{Co}_3\text{O}_4$	$\text{CoCO}_3$
Níquel	$\text{Ni}^{2+}$ , $\text{NiSO}_4^0$	$\text{Ni}^{2+}$	$\text{Ni}^{2+}$ , $\text{NiHCO}_3^+$ , $\text{NiCl}^+$ (sw)	$\text{Ni}^{2+}$ , $\text{NiHCO}_3^+$ , $\text{NiCl}^+$ (sw)	$\text{NiOH}^+$ , $\text{Ni(OH)}_2^0$ , $\text{NiCO}_3$	$\text{NiOH}^+$ , $\text{Ni(OH)}_2^0$ , $\text{NiCO}_3$
Cobre	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Cu}^{2+}$ , $\text{CuOH}^+$ , $\text{CuHCO}_3^+$ , $\text{CuCl}^+$ (sw)	$\text{Cu}^{2+}$ , $\text{CuOH}^+$ , $\text{CuHCO}_3^+$ , $\text{CuCl}^+$ (sw)	$\text{Cu(OH)}_2^0$ , $\text{Cu(CO}_3)_2^{2-}$	$\text{Cu(OH)}_2^0$ , $\text{Cu(CO}_3)_2^{2-}$
Cinc	$\text{Zn}^{2+}$	$\text{Zn}^{2+}$	$\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Zn(OH)}_2^0$ , $\text{ZnCl}^+$ (sw)	$\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Zn(OH)}_2^0$ , $\text{ZnCl}^+$ (sw)	$\text{Zn(OH)}_2^0$	$\text{Zn(OH)}_2^0$
Molibdeno	$\text{HMnO}_4^-$		$\text{HMnO}_4^-$		$\text{HMnO}_4^-$ , $\text{MnO}_2^+$	
Plomo	$\text{Pb}^{2+}$ , $\text{PbSO}_4^0$	$\text{Pb}^{2+}$	$\text{Pb}^{2+}$ , $\text{PbOH}^+$ , $\text{PbHCO}_3^+$ , $\text{PbCl}^+$ (sw), $\text{PbSO}_4^0$ (sw)	$\text{Pb}^{2+}$ , $\text{PbOH}^+$ , $\text{PbHCO}_3^+$ , $\text{PbCl}^+$ (sw), $\text{PbSO}_4^0$ (sw)	$\text{Pb(OH)}_2^0$ , $\text{PbCO}_3$ , $\text{Pb(CO}_3)_2^{2-}$	$\text{Pb(OH)}_2^0$ , $\text{PbCO}_3$ , $\text{Pb(CO}_3)_2^{2-}$
Mercurio	$\text{HgOH}^+$ , $\text{Hg(OH)}_2^0$ , $\text{HgCl}_2^0$	$\text{Hg}^0$	$\text{Hg(OH)}_2^0$ , $\text{HgCl}_2^0$ , $\text{HgCl}_2^+$ (sw), $\text{HgCl}_3^-$ (sw)	$\text{Hg}^0$	$\text{Hg(OH)}_2^0$	$\text{Hg}^0$

<sup>a</sup> Se asume que sulfatos, cloruros y carbonatos están presentes en el agua en concentraciones próximas a las que se encuentran en aguas de río. Las concentraciones de metales también se suponen en el rango de las concentraciones que se encuentran en el agua "normal".

Algunas especies como  $\text{Fe(OH)}_3$  y  $\text{MnO}_2$  son muy insolubles y estarán presentes como coloides, incluso cuando la concentración de metal sea muy pequeña.

<sup>b</sup> La notación (sw) indica que esta especie adicional está presente en agua de mar. Hay que tener en cuenta que el pH del agua de mar es de aproximadamente 8.

La naturaleza de los ligandos con los que se encuentran coordinados los metales puede modificar drásticamente sus propiedades y su toxicidad. Este es el caso, por ejemplo del cobre, que puede actuar como nutriente cuando está formando parte de especies en las que el  $\text{Cu}^{2+}$  está coordinado con ligandos de tipo orgánico, o como un tóxico, si se presenta como ión  $\text{Cu}^{2+}$  libre [Sunda y Gillespie, 1979].

La dureza del agua puede influir fuertemente en la especiación metálica. Si el agua tiene elevada dureza, la toxicidad de los metales disminuye por la formación de carbonatos insolubles, y por la posibilidad de adsorción de los metales en los carbonatos, siendo por tanto menos biodisponibles. Además, el calcio y magnesio, principales cationes que aportan dureza al agua, compiten con los metales pesados por los centros activos de los tejidos de los peces, disminuyendo su potencial tóxico.

Por su parte, el potencial de oxido-reducción es responsable de que el metal se encuentre en estado oxidado o reducido; por ejemplo en condiciones reductoras, el  $\text{Fe}^{3+}$  se transforma en  $\text{Fe}^{2+}$  que es mucho más soluble. En segundo lugar, las condiciones redox pueden afectar indirectamente la movilidad de metales. Así muchos metales están asociados o adsorbidos a hidróxidos de Fe y Mn. Estos hidróxidos no son estables a potenciales redox bajos y se convierten en  $\text{FeS}$  o  $\text{FeCO}_3$  dependiendo de las condiciones químicas; cuando esto ocurre los metales que estaban asociados con los hidróxidos de Fe y Mn se movilizan. En ambientes muy reducidos, el Fe se puede combinar directamente con el  $\text{S}^{2-}$  hasta convertirse en pirita. Cuando en los suelos y sedimentos, que contienen cantidades significativas de pirita, se crean condiciones más oxidantes, el  $\text{S}^{2-}$  se oxida a  $\text{SO}_4^{2-}$  liberando cantidades de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , el suelo se acidifica fuertemente y los metales se hacen muy solubles [Alcalá, 2007]. Puede concluirse, por tanto, que la movilidad de los metales pesados puede verse alterada por cambios en las condiciones redox del medio.

En relación con la biodisponibilidad de un elemento metálico, puede mencionarse también otro aspecto importante relacionado con la geoquímica del hierro. Este metal es considerado un posible nutriente limitante del crecimiento de los organismos planctónicos. No obstante, son muchos los autores que consideran que tan sólo las especies iónicas solubles de Fe pueden ser asimiladas por el fitoplancton, y no

el Fe en forma de especies hidróxido u oxohidróxido, en estado coloidal [Hudson y Morel, 1990], por lo que su especiación tiene un papel muy importante como factor limitante de la producción primaria de los océanos.

Generalmente, para una gran variedad de metales pesados que incluye  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ , se observa que la biodisponibilidad está íntimamente relacionada con la especiación. Para estos metales, la distribución entre cationes hidratados  $\text{M}^{n+}$ , y las formas  $\text{ML}_i$ , complejadas con ligandos en disolución ( $\text{L}_i$ ) ejerce una influencia principal en los ciclos biogeoquímicos de los océanos.

## I.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE METALES PESADOS EN AGUAS NATURALES

Los metales pesados son tóxicos para la biota y la salud humana y se suelen encontrar en las aguas naturales en pequeñas cantidades. La importancia de determinar las concentraciones de estos elementos y su control dentro de los límites legislativos, explican el gran interés actual por desarrollar nuevas técnicas que puedan detectar los niveles tan bajos de estas sustancias en varios tipos de matrices, frecuentemente complejas. Las técnicas más comúnmente empleadas para el análisis de metales a nivel de trazas son: las técnicas electroquímicas como la potenciometría y la voltamperometría; las técnicas de espectroscopía atómica como la espectroscopía de absorción atómica con llama (FAAS), con horno de grafito (GFAAS) o de emisión con plasma (ICP-AES); la espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS); los métodos por Rayos-X y los métodos nucleares [Brown y Milton, 2005; Buffle y Tercier-Waeber, 2005].

En la **Tabla I.16**, se detallan diversos métodos analíticos estándares incluidos en algunas normativas para la determinación de metales pesados en aguas potables, superficiales, subterráneas y costeras, así como vertidos sobre aguas superficiales, que en muchos casos son aplicables a las aguas naturales.

Aunque, en la mayoría de los casos están presentes en muy pequeñas cantidades, algunos de estos elementos pueden determinarse directamente con una técnica apropiada: Fe y Mn (colorimetría), Cd, Pb, Cu y Zn (voltamperometría de

redisolución anódica, ASV) y Hg (espectroscopía de absorción atómica con vapor frío, CVAAS). En ciertos casos, por la baja concentración o por el efecto de la matriz que puede dificultar la medida directa de los elementos metálicos, es necesario antes de proceder a la determinación, efectuar una preconcentración por medio de una de las técnicas siguientes: cambio iónico, coprecipitación, extracción líquido-líquido, extracción en fase sólida, precipitación y electrodeposición o tecnología de membranas que se basa en una separación de especies mediante el acoplamiento en continuo de una extracción líquido-líquido seguida de un proceso de reextracción líquido-líquido.

A la vista de la importancia que tiene el estudio de los metales pesados en los ecosistemas acuáticos, la primera parte de esta tesis doctoral se centrará en el desarrollo de nuevas metodologías de preconcentración y cuantificación de metales pesados a nivel de trazas en aguas naturales mediante formación de quelatos metálicos, como son los sistemas de membranas líquidas (ML) y la voltamperometría de redisolución adsorptiva (AdSV). Para llevar a cabo ambas metodologías, se ha hecho uso de ligandos orgánicos complejantes tipo hidrazonas, de interesantes propiedades quelatantes para numerosos iones metálicos [Suvarapu y col., 2012].

En la segunda parte de la tesis, se realizarán estudios de Química Analítica Aplicada, mediante estudios de monitorización de metales de interés medioambiental en el litoral marroquí afectado por vertidos urbanos e industriales de la ciudad de Tánger (Marruecos). Para ello, se han caracterizado y evaluado las concentraciones de contaminantes prioritarios en muestras de aguas y sedimentos y se han comparado con los niveles de fondo naturales y niveles guía, determinando su carácter tóxico y disponibilidad.

**Tabla I.16. Métodos analíticos recomendados por diferentes normativas para la determinación de metales pesados y elementos traza en aguas**

Metal	Métodos para Aguas Potables		Métodos para Aguas Costeras	Métodos para Vertidos en Aguas Superficiales	Métodos para Aguas Subterráneas y Superficiales
	ORDEN 01/07/1987 Métodos Oficiales de análisis [BOE 09/07/1987] [Fernández-Turiel y col., 1995]	DECRETO 14/1996 Reglamento de calidad de aguas litorales [BOJA 08/02/1996, Andalucía]			
Ag		FAAS, GFAAS, STGFAA, ICP-AES, ICP-MS, DCP			GFAAS, FAAS, ICP-AES, ICP-MS
Al	GFAAS	GFAAS, FAAS			FAAS, ICP-AES, ICP-MS
As		HGAAS, GFAAS	AAS, MAS	ICP-AES, AAS	GFAAS, ICP-AES, ICP-MS
B			AAS, MAS		
Ba			AAS		GFAAS, FAAS, ICP-AES, ICP-MS
Be			AAS		GFAAS, FAAS, ICP-AES, ICP-MS
Cd	GFAAS	GFAAS, FAAS	AAS, P		GFAAS, FAAS, ICP-AES, ICP-MS
Co			AAS		GFAAS, FAAS, ICP-AES, ICP-MS
Cr		GFAAS, FAAS, MAS	AAS, MAS	ICP-AES, AAS	GFAAS, FAAS, ICP-AES, ICP-MS
Cu	FAAS	GFAAS, FAAS	AAS, MAS, P	ICP-AES, AAS	GFAAS, FAAS, ICP-AES, ICP-MS

Cont. Tabla I.16. Métodos analíticos recomendados por diferentes normativas para la determinación de metales pesados y elementos traza en aguas

Metal	Métodos para Aguas Potables			Métodos para Aguas Costeras	Métodos para Vertidos en Aguas Superficiales	Métodos para Aguas Subterráneas y Superficiales
	ORDEN 01/07/1987 Métodos Oficiales de análisis [BOE 09/07/1987] [Fernández-Turiel y col., 1995]	DECRETO 14/1996 Reglamento de calidad de aguas litorales [BOJA 08/02/1996, Andalucía]	EPA Final Methods Update Rule 18/05/2012 [EPA, 2012]			
Fe	GFAAS		FAAS, GFAAS, STGFAA, ICP-AES, ICP-MS, DCP, C	AAS, MAS		GFAAS, FAAS, ICP-AES, ICP-MS
Hg		CVAAS	CVAAS, CVAFS	AAS (CV)		ICP-MS
Ir			FAAS, GFAAS, ICP-MS			
Mg			FAAS, ICP-AES, ICP-MS, DCP, Gr, Cr			FAAS, ICP-AES, ICP-MS
Mn	GFAAS		FAAS, GFAAS, STGFAA, ICP-AES, ICP-MS, DCP, C	AAS, MAS		GFAAS, FAAS, ICP-AES
Mo			FAAS, GFAAS, ICP-AES, ICP-MS, DCP			GFAAS, FAAS, ICP-AES
Ni		GFAAS, FAAS	FAAS, GFAAS, STGFAA, ICP-AES, ICP-MS, DCP	AAS	ICP-AES, AAS	GFAAS, FAAS, ICP-AES, ICP-MS
Os			FAAS, GFAAS			
Pb		GFAAS, FAAS, MAS	FAAS, GFAAS, STGFAA, ICP-AES, ICP-MS, DCP, C, V	AAS, P	ICP-AES, AAS	GFAAS, FAAS, ICP-AES, ICP-MS
Pd			FAAS, GFAAS, ICP-MS, DCP			
Rh			FAAS, GFAAS, ICP-MS			
Pt			FAAS, GFAAS, ICP-MS, DCP			
Ru			FAAS, GFAAS, ICP-MS			



Cont. **Tabla I.16.** Métodos analíticos recomendados por diferentes normativas para la determinación de metales pesados y elementos traza en aguas

Metal	Métodos para Aguas Potables			Métodos para Aguas Costeras	Métodos para Vertidos en Aguas Superficiales	Métodos para Aguas Subterráneas y Superficiales
	ORDEN 01/07/1987 Métodos Oficiales de análisis [BOE 09/07/1987] [Fernández-Turiel y col., 1995]	DECRETO 14/1996 Reglamento de calidad de aguas litorales [BOJA 08/02/1996, Andalucía]	EPA Final Methods Update Rule 18/05/2012 [EPA, 2012]			
<b>Sb</b>		GFAAS, FAAS	FAAS, GFAAS, STGFAA, ICP-AES, ICP-MS			GFAAS, FAAS, ICP-AES, ICP-MS
<b>Se</b>		HGAAS, GFAAS	GFAAS, STGFAA, ICP-AES, ICP-MS, HGAAS	AAS	ICP-AES, AAS	GFAAS, ICP-AES, ICP-MS
<b>Sn</b>			FAAS, GFAAS, STGFAA, ICP-AES, ICP-MS			FAAS
<b>Sr</b>						FAAS, ICP-AES
<b>Ti</b>			FAAS, GFAAS, ICP-AES, ICP-MS, DCP			
<b>Tl</b>			FAAS, GFAAS, STGFAA, ICP-AES, ICP-MS			GFAAS, FAAS ICP-AES, ICP-MS
<b>U</b>			FAAS, GFAAS, ICP-MS, DCP			
<b>V</b>			FAAS, GFAAS, STGFAA, ICP-AES, ICP-MS, DCP, C	AAS		GFAAS, FAAS, ICP-AES, ICP-MS
<b>Zn</b>	FAAS	GFAAS, FAAS, MAS	FAAS, GFAAS, ICP-AES, ICP-MS, DCP, C	AAS, MAS	ICP-AES, AAS	GFAAS, FAAS, ICP-AES, ICP-MS

**AAS:** Espectroscopia de absorción atómica; **AFS:** Espectroscopia de fluorescencia atómica; **C:** Colorimetría; **Cr:** Cromatografía; **CV:** Vapor frío; **DCP:** Plasma de corriente continua; **F:** Llama; **GF:** Horno de grafito; **Gr:** Gravimetría; **HG:** Generación de hidruros; **ICP-AES:** Espectroscopia de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente; **ICP-MS:** Espectrometría de masa con plasma acoplado inductivamente; **MAS:** Espectrofotometría de absorción molecular; **P:** Polarografía; **STGFAA:** Espectroscopia de absorción atómica con horno de grafito con estabilización de temperatura; **V:** Voltamperometría

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

**Abrahim** G. M. S. y Parker R. J. Assessment of heavy metal enrichment factors and the degree of contamination in marine sediments from Tamaki Estuary, Auckland, New Zealand. *Environmental Monitoring Assessment* 136, 227-238 (2008).

**Adriano** D. C. Trace elements in the terrestrial environment. Springer-Verlag, New York, pp 533 (1986).

**Alcalá** M. C. G. La Contaminación de Suelos y Aguas: Su Prevención con Nuevas Sustancias Naturales. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Sevilla, España (2007).

**Ansari** T. M., Marr I. L. y Tariq N. Heavy Metals in Marine Pollution Perspectiva- A Mini Review. *Journal of Applied Sciences* 4, 1-20 (2004).

**ATSDR**. Resumen de salud pública. División de Toxicología ToxFAQs™. Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades. [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_toxfaqs\\_index.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_toxfaqs_index.html) (2007).

**Bates** R. L. y Jackson J. A. (Eds.). Glossary of Geology, 3<sup>rd</sup> ed., American Geological Institute, Alexandria, VA (1987).

**Batley** G. E., Apte S. C. y Stauber J. L. Speciation and bioavailability of trace metals in water: Progress since 1982. *Australian Journal of Chemistry* 57, 903-919 (2004).

**Bennet** H. (Ed.). Concise Chemical and Technical Dictionary, 4<sup>th</sup> enlarged ed., Edward Arnold, London (1986).

**Birchon** D. Dictionary of Metallurgy, Newnes, London (1965).

**Bjerrum** N. Bjerrum's Inorganic Chemistry, 3<sup>rd</sup> Danish ed., Heinemann, London (1936).

**Brack** A. y Mendiola C. Ecología del Perú. Editorial Bruño. Lima-Perú, 494-497 (2000).

**Brewer** M. y Scott T. (Eds.). Concise Encyclopaedia of Biochemistry, Walter de Gruyter, Berlin (1983).

**Brown** R. J. C. y Milton M. J. T. Analytical techniques for trace element analysis: an overview. *Trends in Analytical Chemistry* 24, 266-274 (2005).

**Buchman** M. F. NOAA Screening Quick Reference Tables, NOAA OR&R Report 08-1, Seattle WA, Office of Response and Restoration Division, National Oceanic and Atmospheric Administration, 34 pages (2008).

**Buffle J.** y Tercier-Waeber M. L. Voltammetric environmental trace-metal analysis and speciation: from laboratory to in situ measurements. *Trends in Analytical Chemistry* 24, 172-191 (2005).

**Burrell D. C.** Atomic Spectrometric Analysis of Heavy Metal Pollutants in Water, Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, Michigan (1974).

**Campbell L. M., Osano O., Hechey R. E. y Dixon D. G.** Mercury in fish from three rift valley lakes (Turkana, Naivasha and Baringo), Kenya, East Africa. *Environmental Pollution* 125, 281-286 (2003).

**Campos H.** Los metales pesados, su contaminación y sus efectos tóxicos. Contaminación Ambiental, Medellín, Colombia. 9, 63-70 (1987).

**Casas J. M., Rubio R. y Rauret R.** Estudio de los sedimentos del río Cardener II. Contaminación por metales pesados. *Tecnología del Agua* 74, 17-24 (1990).

**Castro J. y Monroy M.** Parámetros Geológicos de Protección Ambiental, Geoquímica, Minería y Medio Ambiente. San Luis de Potosí, México. UNESCO-INGEMMET-Perú (2002).

**China (2012).** <http://www.telegraph.co.uk/earth/environment/9053671/20-tons-of-cadmium-poisoning-vital-Chinese-river.html>

**Cid N., Ibáñez C., Palanques A. y Prat N.** Patterns of metal bioaccumulation in two filter-feeding macroinvertebrates: Exposure distribution, inter-species differences and variability across developmental stages. *Science of the Total Environment* 408, 2795-2806 (2010).

**Covelli S. y Fontonlan G.** Application of a normalisation procedure in determining regional geochemical baselines. *Environmental Geology* 30, 34-45 (1997).

**Crompton T. R.** Toxicants in aqueous ecosystems. A Guide for the Analytical and Environmental Chemist. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg (2007).

**Davies B. E.** Consequences of environmental contamination by lead mining in Wales. *Hydrobiologia* 49, 213-220 (1987).

**Directiva 98/83/EC.** Estándares europeos de la calidad del agua potable (1998).

**Domènech X. y Peral J.** Química Ambiental de sistemas terrestres. Editorial Reverté, S.A. Loreto, Barcelona (2006).

- Dsikowitzky L.**, Nordhaus I., Jennerjahn T. C., Khrycheva P., Sivatharshan Y., Yuwono E. y Schwarzbauer J. Anthropogenic organic contaminants in water, sediments and benthic organisms of the mangrove-fringed Segara Anakan Lagoon, Java, Indonesia. *Marine Pollution Bulletin* 62, 851-862 (2011).
- Dsikowitzky L.**, Schwarzbauer J. y Littke R. The anthropogenic contribution to the organic load of the Lippe River (Germany). Part II: quantification of specific organic contaminants. *Chemosphere* 57, 1289-1300 (2004).
- Duffus J. H.** Heavy Metals-A meaningless term? (IUPAC Technical Report). International Union of Pure and Applied Chemistry. Chemistry and Human Health Division Clinical Chemistry Section, Commission on Toxicology. *Pure and Applied Chemistry* 74, 793-807 (2002).
- Echols K. R.**, Meadows J. C. y Orazio C. E. Pollution of Aquatic Ecosystems II: Hydrocarbons, Synthetic Organics, Radionuclides, Heavy Metals, Acids, and Thermal Pollution. *Encyclopedia of Inland Waters* 120-128 (2009).
- EPA U.S.** EPA's Terms of Environment. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC (2000).
- EPA U.S.** National Primary and Secondary Drinking Water Regulations. U.S. Environmental Protection Agency. 816-F-09-004 (2009).
- EPA.** Final Methods Update Rule. Environmental Protection Agency. *Federal Register* 77 (2012).
- Falbe J.** y Regitz M. (Eds.). Roempp Chemie Lexikon, Georg Thieme, Weinheim (1996).
- Fernández-Turiel J. L.**, Llorens-Benito J. F., López-Soler A., Cabañas-Albero M. y Querol-Carceller X. La calidad de las aguas continentales españolas. Estado actual e investigación: Problemática de los metales pesados en aguas continentales naturales y recicladas, Ed. Alvarez Cobelas M. y Cabrera Capitán F., 307 pp. (1995).
- Ferrer A.** Intoxicación por metales. ANALES Sis San Navarra 26 (Suplemento 1), 141-153 (2003).
- Flexner S. B.** (Ed.). The Random House Dictionary of the English Language, 2<sup>nd</sup> ed., Random House, New York (1987).
- Fu F.** y Wang Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. *Journal of Environmental Management* 92, 407-418 (2011).
- Gallego G. M.**, Pena L. B., Barcia R. A., Azpilicueta C. E., Iannone M. F., Rosales E. P., Zawoznik M. S., Groppa M. D. y Benavides M. P. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: Insight into regulatory mechanisms. *Environmental and Experimental Botany* 83, 33-46 (2012).

- Garrett** R. G. Natural source of metals of the environment. *Human and Ecological Risk Assessment* 6, 945-963 (2000).
- Gault** N., Sandre C., Poncy J. L., Moulin C., Lefaix J. -L. y Bresson C. Cobalt toxicity: Chemical and radiological combined effects on HaCaT keratinocyte cell line. *Toxicology in Vitro* 24, 92-98 (2010).
- Glanze** W. D. Mosby Medical Encyclopedia, Revised Edition. St. Louis, MO: C.V. Mosby (1996).
- Grant** R. y Grant C. (Eds.). Grant and Hackh's Chemical Dictionary, McGraw-Hill, New York (1987).
- Hale** W. G. y Margham J. P. (Eds.). Collins Dictionary of Biology, Collins, Glasgow (1988).
- Hampel** C. A. y Hawley G. G. Glossary of Chemical Terms, Van Nostrand Reinhold, New York (1976).
- Harrison** P. y Waites G. The Cassell Dictionary of Chemistry, Cassell, London (1998).
- Henderson** S. Environmental disaster declared after cyanide spill. *Marine Pollution Bulletin* 30, 630 (1995).
- Hodgson** E., Mailman R. B. y Chambers J. E. (Eds.). Macmillan Dictionary of Toxicology, Macmillan, London (1988).
- Holister** G. y Porteous A. (Eds.). The Environment: A Dictionary of the World Around Us, Arrow, London (1976).
- Hu** Z. y Gao S. Upper crustal abundances of trace elements: A revision and update. *Chemical Geology* 253, 205-221 (2008).
- Hudson** R. J. M. y Morel F. M. M. Iron transport in marine phytoplankton: Kinetics of cellular and medium coordination reactions. *Limnology and Oceanography* 35, 1002-1020 (1990).
- Hunt** A. Dictionary of Chemistry, Fitzroy Dearborn, London (1999).
- IARC**. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Ethylbenzene. International Agency for Research on Cancer. Lyon, France (2000).
- IARC**. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Cobalt in hard-metals and cobalt sulfate, gallium arsenide, indium phosphide and vanadium pentoxide. International Agency for Research on Cancer. Lyon, France (2006).
- IARC**. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. International Agency for Research on Cancer. Lyon, France (1987).

- IARC.** Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Cadmium and cadmium compounds. International Agency for Research on Cancer. Lyon, France (1993).
- Igwe J. C. y Abia A. A.** A bioseparation process for removing heavy metals from waste water using biosorbents. *African Journal of Biotechnology* 5, 1167-1179 (2006).
- Inaba T., Kobayashi E., Suwazono Y., Uetani M., Oishi M., Nakagawa H. y Nogawa K.** Estimation of cumulative cadmium intake causing Itai-Itai disease. *Toxicology Letters* 159, 192-201 (2005).
- IRIS.** Carbon tetrachloride (56-23-5), <http://www.epa.gov/ngispgm3/iris>, US Environmental Protection Agency (2000).
- Janssen C. R., Heijerick D.G., De Schamphelaere K. A. C. y Allen H. E.** Environmental risk assessment of metals: Tools for incorporating bioavailability. *Environmental International* 28, 793-800 (2003).
- Jerez S., Motas M., Cánovas R. Á, Talavera J., Ramón Miguel Almela R. M. y del Río A. B.** Accumulation and tissue distribution of heavy metals and essential elements in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from Spanish Mediterranean coastline of Murcia. *Chemosphere* 78, 256-264 (2010).
- Kabata-Pendias A.** Trace elements in soils and plants. 3<sup>rd</sup> Edition. CRC Press, Inc. Boca Raton. USA. pp. 365, 413 (2000).
- Kazi T. G., Memon A. R., Afridi H. I., Jamali M. K., Arain M. B., Jalbani N. y Sarfraz R. A.** Determination of cadmium in whole blood and scalp hair samples of Pakistani male lung cancer patients by electrothermal atomic absorption spectrometer. *Science of The Total Environment* 389, 270-276 (2008).
- Kemp D. D.** The Environment Dictionary, Routledge, London (1998).
- Khan S. y Nugegoda D.** Australian freshwater crayfish *Cherax destructor* accumulates and depurates nickel. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 70, 308-314 (2003).
- Kobayashi N.** Fertilized sea urchin eggs as an indicatory material for marine pollution bioassay, preliminary experiments. *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory* 18, 379-408 (1971).
- Krezel A. y Bal W.** Contrasting effects of metal ions on S-nitrosoglutathione, related to coordination equilibria: GSNO decomposition assisted by Ni(II) vs stability increase in the presence of Zn(II) and Cd(II). *Chemical Research in Toxicology* 17, 392-403 (2004).
- Kurissery S., Kanavillil N., Verenitch S. y Mazumder A.** Caffeine as an anthropogenic marker of domestic waste: A study from Lake Simcoe watershed. *Ecological Indicators* 23, 501-508 (2012).

**Lawrence E.**, Jackson A. R. W. y Jackson J. M. (Eds.). Longman Dictionary of Environmental Science, Addison Wesley Longman, Harlow (1998).

**Lewis R. J. Sr.** (Ed.). Hawley's Condensed Chemical Dictionary, 12<sup>th</sup> ed., Van Nostrand Reinhold, New York (1993).

**Louis Y.**, Cmok P., Omanović D., Garnier C., Lenoble V., Mounier C. y Pižeta I. Speciation of trace metals in natural waters: The influence of an adsorbed layer of natural organic matter (NOM) on voltammetric behaviour of copper. *Analytica Chimica Acta* 606, 37-44 (2008).

**Lozet J.** y Mathieu C. Dictionary of Soil Science, 2<sup>nd</sup> ed., A. A. Balkema, Rotterdam (1991).

**Lyman W. J.** Transport and transformation processes, in Fundamentals of Aquatic Toxicology, Rand G. M. (Ed.), Taylor & Francis, Washington DC (1995).

**Manahan S. E.** Environmental chemistry, 9th Ed., CRC Press, United States of America (2010).

**Marano K. M.**, Naufal Z. S., Kathman S. J., Bodnar J. A., Borgerding M. F., Garner C. D. y Wilson C. L. Cadmium exposure and tobacco consumption: Biomarkers and risk assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 64, 243-252 (2012).

**Ministerio de Trabajo e Inmigración.** Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. Capítulo 63 - Metales: propiedades químicas y toxicidad. Gunnar Nordberg (1998).

**Mohan D.** y Pittman Jr. C. U. Activated carbons and low cost adsorbents for remediation of tri- and hexavalent chromium from water. Review. *Journal of Hazardous Materials* B137, 762-811 (2006).

**Moreno-Grau M. D.** Toxicología Ambiental. Evaluación de riesgo para la salud humana. Mc Graw Hill/ Interamericana de España, S. A. U. Aravaca, Madrid (2003).

**Morris C.** (Ed.). Academic Press Dictionary of Science and Technology, Academic Press, San Diego (1992).

**Nagpal N. K.** Technical Report-Water Quality Guidelines for Cobalt. Ministry of Water, Land and Air Protection. Victoria B.C. (2004).

**Nogawa K.** y Suwazono Y. Itai-Itai Disease, Encyclopedia of Environmental Health, 308-314 (2011).

**Nriagu J. O.** y Pacyna J. M. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature* 333, 134-139 (1988).

**O'Shea** T. J. y Geraci J. R. Toxicology in marine mammals. In: Fowler M. E., Miller R. E. (Eds.), *Zoo & Wild Animal Medicine: Current Therapy*. W.B. Saunder Company, Philadelphia, pp. 412-478 (1999).

**OMS** (Organización Mundial de la Salud). Report on trace elements in human nutrition and human health, Ginebra (1996).

**Orozco- Barrenetxea** C., Pérez-Serrano A., González-Delgado M. N., Rodríguez-Vidal F. J. y Alfayate-Blanco J. M. Contaminación Ambiental, Una visión desde la Química. 1ª edición, 5ª reimpresión. International Thomson Editores Spain, Paraninfo, Madrid (2008).

**Oxford Dictionary of Science**, 4<sup>th</sup> ed., Oxford University Press, Oxford (1999).

**Parker** S. P. (Ed.). *McGraw-Hill Dictionary of Scientific and Technical Terms*, 4th ed., McGraw-Hill, New York (1989).

**Pérez** G. G. Disponibilidad de metales tóxicos en sitios contaminados. Aplicaciones y limitaciones de la fraccionación en la determinación de gradientes de polución. Tesis, Universitat Autònoma de Barcelona. Abril (2005).

**Peterle** T. J. *Wildlife Toxicology*. Van Nostrand Reinhold, New York (1991).

**Phipps** D. A. Chemistry and biochemistry of trace metals in biological systems, in *Effect of Heavy Metal Pollution on Plants*, Lepp N. W. (Ed.), Applied Science Publishers, Barking (1981).

**PNUMA**. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. "El Estado del Medio Ambiente" (1980).

**Porteous** A. *Dictionary of Environmental Science and Technology*, 2<sup>nd</sup> ed., Wiley, Chichester (1996).

**Prieto-Méndez** J., González-Ramírez C. A., Román-Gutiérrez A. D. y Prieto-García F. Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 10, 29-44 (2009).

**Rand** G. M., Wells P. G. y McCarty L. S. Introduction to aquatic toxicology, in *Fundamentals of Aquatic Toxicology*, G. M. Rand (Ed.), Taylor & Francis, Washington, DC (1995).

**Repetto** M. *Toxicología avanzada*. Madrid, Ediciones Díaz de Santos S. A. p. 293-359 (1995).

**Rodríguez-Mercado** J. J. y Altamirano-Lozano M. A. Vanadio: Contaminación, Metabolismo y Genotoxicidad. *Revista internacional de contaminación ambiental* 22, 173-189 (2006).



- Rozas H.** Estudio de la Contaminación por Metales Pesados en la Cuenca del Llobregat. Tesis Doctoral, Instituto de Ingeniería minera y Recursos Naturales. Universitat Politècnica de Catalunya (2001).
- Rudnick R. L.** y Gao S. Composition of the continental crust. In *The crust* (R. L. Rudnick), pp. 1-64. Treatise on Geochemistry (eds. H. D. Holland and K. K. Turekian), Elsevier-Pergamon, Oxford (2003).
- Scott J. S.** y Smith P. G. *Dictionary of Waste and Water Treatment*, Butterworths, London (1981).
- SGU: Geological Survey of Sweden, Uppsala, Sweden. *TERRÆ* 1, A1-A8 (2004).
- Shazili N. A. M.**, Kamaruzzaman B. Y., Antonia N. A., Zauyah S., Bidai J., Shamsudin A. A. y Kamil A. R. Interpretation of anthropogenic input of metals in the south China sea bottom sediments off Terengganu (Malaysia) coastline using Al as reference element. *Aquatic Ecosystem Health and Management* 10, 47-56 (2007).
- Simonsen L. O.**, Harbak H. y Bennekou P. Cobalt metabolism and toxicology-A brief update. *Science of the Total Environment* 432, 210-215 (2012).
- Soldán P.**, Pavonič M., Bouček J. y Jiří Kokeš J. Baia Mare Accident-Brief Ecotoxicological Report of Czech Experts. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 49, 255-261 (2001).
- Spiro T.** y Stigliani W. *Química Medioambiental*. Ed. Pearson-Prentice Hall, 2ª edición S. A. Madrid (2004).
- Stevenson L. H.** y Wyman B. *The Facts on File Dictionary of Environmental Science*, Facts on File, New York (1991).
- Streit B.** *Lexikon der Okotoxikologie*, VCH, Weinheim (1994).
- Sunda W. G.** y Gillespie P. A. The response of a marine bacterium to cupric ion and its use to estimate cupric ion activity in seawater. *Journal of Marine Research* 37, 761-777 (1979).
- Suvarapu L. N.**, Seo Y. K., Baek S. O. y Ammireddy V. R. Review on Analytical and Biological applications of Hydrazones and their Metal Complexes. *E-Journal of Chemistry* 9, 1288-1304 (2012).
- Szépölggyi J.** A chemical engineer's view of the red mud disaster. *Nachrichten aus der Chemie* 59, 8-11 (2011).
- Taggart M. A.**, Figuerola J., Green A. J., Mateo R., Deacon C., Osborn D. y Meharg A. A. After the Aznalcoóllar mine spill: Arsenic, zinc, selenium, lead and copper levels in the livers and bones of five waterfowl species. *Environmental Research* 100, 349-361(2006).
- Taylor S. R.** Abundance of chemical elements in the continental crust: a new table. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 28, 1273-1285 (1964).

- Thornton I.** Metals in the Global Environment-Facts and Misconceptions, ICME, Ottawa (1995).
- Tomiyasu T., Matsuyama A., Eguchi T., Marumoto K., Oki K. y Akagi H.** Speciation of mercury in water at the bottom of Minamata Bay, Japan. *Marine Chemistry* 112, 102-106 (2008).
- Vallee B. L. y Falchuk K. H.** The biochemical basis of zinc physiology. *Physiological Reviews* 73, 79-118 (1993).
- Van Loon G. W. y Duffy S. J.** Environmental Chemistry, a global perspective. Oxford University Press, New York (2011).
- Van Nostrand.** International Encyclopaedia of Chemical Science. Van Nostrand, New Jersey (1964).
- Venugopal B. y Luckey T. D.** Toxicology of nonradio-active heavy metals and their salts, in Heavy Metal Toxicity, Safety and Hormology, Luckey T. D., Venugopal B. y Hutcheson D. (Eds.), George Thieme, Stuttgart (1975).
- Walker P. M. B. (Ed.)**. Chambers Science and Technology Dictionary, Chambers/ Cambridge, Cambridge (1988).
- Webster.** 3<sup>rd</sup> New International Dictionary, Merriam, Chicago (1976).
- Wedepohl K. H.** The composition of the continental crust. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 59, 1217-1232 (1995).
- Wood C. M., Playle R. C. y Hogstrand C.** Physiology and modeling of mechanisms of silver uptake and toxicity in fish. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18, 71-83 (1999).
- Wright D. A.** Environmental Toxicology. Cambridge University Press, New York, pp. 334-346 (2001).
- Zhang H., Cao H., Meng Y., Jin G. y Zhu M.** The toxicity of cadmium (Cd<sup>2+</sup>) towards embryos and pro-larva of soldatov's catfish (*Silurus soldatovi*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 80, 258-265 (2012).



## *CAPÍTULO II*

---

### *DESARROLLO DE UNA MEMBRANA LÍQUIDA DE VOLUMEN PARA EL ANÁLISIS DE HIERRO EN AGUA DE MAR*

---



## ***CAPÍTULO II. DESARROLLO DE UNA MEMBRANA LÍQUIDA DE VOLUMEN PARA EL ANÁLISIS DE HIERRO EN AGUA DE MAR***

---

### **RESUMEN**

La determinación de diversas especies químicas a niveles de trazas y ultratrazas, puede ser llevada a cabo con instrumental sofisticado de alto coste [Avino y col., 2008; El-Taher, 2010; Veguería y col., 2012; Biller y Bruland, 2012]. Sin embargo, dichos instrumentos no se encuentran disponibles en la mayoría de los laboratorios de control. En países subdesarrollados o en vías de desarrollo, se ha producido una asimetría entre la creciente necesidad de disponer de resultados de calidad y la disponibilidad de instrumental de alta tecnología. En este contexto, la utilización de técnicas de preconcentración, previas a la medición instrumental, es una buena alternativa para evitar el uso de instrumental sofisticado y además, constituye una etapa previa para niveles de concentración inferiores a los límites de detección.

El uso de membranas líquidas constituye una técnica novedosa y eficaz para la preconcentración y separación de iones metálicos en muestras acuosas medioambientales. Los procesos de separación mediante membranas líquidas se basan

en la utilización de una barrera semipermeable entre dos fases, que impiden el contacto íntimo entre ellas, pero que permiten el paso selectivo de especies a su través.

En este trabajo se propone un método para la determinación de hierro a niveles de trazas, el cual es simple, fácil de implementar en cualquier laboratorio, se utiliza instrumental de bajo coste y los resultados cumplen con los criterios de calidad analítica. El método está basado en la utilización de un sistema de membrana líquida que permite su aplicación en aguas naturales de carácter salino, realizando la separación y/o preconcentración del metal en continuo.

Así, se ha desarrollado y optimizado un nuevo método que permite la separación y preconcentración de hierro en muestras acuosas, previo a su análisis por técnicas espectroscópicas convencionales como la espectroscopía de absorción atómica con llama o con horno de grafito. Para ello se utiliza una membrana líquida de volumen que contiene como agente transportador el ligando quelatante 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH).

La membrana líquida desarrollada es aplicable a la determinación de hierro, con la particularidad de que esta membrana tiene capacidad para discernir entre los dos estados de oxidación del hierro. Así, como se verá más adelante solo ocurre el transporte del ión  $\text{Fe}^{3+}$ , mientras que el  $\text{Fe}^{2+}$  no puede ser preconcentrado. Este hecho permite la especiación de este metal en las muestras de agua, de gran interés en análisis medioambiental.

## II.1. MEMBRANAS LÍQUIDAS

La contaminación de las aguas por metales pesados tiene especial importancia, ya que debido a sus características tóxicas y de persistencia en el medio originan problemas medioambientales graves cuya solución supone en ocasiones un reto desde el punto de vista tecnológico [Kimbrough y col., 1999; Prego y Cobelo-García, 2004; Wang y col., 2010; Annibaldi y col., 2011]. Por otro lado, este tipo de contaminantes suele tener asociado un elevado valor añadido que hace deseable su recuperación con fines de reutilización en alguna aplicación industrial [Samaniego y col., 2007; Lee y

col., 2010; Rounaghi y col., 2011]. Por tanto, es deseable el desarrollo de tecnologías que permitan tratar las aguas naturales contaminadas de acuerdo a los objetivos de tratamiento establecidos pero que al mismo tiempo, permitan la recuperación selectiva de compuestos de interés.

Tradicionalmente, los efluentes acuosos se han tratado mediante combinación de procesos físico-químicos (coagulación, floculación, precipitación, filtración,...) y tratamientos biológicos. Sin embargo la mayor parte de este tipo de tratamientos no permite reducir la concentración de los metales hasta los valores requeridos. Además, los procesos convencionales de tratamiento no suelen ser selectivos hacia la especie objetivo dificultando su recuperación. Otro inconveniente de muchos de los procesos de tratamiento tradicionales es la producción de residuos secundarios que requieren tratamiento, acondicionamiento o deposición en vertedero [Kentish y Stevens, 2001].

En los últimos años, se han propuesto tecnologías de extracción-reextracción con disolventes [Rydberg y col., 2004; Silva y col., 2005; Stankovic y col., 2008; Jha y col., 2012], de intercambio iónico [Dabrowsky y col., 2004; Panayotova y col., 2007; Vinodh y col., 2011; Shaidan y col., 2012], de adsorción [Suhas y Ribeiro, 2007; Demirbas, 2008; Tofighy y Mohammadi, 2011] así como, las tecnologías de membranas como tecnologías alternativas para el tratamiento de las aguas con metales pesados superando las limitaciones de los procesos convencionales [Zhang y col., 2011; Vernekar y col., 2012; Min y col., 2012].

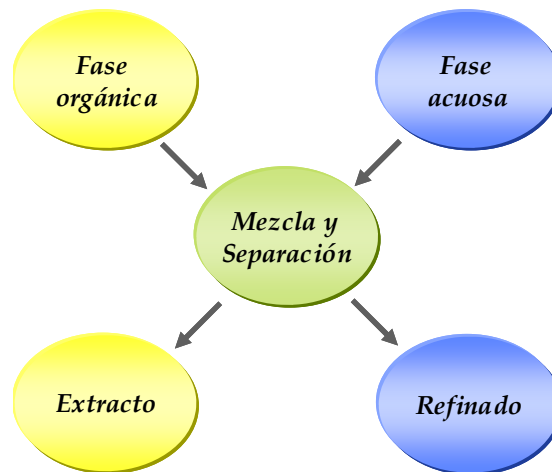
### **II.1.1. Extracción líquido-líquido**

La extracción líquido-líquido es una operación básica de transferencia de materia, se basa en la distribución de uno o varios solutos entre dos fases líquidas mutuamente inmiscibles, una acuosa y otra orgánica, cuando éstas se encuentran en contacto íntimo. La fase acuosa suele ser la que contiene la sustancia a separar y la fase orgánica es la que permite la extracción mediante el contacto directo. La fase extractante puede ser un único disolvente orgánico, mezcla de disolventes o la disolución de un agente extractante en un disolvente o en una mezcla de disolventes.



La eficiencia del extractante depende de la afinidad de éste por el soluto a extraer, de la relación de volúmenes de las dos fases, del número de extracciones y de la insolubilidad del agente extractante en la fase donde inicialmente esté el soluto a transferir. La densidad de la fase orgánica frente a la acuosa determina la técnica utilizada para separar posteriormente las fases.

Una vez realizada la extracción y el soluto está repartido entre las dos fases, la fase orgánica donde se encuentra el extractante y el soluto extraído se denomina *extracto*, mientras que la fase de donde se ha extraído el soluto y por tanto, la concentración de éste es menor, se denomina *refinado*. El proceso más común consiste en la transferencia del soluto de la fase acuosa a la fase orgánica, para su separación y/o preconcentración (**Figura II.1**).



**Figura II.1.** Esquema de transferencia de masa en la extracción líquido-líquido con dos fases

La extracción puede producirse tanto por un proceso físico como químico. En el primer caso, la extracción se produce por difusión o por solubilización del soluto en la fase orgánica. En cambio, en un proceso químico se producen reacciones químicas entre el soluto y el extractante.

Desde el punto de vista operativo, la extracción líquido-líquido puede realizarse mediante tres tipos generales de técnicas: *simple* que consiste en realizar una única equilibración entre la fase acuosa y la fase orgánica, *repetitiva* que consiste en poner en contacto repetidas veces la fase que contiene la sustancia a separar con porciones frescas de la fase orgánica, y en *contracorriente* en la que ambas fases se mueven en direcciones opuestas y están en contacto continuo [Valcárcel y Gómez, 1990].

La técnica de extracción líquido-líquido tiene numerosas aplicaciones [Valcárcel y Gómez, 1990] en el campo de la Química Analítica:

✦ **Como técnica de separación.** Éste es quizás su principal campo de aplicación. Así, se ha empleado para separar gran variedad de especies, entre ellas: cationes metálicos (en forma de compuesto covalente, quelato neutro o par iónico), aniones inorgánicos (en estado elemental, en forma ácida, como heteropoliácido o par iónico) y compuestos orgánicos.

✦ **Para la concentración de trazas.** Cuando el método analítico utilizado para la determinación de una especie no tiene suficiente sensibilidad para detectar y/o cuantificar concentraciones bajas de dicha especie, se puede aplicar la extracción líquido-líquido como etapa previa de preconcentración.

✦ **Para realizar estudios teóricos de equilibrios en disolución.** La utilización de esta técnica permite también determinar constantes de equilibrio, tales como constantes de acidez, constantes de estabilidad de complejos y constantes de productos de solubilidad.

Después de un proceso de separación, es a veces aconsejable realizar una segunda etapa denominada *reextracción*, que consiste en la transferencia de la especie a analizar desde la fase orgánica en la que se encuentra actualmente a un medio más idóneo donde pueda ser determinada. Para ello, se debe poner en contacto el extracto orgánico con una disolución acuosa de diferente naturaleza que la inicial, de forma que la especie de interés pase completamente a la disolución acuosa. Las condiciones que deben emplearse para que dicho proceso tenga lugar dependerán de la extracción específica realizada previamente, ya que aquellas condiciones que favorecen la

extracción son opuestas a las que favorecen la reextracción [Valcárcel y Silva, 1984]. Es un proceso de utilidad analítica, que se ha aplicado fundamentalmente con los fines siguientes [Valcárcel y Silva, 1984]:

✦ **Para aumentar la selectividad** del propio proceso de extracción líquido-líquido, aplicándolo a la eliminación de las especies interferentes extraídas junto con el analito que se pretende determinar, o separando la especie de interés del resto de la fase orgánica.

✦ **Para eliminar el exceso de reactivo en la fase orgánica.** La cantidad en exceso del agente extractivo en la fase orgánica, usada para favorecer la extracción del analito, puede ser motivo de interferencia al aplicar el método instrumental de determinación del analito.

✦ **Para cambiar la naturaleza del disolvente.** Para aumentar la seguridad laboral del analista, también es útil este procedimiento, ya que a veces el disolvente orgánico en el que ha sido extraído el analito no puede ser utilizado en un método analítico en particular. Esto ocurre por ejemplo, cuando se emplean disolventes halogenados, los cuales no deben utilizarse en Espectroscopía de Absorción Atómica con llama.

A pesar de la importancia y utilidad que tiene esta técnica, presenta algunos inconvenientes como son:

- La posible formación de emulsiones que en algunos casos son difíciles de romper [Ali y Aboul-Enein, 2006].
- La utilización de volúmenes grandes de disolventes orgánicos tóxicos y/o inflamables, no cumpliendo algunos de los principios de la Química Verde (principios 1, 2 y 8) [de la Guardia y Armenta, 2011].
- La dificultad de automatización.
- Las pérdidas o posibilidades de contaminación que se pueden producir cuando se emplean los dos pasos de extracción-reextracción.

En este sentido y como metodología alternativa, cabe destacar que en los últimos años la tecnología de membranas líquidas, que se basa en una separación de especies

mediante el acoplamiento en continuo de una extracción líquido-líquido seguida de un proceso de reextracción líquido-líquido, es una de las técnicas de preconcentración con grandes posibilidades de desarrollo y crecimiento, por su potencial amplio campo de aplicabilidad para la separación, preconcentración y/o determinación de metales pesados en muestras ambientales.

### **II.1.2. Membranas líquidas**

Las membranas líquidas constituyen un tipo especial de membranas debido a que el material que ejerce de barrera entre dos fluidos es otro fluido. Así, una membrana líquida es esencialmente una barrera líquida que separa dos disoluciones inmiscibles con ella y a través de la cual se realiza un transporte de especies químicas [Bartsch y Way, 1996; López-López y col., 2010]. Son comparables a los sistemas tradicionales de extracción líquido-líquido pero con la ventaja de que los procesos de extracción y reextracción se producen simultáneamente y no es necesario que se alcance el equilibrio [Araki y Tsukube, 1990]. Además, como consecuencia del estado físico de la membrana, los fenómenos de transferencia de masa suelen ser más rápidos ya que se facilitan los procesos de permeación, disolución y difusión.

El concepto de membrana líquida fue introducido por Li y col. hacia fines de los años sesenta para la separación de componentes orgánicos de sus mezclas [Li, 1971]. Su aplicación a la recuperación de metales fue primero descrita por Cussler y col. [Cussler y col., 1974].

Las membranas líquidas resultan especialmente válidas para su aplicación en la separación y preconcentración de especies metálicas en aguas naturales de naturaleza salina como son las aguas de estuario y de mar [Aouarram y col., 2007], ya que por su diseño permiten eliminar el efecto de la matriz que suele interferir en el análisis de metales. Por otro lado, esta tecnología combina la extracción con disolventes con un proceso de reextracción en un único paso, lo que se traduce en un ahorro de tiempo y manipulación de muestra. Esta última ventaja es muy importante en la determinación

de elementos traza metálicos, cuya cuantificación puede verse enormemente afectada por procesos de contaminación durante el tratamiento de la muestra.

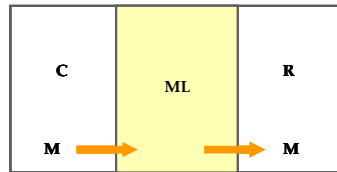
De forma similar a los procesos de extracción líquido-líquido convencionales que utilizan agentes extractantes, se han desarrollado membranas líquidas en las que la adición de un agente extractante o transportador soluble en la fase membrana aumenta la selectividad del transporte por sus interacciones específicas y reversibles con las especies a transportar. El menor volumen de la disolución orgánica que se suele emplear permite que se utilicen reactivos extractantes que resultarían demasiado caros para un sistema de extracción líquido-líquido convencional.

### II.1.3. Tipos de membranas líquidas

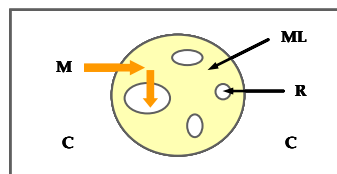
Existen diferentes configuraciones de membranas líquidas entre las que destacan las membranas líquidas de volumen MLV (*Bulk Liquid Membrane, BLM*), las membranas líquidas de emulsión MLE (*Emulsion Liquid Membrane, EML*) y las membranas líquidas soportadas MLS (*Supported Liquid Membrane, SLM*) [Kislik, 2010], aunque éstas últimas pueden entenderse en cierta manera como membranas compuestas ya que se forman a partir de la combinación de un soporte microporoso inerte y una disolución orgánica que se mantiene gracias a las fuerzas capilares generadas en los poros del soporte. Sin embargo, como el elemento que realmente separa las dos fases es el líquido que constituye la membrana, es más adecuado clasificarlas como membranas líquidas [de Benito, 2006]. En la **Figura II.2** se muestra un dibujo esquemático de cada uno de los tipos principales de membranas anteriormente citados, aplicado a la separación y transporte de una especie metálica.

Las membranas líquidas de volumen MLV consisten en un volumen de fase orgánica que contiene usualmente un agente extractante y que separa a dos fases acuosas, de alimentación y receptora, actuando de membrana líquida del sistema. Las membranas líquidas de volumen son de gran utilidad a escala de laboratorio debido a la facilidad de su manejo. Son frecuentemente usadas para investigar transportadores novedosos, sistemas transportadores o mecanismos de transporte. Su función suele ser

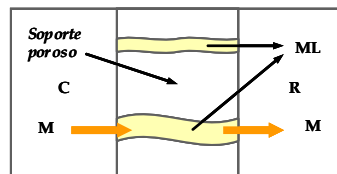
la de optimizar las condiciones del transporte, y realizar estudios de caracterización y modelización de procesos de separación selectivos.



1. Membrana líquida de volumen



2. Membrana líquida de emulsión



3. Membrana líquida soportada

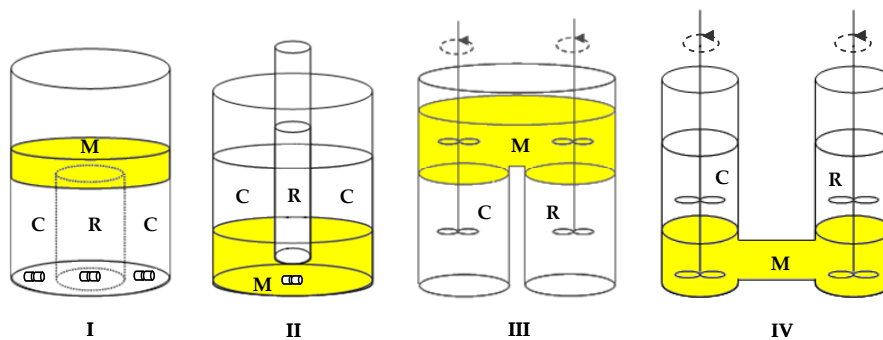
**Figura II.2.** Tipos de membranas líquidas comúnmente usadas. C: Fase cargada; R: Fase receptora; M: Metal; ML: Membrana líquida [Kislik, 2010]

El disolvente, que constituye la parte fundamental de las MLV en tanto que es el medio en el que se disolverá el agente extractante y que separará las fases acuosas de carga y recuperación, debe cumplir la condición básica de ser altamente inmisible con las fases acuosas. Los disolventes orgánicos más utilizados en las membranas líquidas son los hidrocarburos de cadena larga como el undecano, el dodecano o el queroseno y compuestos más polares como el éter dihexílico o el dioctil fosfato. Hay que tener

presente que el disolvente orgánico influye de manera importante en la estabilidad de la membrana y también en la permeación del soluto.

El transporte de analitos desde la fase de alimentación hasta la fase receptora depende de diversos factores que incluyen parámetros físicos y químicos. En el primer caso los parámetros implicados son la velocidad de agitación de las dos fases y el área de contacto de la membrana líquida. Respecto a los parámetros químicos, se pueden diferenciar los de las dos disoluciones acuosas y los de la fase membrana. En el caso de la fase acuosa puede afectar el pH, la presencia de una disolución reguladora, su concentración y la fuerza iónica. Además, en el caso de la disolución cargada influye el tipo de soluto y su concentración; para la disolución receptora el tipo de coión o contraión presente en ella y su concentración.

Para construir este tipo de membranas se han utilizado distintos tipos de celdas, algunas de ellas se muestran en la **Figura II.3**: I y III para disolventes orgánicos de menor densidad que el agua, mientras que II y IV para disolventes de mayor densidad que el agua, siendo la primera celda la que se ha empleado en el presente trabajo.



**Figura II.3.** Distintos tipos de celdas utilizadas para la configuración de membrana líquida de volumen (M: membrana líquida; C: disolución cargada; R: disolución receptora)

Recientemente, se está extendiendo la aplicación de esta metodología en la determinación de metales traza en aguas naturales. Así, Ramkumar y col. [Ramkumar y col., 2002] han empleado este sistema para la determinación de trazas de uranio,

Mendiguchía y col. [Mendiguchía y col., 2002] para trazas de cobre, Granada-castro y col. para trazas de cobre y cadmio [Granado-Castro y col., 2004a,b] y Aouarram y col. y Domínguez-Lledó y col. para trazas de níquel [Aouarram y col., 2007; Domínguez-Lledó y col., 2007] siendo en estos últimos casos aplicada en muestras de agua de mar. Como aplicaciones más recientes se puede destacar entre otros, la extracción de uranio [Shamsipur y col., 2010], mercurio [Minhas y col., 2010], plata [Rounaghi y col., 2011], paladio [Akin y col., 2012] y la extracción simultánea de cinc, cobre y níquel [Singh y col., 2011] y de cadmio y cinc en muestras de agua residual industrial [Dalali y col., 2012].

En procesos industriales probablemente por la gran cantidad de disolventes necesaria para llevar a cabo aplicaciones de mayor dimensión [Araki y Tsukube, 1990], la configuración de MLV es de menor utilidad prefiriéndose la configuración de MLS.

Una cosa parecida sucede en el caso de las MLE. Estas membranas se forman cuando una fase acuosa suspendida en una fase orgánica, gracias a un tensoactivo, se suspende a su vez en otra fase acuosa dando lugar a un sistema de tres fases (emulsión *water-in-oil-in-water*, w/o/w) donde la fase acuosa externa ejerce de fase de alimentación mientras que la fase acuosa atrapada ejerce de fase de recuperación [Valenzuela y col., 2009]. Debido a su naturaleza, estas membranas son extremadamente finas y tienen un área superficial inmensa, factores que incrementan considerablemente sus propiedades de transporte [Kentish y Stevens, 2001; San Román y col., 2010]. A pesar de que este tipo de membranas son relativamente sencillas de preparar, sufren de una gran irreproducibilidad en su preparación [Nunes y Peinemann, 2001], inestabilidad de la emulsión [Ahmad y col., 2011] y presentan grandes dificultades a la hora de recuperar la fase atrapada por lo que su implementación industrial es escasa.

La configuración de MLS "plana" (*flat-sheet supported liquid membrane*, FS-SLM) es la disposición clásica de las membranas líquidas soportadas para el estudio en el laboratorio donde ofrecen excelentes resultados [Altin y col. ; 2010; Kandwal y col., 2011; Bhattacharyya y col., 2011; Pei y col., 2012; Surucu y col., 2012] pero su aplicación práctica está limitada por su baja relación *área de membrana/volumen de*



*disolución tratada* que hace que el transporte sea lento aunque la membrana sea muy delgada [de Gyves y Rodríguez, 1999; San Román y col., 2010].

Las membranas líquidas soportadas en modo de “fibras huecas” MLS-FH (*hollow-fiber supported liquid membrane, HF-SLM*) son en todo similares a las MLS planas con la excepción que en este caso, el soporte polimérico que constituye el cuerpo de la membrana es una fibra hueca con paredes porosas que retienen la fase líquida. Es la configuración que tiene gran interés a nivel industrial. Estas fibras pueden agruparse dentro de una carcasa para formar módulos de fibras huecas que aunque aumentan el coste del equipo presentan la ventaja de permitir una introducción y recuperación de las fases líquidas mucho más sencillas en comparación con otro tipo de membranas líquidas [Lee y col., 2008]. Entre todas las posibles especies transportables mediante este tipo de membrana destacan los iones metálicos a los que se dedica la mayor parte de las publicaciones relativas a MLS [Zhang y col., 2010; Es’haghi y Azmoodeh, 2010; Kandwal y col., 2012]

En los últimos años han ido apareciendo en la bibliografía otros sistemas alternativos a los tres tipos básicos, cuya aplicaciones básicamente se circunscriben a la separación de especies metálicas de disoluciones acuosas, desde el punto de vista industrial o tecnológico. Entre éstos destacan las membranas poliméricas de inclusión (MPI), las membranas compuestas activadas (MCA) y las membranas líquidas híbridas (MLH).

Aunque, las MPI fueron descritas por primera vez por Sugiura en 1980, recientemente ha proliferado su uso, demostrándose que poseen ciertas propiedades mecánicas que las hacen competitivas respecto a las MLS [Salazar-Alvarez y col., 2005; Kebiche-Senhadji y col., 2008; Inés y col., 2012]. El uso de las MCA como alternativa a las MLS aparece descrito en varias publicaciones a partir de 1998; entre estos trabajos cabe destacar su empleo para el transporte de  $Zn^{2+}$  [Oleinikova y col., 1999; 2000] y  $Pb^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  [Gumí y col., 2000]. Por último las MLH, aparecidas en la segunda parte de la década de los noventa, se han empleado satisfactoriamente en el transporte de  $Ti^{4+}$  [Kislik y Eyal, 1996], la recuperación de  $Cu^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  [Eyal y Kislik, 1999], y la

separación de  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  y  $\text{Zn}^{2+}$  de disoluciones procedentes de la producción de ácido fosfórico [Kislik y Eyal, 2000a; 2000b].

#### II.1.4. Eficacia del proceso de transporte en una membrana líquida

Para evaluar la eficacia de un proceso de transferencia de especies químicas a través de una membrana líquida es necesario cuantificar el transporte realizado, y para ello debe estimarse el flujo de materia  $J$ , que tiene lugar a través de la membrana en un periodo de tiempo determinado. El flujo de materia a través de una membrana líquida puede definirse como [Danesi, 1985]:

$$J = -\frac{d[M]_f}{dt} \cdot \frac{V_f}{Q} \quad [\text{II.1}]$$

donde  $[M]_f$  representa la concentración de la especie química de interés en la disolución cargada,  $V_f$  es el volumen de esta misma disolución y  $Q$  es el área efectiva de la membrana.

El flujo de materia se puede expresar de la manera indicada, o bien en función de parámetros relacionados con él, como es el caso del coeficiente de permeabilidad,  $P$ , que se define como el cociente entre el flujo y la concentración de la especie de interés en la disolución cargada:

$$P = \frac{J}{[M]_f} \quad [\text{II.2}]$$

Sustituyendo esta expresión en [II.1], se obtiene una nueva expresión para la permeabilidad:

$$P = -\frac{1}{[M]_f} \cdot \frac{d[M]_f}{dt} \cdot \frac{V_f}{Q} \quad [\text{II.3}]$$

La integración de la última expresión conduce a:

$$-\ln[M]_{f,t} = \frac{Q}{V_f} \cdot P \cdot t - \ln[M]_{f,0} \quad [\text{II.4}]$$

en la que  $[M]_{f,t}$  representa la concentración de la especie química en la disolución cargada en el tiempo  $t$  y  $[M]_{f,0}$  corresponde a la concentración inicial en dicha fase.

A partir de la expresión [II.4] se llega a:

$$\ln \frac{[M]_{f,0}}{[M]_{f,t}} = \frac{Q}{V_f} \cdot P \cdot t \quad [\text{II.5}]$$

Si se representa la variación del logaritmo neperiano de la concentración inicial de la especie química en la fase cargada, dividida por la misma concentración en los distintos tiempos frente al tiempo, se obtendrá una relación lineal cuyo pendiente es:

$$\frac{Q}{V_f} \cdot P \quad [\text{II.6}]$$

De esta pendiente puede obtenerse la **permeabilidad  $P$** , para cada uno de los procesos de transporte sabiendo el área de la membrana y el volumen de la fase de alimentación en la celda. Este parámetro es usualmente utilizado para evaluar la eficacia del proceso en la membrana líquida y se suele expresar en unidades de cm/min. En el caso de las membranas líquidas de volumen también se utiliza frecuentemente el porcentaje de recuperación de la especie de interés en la fase receptora.

### II.1.5. Mecanismos de transporte en membranas líquidas

El transporte de especies a través de una membrana líquida puede llevarse a cabo por dos tipos de mecanismos principales, que a su vez se pueden subdividir en varias modalidades [Schlosser, 1993, 2000; Kislik, 2010]. En la **Figura II.4** se muestran cada uno de estos mecanismos que se describen a continuación:

#### ✦ *Transporte simple*

Este mecanismo tiene lugar cuando la membrana líquida está formada simplemente por un disolvente orgánico. Se puede distinguir entre dos tipos de transporte:

a. *Permeación simple*: las especies químicas pasan de la fase de alimentación hacia la fase receptora a través de la membrana líquida como consecuencia de su solubilidad en ella. El transporte se detiene cuando se alcanza una concentración de equilibrio entre las dos fases.

b. *Permeación con reacción química en la disolución receptora*: el transporte es favorecido por la presencia de un reactivo apropiado en la disolución receptora que reacciona con la especie transportada aumentando la capacidad y la selectividad del transporte, especialmente si el producto formado en la disolución receptora es insoluble en la membrana líquida.

#### ✦ *Transporte asistido*

En este caso, la disolución orgánica empleada como membrana líquida está constituida de un agente extractante disuelto en el disolvente orgánico. Este reactivo actúa como transportador de las especies que se desean transferir desde la disolución acuosa cargada hacia la receptora mejorando la permeabilidad y la selectividad de la membrana [San Román y col., 2010]. Dentro de este tipo se puede distinguir distintas modalidades de transporte [López-López y col., 2010]:

c. *Transporte facilitado*: la especie a transportar, aunque puede pasar a través de la membrana por permeación simple, también reacciona reversiblemente con el agente extractante, lo cual permite acelerar el transporte.

d. *Contratransporte acoplado*: la especie de interés reacciona con el extractante formando un complejo que difunde a través de la membrana hasta contactar con la disolución receptora, donde se produce la reacción inversa. Para ello es necesario que en la disolución receptora exista una especie química que reaccione con el extractante liberando la especie de interés.

e. *Cotransporte acoplado*: en este caso se produce el transporte de la especie de interés junto con otra especie química presente en la disolución cargada, necesaria para mantener la neutralidad de los complejos formados en la disolución orgánica.

*f. Transporte primario activo:* el transporte de la especie química se favorece mediante reacciones redox.

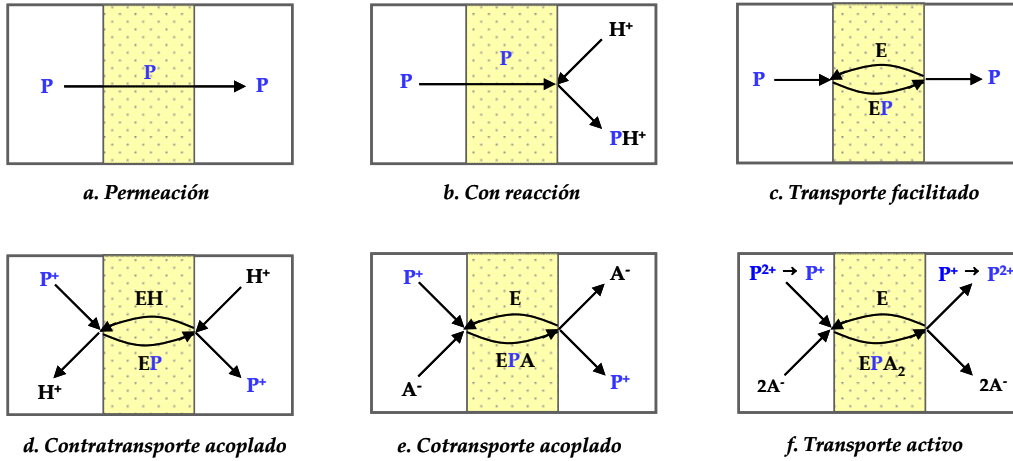


Figura II.4. Mecanismos de transporte en membranas líquidas [Kislik, 2010]

### II.1.6. Extractantes orgánicos

Tanto en extracción líquido-líquido como en membrana líquida es muy importante la elección adecuada del agente extractante transportador del metal [Rydberg y col., 2004], por lo cual se han desarrollado muchos extractantes, los cuales pueden ser específicos para cada metal bajo determinadas condiciones experimentales, como son por ejemplo, pH y especiación del metal o genéricos, si se desea una preconcentración simultánea.

Comercialmente, existen diferentes tipos de extractantes: ácidos, básicos, solvatantes y quelatantes. A continuación se citarán los más representativos, describiendo sus aplicaciones comerciales (Tabla II.1).

**Tabla II.1. Reactivos extractantes empleados en la extracción líquido-líquido de iones metálicos [Aguilar y Cortina, 2008]**

Tipo	Extractante	Aplicación comercial
<i>Extractantes ácidos</i>		
Ácidos carboxílicos	Ácidos nafténicos Ácidos versáticos	Separación de Cu/Ni Extracción de Ni Extracción de Y
Ácidos alquilo fosfóricos	Ácidos monoalquilo fosfóricos	Extracción de Fe Extracción de Sb y Bi
	Ácidos dialquilo fosfóricos y sus análogos sulfúricos	Extracción de U Extracción de tierras raras Separación de Co/Ni Extracción de Zn, etc
Ácidos alquilo fosfónicos	Ácido 2-etilhexilfosfónico 2-etilhexil éster y su análogo sulfónico	Separación de Co/Ni Separación de tierras raras
Ácidos alquilo fosfínicos	Ácidos dialquilo fosfínicos y sus análogos sulfínicos	Separación de Co/Ni Extracción de Zn y Fe
Ácidos aril sulfónicos	Ácido dinonilnaftaleno sulfónico	Extracción de Mg
<i>Extractantes ácidos quelatantes</i>		
Derivados de hidroxioxima	$\alpha$ -alquilaril hidroximas (LIX63) $\beta$ -alquilaril hidroxioximas (LIX860, M5640)	Extracción de Cu Extracción de Ni
Derivados de 8-hidroxiquinoleína	Chelex 100, 120 LIX26	Extracción de Ga Propuesto para la extracción de Cu
Derivados de $\beta$ -dicetona	LIX 54 Hostarex DK16	Extracción de Cu
Derivados de bis-ditiofosforamida	DS 5968, DS 6001	Extracción de Zn Separación de Co/Ni/Mn
Ácidos hidroxámicos	LIX 1104	Extracción de Fe Extracción de Sb y Bi

**Cont. Tabla II.1.** Reactivos extractantes empleados en la extracción líquido-líquido de iones metálicos [Aguilar y Cortina, 2008]

Tipo	Extractante	Aplicación comercial
<i>Extractantes básicos</i>		
Aminas secundarias	LA-1, LA-2 Adogen 283	Extracción de U Propuesto para la extracción de V y W
Aminas terciarias	Alamina 336 Adogen (diversos tipos)	Extracción de U, Co, W, V, etc.
Aminas cuaternarias	Aliquat 336 Adogen 464	Extracción de V Posible extracción de Cr, W, U, etc.
Amina cuaternaria + nonil fenol	LIX 7820	Extracción de cianuro metálico aniónico
Trialkilguanidina	LIX79	Extracción de Au
<i>Extractantes solvatantes y quelatantes no iónicos</i>		
Reactivos donantes C-O	Alcoholes (decanol) Cetonas (MIBK) Ésteres Éteres, etc	Separación de Nb/Ta Separación de Zr/Hf
Reactivos donantes P-O y S-P	Ésteres fosfóricos Ésteres fosfónicos Ésteres fosfínicos Óxidos de fosfina y sus análogos de S	Extracción de Fe Separación de Zr/Hf Separación de Nb/Ta Separación de tierras raras Extracción de Au
Reactivos donantes S-O	Sulfuros Sulfóxidos	Extracción de Pd
Reactivos donantes N	Bi-imidazoles y bi-bencilimidazoles Éster piridindicarboxílico	Extracción de Zn Separación de Zn/Fe Extracción de Cu

Los compuestos orgánicos caracterizados por la presencia del grupo *imino*, también han sido empleados extensamente en la extracción de iones metálicos actuando como ligandos multidentados que pueden formar complejos coloreados con diversos cationes metálicos. Como se muestra en la **Tabla II.2**, la naturaleza de la

sustitución en el nitrógeno del grupo *imino* determina distintos grupos de compuestos orgánicos: *oximas*, *acinas*, *semicarbazonas*, *tiosemicarbazonas* e *hidrazonas*. En esta Tesis Doctoral se emplearán este último grupo de reactivos orgánicos.

**Tabla II.2.** Grupo imino y sustituciones más características

$\text{R}-\text{N}=\text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{R}_1 \\ \searrow \text{R}_2 \end{array}$	Sustitución R	Grupo de compuestos
	-OH	<i>Oximas</i>
	-N=CR <sub>1</sub> R <sub>2</sub>	<i>Acinas</i>
	-NH-CO-NH <sub>2</sub>	<i>Semicarbazonas</i>
	-NH-CS-NH <sub>2</sub>	<i>Tiosemicarbazonas</i>
	-NH-CSe-NH <sub>2</sub>	<i>Selenosemicarbazonas</i>
	-N-R <sub>3</sub> R <sub>4</sub>	<i>Hidrazonas</i>

En las hidrazonas, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> representan la existencia de hasta cuatro radicales. El átomo de nitrógeno del grupo azometino (C=N) recibe el nombre de nitrógeno imínico y el inmediatamente posterior se denomina nitrógeno amínico [Kitaev y col., 1970]. Dependiendo de la naturaleza de sus sustituyentes, pueden distinguirse varios tipos de hidrazonas. Estos sustituyentes pueden ser: protones, radicales alquilo, radicales arilo, radicales acilo, radicales o-alquilo, así como dióxido de nitrógeno o halógenos. En aquellos casos en los que la sustitución R<sub>3</sub> y/o R<sub>4</sub> es por grupos aromáticos, reciben el nombre de aroilhidrazonas.

Las hidrazonas han sido muy utilizadas en la determinación de iones metálicos debido a sus propiedades como ligandos multidentados. Estos reactivos pueden formar con diversos cationes metálicos, complejos coloreados de alta absortividad molar que pueden ser extraídos en disolventes orgánicos inmiscibles con agua, lo que les hace muy útiles para la preconcentración de trazas metálicas mediante extracción líquido-líquido. Son compuestos de gran interés en química orgánica y son estudiados ampliamente debido a sus características biológicas y sus actividades farmacéuticas,



antituberculosas, antimicrobianas y antitumorales (**Tabla II.3**), y como herbicidas, insecticidas, nematocidas, rodenticidas y reguladores del crecimiento de las plantas. También juegan un papel importante en la química inorgánica, ya que forman fácilmente complejos estables con la mayoría de los iones de metales de transición. Estos complejos metálicos, al igual que las hidrazonas, son compuestos muy activos biológicamente actuando como antibacterianos y antifúngicos.

**Tabla II.3.** Actividad biológica de algunas hidrazonas y sus complejos metálicos

Hidrazona	Actividad biológica	Referencia
1-[N,N-dimetilaminometil]-5-bromo isatin-3-(1'-[4''-(p-clorofenil) tiazol-2''-il] tio semicarbazona)	Antifúngico	Pandeya y col., 1999
2,3,4-pentanotriona-3[4-[[[(5-nitro-2-furil)metileno]hidrazida]carbonil]fenil]-hidrazona	Antibacteriano	Kucukguzel y col., 1999
Etil 2-[(3,5-dimetilpirazol-4-il)hidrazona]-3-oxobutirato y Metil 2-[(3,5-dimetilpirazol-4-il)hidrazona]-4-metoxi-3-oxobutirato	Antituberculosis, antiséptico intestinal	Kaymakçioğlu y Rollas, 2002
Complejos metálicos de acetofenona-4-aminobenzoilhidrazona y de 4-hidroxi-acetofenona-4-aminobenzoilhidrazona con Co <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> y Cd <sup>2+</sup>	Antibacteriano	Singh y col., 2003
2-hidroxi-1-naftaldehído isonicotinoil hidrazona	Antimalárico	Walcourt y col., 2004
Derivados α-(N)-heterocíclicos de hidrazonas 3- y 5-metil-tiofeno-2-carboxaldehído	Antitumoral	Savini y col., 2004
Derivados de hidrazinopirimidina-5-carbonitrilo	Anticancerígeno, anti-inflamatorio, analgésico, antipirético, antibacteriano	Cocco y col., 2006
N-arilaminoacetil hidrazona	Antivírico	Abdel-Aal y col., 2006
4-amino ácido butírico hidrazona	Anticonvulsivo	Ragavendran y col., 2007
Complejos metálicos de 2-tiofenocarbonil hidrazina y de isonicotinoilhidrazonas de 3-(N-metil)isatin con Co <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> y Zn <sup>2+</sup>	Antibacteriano	Rodríguez-Argüelles y col., 2007
6-hidroxicromona-3-carbaldehído benzoil hidrazona	Anticancerígeno, antioxidante	Wang y col., 2007
Derivados de 1-aril metil-3-aril-1H-pirazol-5-carbohidrazida hidrazona	Anticancerígeno, analgésico, antimalárico	Xia y col., 2008

La elevada reactividad que presentan las hidrazonas ha hecho posible su aplicación en numerosos y muy diversos campos. Además de sus conocidas propiedades en medicina [Shyam y col., 1985; Mohan y col., 1988; Suvarapu y col., 2012] y analíticas [Katyal y Dutt, 1975; Singh y col., 1982], las hidrazonas también han sido utilizadas, especialmente las aroilhidrazonas, como complejantes para la determinación espectrofotométrica de metales (Tabla II.4), tanto en disolución acuotánolica [Gallego y col., 1978; Gallego y col., 1979a,b; García-Vargas y col., 1980; Silva y Valcárcel, 1980a,b; García-Vargas y col., 1981], como en medios orgánicos inmiscibles con el agua, mediante la extracción líquido-líquido [García-Vargas y col., 1984], como agentes transportadores de metales en membranas líquidas [Granado-Castro y col., 2004a,b; Aouarram y col., 2007; Domínguez-Lledó y col., 2007; Granado-Castro y col., 2008], en extracciones en fase sólida [Díaz-de Alba y col., 2012; Mohamad Ali y col., 2012], en determinaciones electroquímicas mediante voltametría de redisolución catódica adsortiva [Jurado-González y col., 2003; Espada-Bellido y col., 2009a,b; Aouarram y col., 2010] y como sensores [Espada-Bellido y col., 2010].

Tabla II.4. Ejemplos de aplicaciones analíticas recientes de las hidrazonas en la determinación espectrofotométrica de iones metálicos

Hidrazona	Metal	$\lambda$ max (nm)	Rango lineal (mg/L)	$\epsilon \cdot 10^4$ (L/mol·cm) M:L	Referencia
2,4-dihidroxi-benzaldehído isonicotinoilhidrazona	Th <sup>4+</sup>	390	0,30-7,00	2,20 1:1	Sivaramaiah y col., 2000
2,2-dipiridil-2-piridilhidrazona	Fe <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup>	535	0-30 0-50	-	Themelis y col., 2001
Piridin-2-carboxaldehído 2-hidroxi-benzoil hidrazona	U <sup>6+</sup>	375	1,0-5,6	4,74 1:2	Bale y Sawant, 2001
di-2-piridil cetona saliciloilhidrazona	Fe <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup>	-	-	-	Cunha Areias y col., 2001
piridin-2-carboxaldehído isonicotinoilhidrazona	Fe <sup>2+</sup>	-	-	-	Chaston y Richardson, 2003
di-2-piridil cetona isonicotinoilhidrazona	Fe <sup>2+</sup>	-	-	-	Bernhardt y col., 2003

**Cont. Tabla II.4.** Ejemplos de aplicaciones analíticas recientes de las hidrazonas en la determinación espectrofotométrica de iones metálicos

Hidrazona	Metal	$\lambda$ max (nm)	Rango lineal (mg/L)	$\epsilon \cdot 10^4$ (L/mol-cm) M:L	Referencia
diacetilmonoxima-p-hidroxibenzoilhidrazona	Sn <sup>2+</sup>	430	0,25-2,76	3,2 1:2	Varghese y Khadar, 2006
3,4-dihidroxi-benzaldehído isonicotinoilhidrazona	V <sup>5+</sup>	360	0,5-5,3	1,29 1:1	Suvarapu y col., 2008
3,4-dihidroxi-benzaldehído isonicotinoilhidrazona	Cr <sup>6+</sup>	400	0,5-7,7	1,35 1:1	Suvarapu y col., 2010
3,4-dihidroxi-benzaldehído isonicotinoilhidrazona	Pd <sup>2+</sup>	380	0,5-20,0	0,53 1:1	Suvarapu y col., 2011
2,3,4-trihidroxi acetofenona fenilhidrazona	Th <sup>4+</sup>	370	-	32,46 1:1	Chalapathi y col., 2011
4-hidroxi-3,5-dimetoxi benzaldehído-4-hidroxibenzoilhidrazona	Ni <sup>2+</sup> Cu <sup>2+</sup>	408 383	0,12-0,53 0,13-0,57	3,22 3,41 1:1	Krishna y col., 2012

### II.1.7. Aplicaciones industriales de las membranas líquidas

Las membranas líquidas se han aplicado en diversos campos como la química orgánica e inorgánica, analítica, en ingeniería química y biomédica o en biotecnología. A continuación se mencionan los más significativos:

- Separación de metales, ácidos y bases: esta técnica se aplica para metales tan diversos como Cu, Ni, Cd, Co, Zn, Rh, Pd, Fe, Pt, etc., también para la extracción de compuestos ácidos y básicos de manera sencilla a partir de la variación del pH en muchos casos.
- Aplicaciones biomédicas: básicamente se han aplicado para la determinación de drogas y otros compuestos orgánicos como fenoles en fluidos biológicos (plasma y orina) [Shen y col., 1998; Palmarsdottir y col., 1997; Lindegard y col., 1994] y la extracción de la *Penicilina G* [Lazarova y col., 2002; Kislik, 2010].
- Análisis de alimentos: con la separación de triazinas en zumos y en aceites, y recuperación de compuestos aromáticos a partir de frutas [San Román y col., 2010].

- En la industria petrolífera: para la separación por ejemplo de fenoles en aceites y fueles [Kislik, 2010].
- En desalinización y separación de hidrocarburos [Araki y Tsukube, 1990; Kislik, 2010], separación de gases [San Román y col., 2010] y tratamientos de aguas residuales industriales [Tandlich, 2010].

En la **Tabla II.5** se muestran algunas aplicaciones industriales de las membranas líquidas soportadas.

**Tabla II.5.** Algunas aplicaciones industriales de las membranas líquidas soportadas [Kislik, 2010]

Sustancia	Aplicación	Membrana líquida	Referencia
Fructosa	Extracción del caldo de fermentación	Derivado de ácido bórico en 2-nitrofeniloctil	Di Luccio y col., 2002
Cu <sup>2+</sup>	Disoluciones decapantes amoniacales	LIX54 en keroseno	Kocherginsky y Grishchenko, 2003
U, Pu	Extracción de aguas residuales de la planta postnuclear	Tri-n-butil fosfato en n-dodecano	Rathore y col., 2004
CO <sub>2</sub>	Separación de mezcla de gases industriales (Ej. CH <sub>4</sub> /CO <sub>2</sub> )	Aminas alifáticas	Al Marzouqi y col., 2005
Cr <sup>6+</sup>	Extracción de aguas residuales	Amina comercial	Ashraf y Mian, 2006
Fenol, cresoles	Extracción de aguas residuales	Aceite natural	Venkateswaran y Palanivelu, 2006

### II.1.8. Aplicación de membranas líquidas al análisis de metales pesados en aguas

Las membranas líquidas también son de gran utilidad en análisis de aguas. Así, se ha realizado una revisión bibliográfica de las aplicaciones analíticas de los tres tipos

de membranas líquidas: soportadas (**Tabla II.6**), de emulsión (**Tabla II.7**) y de volumen (**Tabla II.8**), para la determinación de metales en muestras acuosas medioambientales de diferente naturaleza.

**Tabla II.6.** Aplicaciones analíticas de las membranas líquidas soportadas en la determinación de metales en aguas

Tipo de Muestra	Agente Extractante/Disolvente	Metal	Referencia
n.a.	D2EHPA/queroseno	Co <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	Huang y Juang, 1988
Agua natural	Aliquat 336/dihexil éter	Co <sup>2+</sup>	Jönsson y Mathiasson, 1992
	8HQ/dihexil éter	Cu <sup>2+</sup>	
n.a.	DC18C6 o DtBuC18C6/n-hexilbenceno	Sr <sup>2+</sup>	Dozol y col., 1994
n.a.	Cyanex 272/queroseno	Zn <sup>2+</sup>	Kunungo y Mohapatra, 1995
n.a.	Amb LA-2, TLA y Aliquat 336	Pu <sup>4+</sup>	Shukla y col., 1996
Agua residual de industria de curtido	TOA/tolueno	Cr <sup>3+</sup>	Chaudry y col., 1997
Agua de río	D2EHPA/queroseno	Cu <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup>	Djane y col., 1997
Agua natural	Kriptofix 22DD ó D2EHPA/tolueno ó tolueno + queroseno	Cu <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup>	Parthasarathy y col., 1997
n.a.	EHPA/queroseno	Y <sup>3+</sup> , Fe <sup>3+</sup>	Akiba y col., 1997
n.a.	DMPL/cumeno	Au <sup>3+</sup>	Sastre y col., 1998
Agua de río	D2EHPA/queroseno	Co <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	Ndungù y col., 1998
n.a.	DEHTPA/queroseno	Pd <sup>2+</sup>	Rovira y Sastre, 1998
Agua residual de industria de curtido	Aliquat 336 ó D2EHPA/queroseno	Cr <sup>3+</sup> , Cr <sup>6+</sup>	Djane y col., 1999
Disolución acuosa salina	Cyanex 925/queroseno	La <sup>3+</sup> , Nd <sup>3+</sup> , Tb <sup>3+</sup> , Yb <sup>3+</sup>	García-Valls y col., 1999
Agua residual de la extracción de Pu	PC 88A/dodecano	Pu <sup>4+</sup>	Kedari y col., 1999

**Cont. Tabla II.6.** Aplicaciones analíticas de las membranas líquidas soportadas en la determinación de metales en aguas

Tipo de Muestra	Agente Extractante/Disolvente	Metal	Referencia
n.a.	TCBA o TCTH/cumeno	Ag <sup>+</sup>	El Amrani y col., 1999a
n.a.	Derivados de benzoiltiourea y N-(tiocarbamoil) benzamidina/cumeno	Cu <sup>2+</sup>	El Amrani y col., 1999b
Agua natural	22DD/tolueno + fenilhexano	Cu <sup>2+</sup>	Parthasarathy y col., 1994, 1999
Agua de alta salinidad	TBP/ciclohexano	Cd <sup>2+</sup>	Nowier y col., 2000
n.a.	Cyanex 923/xileno	Fe <sup>3+</sup>	Alguacil y Martínez, 2000
Agua salina sintética	Alamina 336 ó LIX 84/queroseno	Cu <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup>	Gill y col., 2000
n.a.	Cyanex 921/xileno o cumeno	Fe <sup>3+</sup>	Alguacil y Alonso, 2000
Agua residual	TBP/dodecano	Pu <sup>4+</sup>	Rathore y col., 2001
n.a.	MOC-55 TD/Iberfluid	Cu <sup>2+</sup>	Alguacil y col., 2001
Agua residual de la extracción de U	PC 88A/dodecano	U <sup>6+</sup>	Kedari y col., 2001
n.a.	3-fenil-4-acil-5-isoxazolonas/xileno	Fe <sup>3+</sup>	Buonomenna y col., 2002
Agua natural	D2EHPA/queroseno	Cu <sup>2+</sup>	Trtic-Petrovic y col., 2002
n.a.	D2EHPA/n-decanol	Fe <sup>3+</sup>	Zhang y col., 2002
Agua natural	22DD/tolueno + fenilhexano	Cu <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	Parthasarathy y col., 2001, 2002, 2003
Agua natural	D2EHPA/queroseno	Mn <sup>2+</sup>	Soko y col., 2003
n.a.	D2EHPA/n-decanol	Fe <sup>3+</sup> , Cu <sup>2+</sup>	Zhang y Gozzelino, 2003
Agua natural	22DD + LA/fenilhexano + tolueno	Cu <sup>2+</sup>	Parthasarathy y col., 2004
Agua natural y potable	D2EHPA/queroseno	Cd <sup>2+</sup>	Marchese y Campderrós, 2004

**Cont. Tabla II.6.** Aplicaciones analíticas de las membranas líquidas soportadas en la determinación de metales en aguas

Tipo de Muestra	Agente Extractante/Disolvente	Metal	Referencia
Agua natural	22DD + LA/fenilhexano + tolueno	Pb <sup>2+</sup>	Salaün y col, 2004, Slaveykova y col., 2004
Agua residual industrial	TEA/ciclohexanona	Co <sup>2+</sup>	Bukhari y col., 2004
Agua residual	2H-5-DBA/queroseno	Cu <sup>2+</sup>	Molinari y col., 2004
Agua natural	DbzDA18C6 + OA/diexiléter	Cu <sup>2+</sup>	Romero y Jönsson, 2005
Agua de mar	N-benzoil-N',N'-diheptadecil tiourea/decalina + cumeno	Hg <sup>2+</sup>	Fontàs y col., 2005
Agua de mar	Lasalocid de sodio/NPOE	Cu <sup>2+</sup>	Ndungú y col., 2005
Agua residual	Acorga M5640/Iberfluid	Cu <sup>2+</sup>	Alguacil y Alonso, 2005
n.a.	LIX 984/n-heptano	Cu <sup>2+</sup>	Ata, 2005
Agua natural	22DD + LA/fenilhexano + tolueno	Cd <sup>2+</sup>	Bayen y col., 2006
Agua de mar	Ditizona y OA/1-octanol	Cd <sup>2+</sup>	Peng y col., 2007
Agua residual	LIX-54/queroseno	Cu <sup>2+</sup>	Kocherginsky y Yang, 2007
Agua contaminada	Aliquat 336/dodecano	Cr <sup>6+</sup>	Güell y col., 2008
n.a.	LIX 54/parafina	Cu <sup>2+</sup>	Gameiro y col., 2008
Agua de río	DDTP/PDMS	Cd <sup>2+</sup>	Carletto y col, 2009
n.a.	PC-88A/tolueno	Y <sup>3+</sup>	Gaikwad y Rajput, 2010
n.a.	D2EHPA/queroseno	Cu <sup>2+</sup>	Zhang y col., 2010
n.a.	DC18C6/tolueno	Ag <sup>+</sup>	Altin y col., 2010
n.a.	Calix[4]areno-bis-2,3-nafto-corona-6/(NPOE) + n-dodecano	Cs <sup>+</sup>	Kandwal y col., 2011
n.a.	DP8R+Acorga M5640/Exxsol D100	Co <sup>2+</sup>	Alguacil y col., 2011
n.a.	Alamina 300/cloroformo	Ni <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup>	Surucu y col., 2012
n.a.	DTBCH18C6/NPOE + n-dodecano	Sr <sup>2+</sup>	Kandwal y col., 2012

**Cont. Tabla II.6.** Aplicaciones analíticas de las membranas líquidas soportadas en la determinación de metales en aguas

Tipo de Muestra	Agente Extractante/Disolvente	Metal	Referencia
n.a.	D2EHPA/queroseno	Co <sup>2+</sup>	Vernekar y col., 2012
Agua residual de actividades fotográficas y de recubrimientos metálicos	TDDA/ciclohexano	Ag <sup>+</sup>	Rehman y col., 2012

*n.a.*: no se ha aplicado el método

**22DD**: 1,10-didecil-1,10-diaza-18-corona-6; **2H5DBA**: 2-hidroxi-5-dodecilbenzaldehído; **2-HBET**: 2-hidroxibenzaldehído N-etiltiosemicarbazona; **8-HQ**: 8-hidroxiquinoleína; **Acorga M5640**: 2-hidroxi-5-nonilbenzaldehído oxima; **Alamina 336**: tri-(C8-C10) amina; **Alamina 300**: tri-n-octilamina; **Aliquat 336**: cloruro de metiltricaprilamonio; **Amb LA-2**: Amberlita LA-2; **Calix-crown**: calix[4]areno-bis-2,3-nafto-corona-6; **Cyanex 272**: ácido bis(2,4,4-trimetilpentil)fosfínico; **Cyanex 921**: tri-n-octilfosfina; **Cyanex 923**: óxido de trioctilfosfina; **Cyanex 925**: óxido trialkilfosfínico; **D2EHPA**: ácido bis(2-etilhexil) fosfórico; **DbzDA18C6**: 1,10-dibenzil-1,10-diaza-18-corona-6; **DC18C6**: dicitclohexano-18-corona-6; **DDTP**: o,o-dietilditiofosfato de amonio; **DEHTPA**: ácido di-(2-etilhexil) tiofosfórico; **DMPL**: 1-(dodeciloxi)-3-metil-1-oxo- $\Delta^3$ -fosfoleno; **DP8R**: ácido di(2-etilhexil) fosfórico; **DTBCH18C6**: 4,4'(5')di-tert-butil-dicitclohexano-18-corona-6; **DtBuC18C6**: di-tert-butilciclohexano-18-corona-6; **EHPA**: mono-2-etilhexil éster del ácido 2-etilhexilfosfónico; **LIX 54**: 1-fenil-3-alkil 1,3-propandiona; **LIX 54-100**: 1 benzoil-2-nonanona; **LIX 84**: 2-hidroxi-5-nonilacetofenona oxima; **MOC-55 TD**: Aldoxima (componente activo: 5-dodecilsalicilaldoxima); **NPOE**: o-nitrofenil octil éter; **OA**: ácido oleico; **PC 88A**: ácido 2-etilhexil fosfónico mono-2-etilhexil éster; **PDMS**: poli(dimetilsiloxano); **TBP**: tri-n-butil fosfato; **TCBA**: N-(N',N'-dietil tiocarbamoil)N'-fenilbenzamidina; **TCTH**: 1,6-dietilcarbamoil imino)-1,6-difenil-2,5 ditiohexano; **TDDA**: tri-n-dodecilamina. **TLA**: trilaurylamina; **TOA**: tri-octilamina

**Tabla II.7.** Aplicaciones analíticas de las membranas líquidas de emulsión en la determinación de metales en aguas

Tipo de Muestra	Agente Extractante/Disolvente	Metal	Referencia
Agua potable	PC 88A + D2EHPA/queroseno	Cu <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Fe <sup>2+</sup>	Li y col., 1993
Agua residual industrial	thioDEHPA o dithioDEHPA/parafina	Zn <sup>2+</sup>	Reis y Carvalho, 1993, 2004



**Cont. Tabla II.7.** Aplicaciones analíticas de las membranas líquidas de emulsión en la determinación de metales en aguas

Tipo de Muestra	Agente Extractante/Disolvente	Metal	Referencia
Agua residual de minería	Acorga M5640/Isopar L	Cu <sup>2+</sup>	Wright y col., 1995
Agua residual	Aliquat 336 ó Alamina 336/queroseno	Cr <sup>6+</sup>	Chakravarti y col., 1995
Agua residual industrial	MSP-8/heptano	Pd <sup>2+</sup>	Kakoi y col., 1996
n.a.	D2EHPA/parafina	Cd <sup>2+</sup>	Sznejer y Marmur, 1999
Agua residual	LIX 622 ó LIX 84/queroseno	Cu <sup>2+</sup>	Chakravarti y col., 2000
n.a.	TOPO/parafina	U <sup>6+</sup>	Kulkarni y col., 2002
Agua residual de minería	LIX-860/queroseno	Cu <sup>2+</sup>	Valenzuela y col., 2005a
Drenaje ácido de mina	LIX-860N-IC/queroseno	Cu <sup>2+</sup>	Valenzuela y col., 2005b
Disoluciones del ácido sulfúrico	LIX 984N-C/queroseno	Cu <sup>2+</sup>	Sengupta y col., 2006
n.a.	D2EHPA/queroseno	Pb <sup>2+</sup>	Sabry y col., 2007
n.a.	D2EHPA/isododecano	Zn <sup>2+</sup>	Fouad y Bart, 2008
Disolución equimolar Ni-Co	DBHQ/queroseno	Co <sup>2+</sup>	Kumbasar y Sahin, 2008
Disolución ácida de varios componentes metálicos	Alamina 336/queroseno	Cr <sup>6+</sup>	Kumbasar, 2008a
Disoluciones de lixiviación ácida de Zn	Aliquat 336/queroseno	Cd <sup>2+</sup>	Kumbasar, 2008b
Disoluciones de lixiviación ácida de tiocianato	TOPO/queroseno	Co <sup>2+</sup>	Kumbasar, 2009a
Disoluciones de lixiviación ácida de Zn	TOA/queroseno	Cd <sup>2+</sup>	Kumbasar, 2009b
Disolución ácida de varios componentes metálicos	TOPO/queroseno	Cr <sup>6+</sup>	Kumbasar, 2009c
Drenaje ácido de mina	LIX-860N-IC/queroseno	Cu <sup>2+</sup>	Valenzuela y col., 2009
Agua residual de la industria farmacéutica	TOA y Aliquat-336/queroseno	Cr <sup>6+</sup>	Rajasimman y Sangeetha, 2009

**Cont. Tabla II.7.** Aplicaciones analíticas de las membranas líquidas de emulsión en la determinación de metales en aguas

Tipo de Muestra	Agente Extractante/Disolvente	Metal	Referencia
Agua residual	TIOA/tolueno o queroseno	Cd <sup>2+</sup>	Mortaheb y col., 2009
Disolución ácida de varios componentes metálicos	Amberlita LA-2/queroseno	Cr <sup>6+</sup>	Kumbasar, 2010a
Disolución ácida de varios componentes metálicos	TBP/queroseno	Cr <sup>6+</sup>	Kumbasar, 2010b
Agua residual	D2EHPA/hexano	Cu <sup>2+</sup>	Chiha y col., 2010
Agua residual de la industria farmacéutica	TOA/queroseno	Cr <sup>6+</sup>	Rajasimman y Karthic, 2010
Agua residual	TBP/queroseno	Cr <sup>3+</sup>	Zhao y col., 2010
n.a.	TOMAC/queroseno	Cr <sup>6+</sup>	Goyal y col., 2011
Agua residual sintética	Cyanex 923/queroseno	Cr <sup>6+</sup>	Nosrati y col., 2011
n.a.	TOA/queroseno	Cd <sup>2+</sup>	Ahmad y col., 2012
Disoluciones de lixiviación ácida de Zn	TIOA	Co <sup>2+</sup>	Kumbasar, 2012a
Disoluciones amoniacales que contienen Ni <sup>2+</sup> y Co <sup>2+</sup>	8-HQ/queroseno	Co <sup>2+</sup>	Kumbasar, 2012b

*n.a.*: no se ha aplicado el método

**8-HQ**: 8-hidroxiquinoleína; **Acorga M5640**: 2-hidroxi-5-nonilbenzaldehído oxima; **Alamina 336**: tri-(C8-C10) amina; **Aliquat 336**: cloruro de metiltricaprilamonio; **D2EHPA**: ácido bis(2-etilhexil) fosfórico; **DBHQ**: 5,7-dibromo-8-hidroxiquinolina; **LA**: ácido láurico; **LIX 622**: LIX 860 + tridecanol; **LIX 84I-C**: 2-hidroxi-5-nonil-acetofenon-oxima; **LIX 984N-C**: mezcla equivolumen de LIX860N-IC y LIX 84I-C; **LIX-860**: salicilaldoxima; **LIX860N-IC**: 5-nonil salicilaldoxima; **MSP-8**: ácido di(2-etilhexil)mono tiosfosfórico; **PC 88A**: ácido 2-etilhexil fosfónico mono-2-etilhexil éster; **TBP**: tributilfosfato; **ThioDEHPA**: ácido bis(2-etilhexil)tiosfosfórico; **TIOA**: tri-iso-octil amina; **TOA**: trioctilamina; **TOMAC**: cloruro de tri-n-octilmetilamonio; **TOPO**: óxido tri-n-octilfosfínico

**Tabla II.8.** Aplicaciones analíticas de las membranas líquidas de volumen en la determinación de metales en aguas

Tipo de Muestra	Agente Extractante/Disolvente	Metal	Referencia
n.a.	Rojo de metilo/1,2-dicloroetano	Hg <sup>2+</sup>	Safavi y Shams, 1998
n.a.	VB/cloroformo	Ag <sup>+</sup>	Safavi y Shams, 1999
n.a.	Acorga P-50/n-octano	Cu <sup>2+</sup>	Szpakowska y Nagy, 2000
n.a.	EACDA/cloroformo	Cu <sup>2+</sup>	Gholivand y Khorsandipoor, 2000
Agua de mar	D2EHPA/queroseno	Cu <sup>2+</sup>	Mendiguchía y col., 2002
n.a.	Janus Green/cloroformo	Cu <sup>2+</sup>	Safavi y col., 2002
Aleaciones metálicas	Cyanex 301/tetracloruro de carbono	Bi <sup>3+</sup>	Yamini y col., 2002
Disoluciones de catalizadores de Silicio-Alúmina	HDPB/cloroformo	Pd <sup>2+</sup>	Alizadeh y col., 2002
n.a.	TT12C4/cloroformo	Hg <sup>2+</sup>	Shamsipur y col., 2002
Agua de mar	Calixareno/cloroformo	UO <sub>2</sub> <sup>2+</sup>	Ramkumar y col., 2002
Agua de mar	2-APBH/tolueno	Cu <sup>2+</sup>	Granado-Castro y col., 2004a
Agua de mar	2-APBH/tolueno	Cd <sup>2+</sup>	Granado-Castro y col., 2004b
n.a.	D2EHPA/queroseno	Co <sup>2+</sup>	León y Guzmán, 2004; 2005
Agua de mar	D2EHPA/queroseno	Cd <sup>2+</sup>	Irigoyen y col., 2006
n.a.	DBDA15C4/cloroformo	Zn <sup>2+</sup>	Fakhari y col., 2006
n.a.	N,N-dietil-N'-canfanil tiourea/cloroformo	Ag <sup>+</sup>	Berhe y col., 2006
Agua potable y agua de pozo con torio añadido	HTTA/tetracloruro de carbono	Th <sup>4+</sup>	Yaftian y col., 2006
n.a.	DNNSA/queroseno + o-xileno	Cr <sup>3+</sup>	Gawroński y Religa, 2007
n.a.	D2EHPA, Cyanex 272 o LIX 984N/queroseno	Cu <sup>2+</sup>	León y María, 2007
Agua de mar	2-APBH/tolueno	Ni <sup>2+</sup>	Domínguez-Lledó y col., 2007

**Cont. Tabla II.8.** Aplicaciones analíticas de las membranas líquidas de volumen en la determinación de metales en aguas

Tipo de Muestra	Agente Extractante/Disolvente	Metal	Referencia
Agua de mar	2-HBET/tolueno	Ni <sup>2+</sup>	Aouarram y col., 2007
n.a.	ATTT o PHDC/cloroformo	Cu <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	Nezhadali y col., 2008
Agua natural	LA, 22DD/tolueno	Cu <sup>2+</sup>	Wojciechows y col., 2008
n.a.	p-terc-butylcalix[4]areno dioxaoctilamida/diclorometano	Cr <sup>6+</sup>	Yilmaz y col., 2008
Agua natural	22DD-LA/tolueno+fenilhexano	Cu <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup>	Bayen y col., 2009
n.a.	TBP/queroseno	Cr <sup>6+</sup>	Zhang y col., 2009
Aguas residuales de galvanoplastia	TBP/hexano	Cr <sup>6+</sup>	Muthuraman y col., 2009
Lixiviado ácido de baterías de Ni-Cd recargables	HDTBr/diclorometano	Cd <sup>2+</sup>	Jafari y col., 2009
n.a.	HTTA y DC18C6/cloroformo	U <sup>6+</sup>	Shamsipur y col., 2010
n.a.	Calix[4]areno/cloroformo	Hg <sup>2+</sup>	Minhas y col., 2010
Aguas residuales de galvanoplastia	Oxina/cloroformo	Cu <sup>2+</sup>	Reddy y col., 2010
n.a.	DTB/cloroformo	Co <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Ag <sup>+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	Nezhadali y Rabani, 2011
n.a.	D2EHPA/queroseno	Cu <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	Singh y col., 2011
n.a.	Kryptofix5/diclorometano	Ag <sup>+</sup>	Rounaghi y col., 2011

**Cont. Tabla II.8.** Aplicaciones analíticas de las membranas líquidas de volumen en la determinación de metales en aguas

Tipo de Muestra	Agente Extractante/Disolvente	Metal	Referencia
n.a.	Calix[4]areno/diclorometano	Pd <sup>2+</sup>	Akin y col., 2012
Agua residual industrial	Aliquat 336/benceno	Cd <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	Dalali y col., 2012

*n.a.*: no se ha aplicado el método

**22DD**: 1,10-didecil-1,10-diaza-18-corona-6; **2-APBH**: 2-acetilpiridina benzoilhidrazona; **2-HBET**: 2-hidroxibenzaldehído N-etiltiosemicarbazona; **Acorga P-50**: 2-hidroxi-5-nonilbenzaldoxima; **Aliquat 336**: cloruro de metiltricaprilamonio; **ATTT**: 5-metil-4[tiofen-2-il-metilen-amino]-3-tio-oxo-1,2,4-triazol-5-ona; **Calix[4]areno**: tetra(terc-butil)-tetra(4-propilimidazol acetamido-calix[4]areno); **Cyanex 272**: ácido bis-2,2,4-trimetil pentil fosfínico; **Cyanex 301**: ácido bis(2,4,4-trimetilpentil)ditiofosfínico; **D2EHPA**: ácido bis(2-etilhexil) fosfórico; **DBDA15C4**: 5,6,14,15-dibenzo-1,4-dioxa-8,12-diazaciclo-pentadeca-5,14-dieno; **DC18C6**: díciclohexil-18-corona-6; **DNNSA**: ácido di-nonil naftalensulfónico; **DTB**: 2,2'-ditio(bis)benzotiazol; **EACDA**: ácido N-etil-2-aminociclopenteno-1-ditiocarboxílico; **HDPB**: bromuro hexadecilpiridinio; **HDTBr**: bromuro de hexadeciltrimetilamonio; **HTTA**: 2-tenoiltrifluoroacetona; **HTTA**: tenoiltrifluoroacetona; **Janus Green**: cloruro de 3-dietilamino-7-(4-dimetilaminofenilazo)-5-fenilfenazimio; **Kryptofix5**: 1,13-bis(8-quinolil)-1,4,7,10,13-pentaoxatridecano; **LA**: ácido láurico; **LIX 984N**: 5-nonilsalicilaldoxima + 2-hidroxi-5-nonilacetofenonoxima; **Oxina**: 8-hidroxiquinoleína; **PHDC**: derivados de dicarboxaldehído ftálico; **TBP**: tri-n-butil fosfato; **TT12C4**: tetratio-12-corona-4; **VB**: Azul Victoria

Como puede observarse de esta breve revisión de trabajos sobre las aplicaciones de las membranas líquidas de volumen para el análisis de elementos traza en aguas naturales, aún son pocos los trabajos en los que se realiza su aplicación a muestras de agua de mar, y aun menos los trabajos que permiten la especiación de estos metales en este tipo de muestras.

## II.2. EL HIERRO EN EL MEDIO AMBIENTE

El hierro es uno de los componentes mayoritarios de la tierra, siendo el cuarto elemento químico más abundante en la corteza terrestre y formando cerca del 5,6% de la masa total [Taylor, 1964; Riso y col., 2006; Sullivan y col., 2005; Chaturvedi y Dave,

**2012]**. A la vez es uno de los más importantes para los diferentes sistemas biológicos. Su presencia es esencial para la mayoría de los organismos, formando parte de varias enzimas y proteínas. Corresponde destacar su papel fundamental en el transporte de oxígeno en los vertebrados y algunos grupos de invertebrados, ya que forma parte de la hemoglobina.

Su disponibilidad biológica se encuentra influenciada principalmente por sus propiedades químicas como valencia, solubilidad, estado de oxidación o grado de complejación [**Rivaro y col., 2012**]. Tal es la importancia del hierro que los organismos vivos han desarrollado moléculas sideróforas para poder retenerlo complejado y superar así su limitada solubilidad [**Hewitt y Harrison, 1986**].

El hierro se encuentra en la mayor parte de las rocas ígneas y en los minerales arcillosos. En muchas aguas naturales, fundamentalmente en las subterráneas, este metal se encuentra disuelto. Su solubilidad es función del pH y del carácter oxidante o reductor del medio. Así hasta pH 3, se pueden encontrar sales de ión férrico; entre pH 3 y 9, aparece como ión ferroso o como hidróxido de  $\text{Fe}^{3+}$  insoluble en agua y a partir de pH 9 aparece como hidróxido ferroso. Se observa también que los óxidos de hierro pueden interactuar con la materia orgánica disuelta modificando su superficie reactiva para la adsorción de metales [**Fortin y col., 1993**].

### **II.2.1. El hierro en los ecosistemas acuáticos**

El estudio del comportamiento del hierro en el medio marino es complicado por su especiación redox, por su baja solubilidad y por su implicación en los ciclos biológicos. Un aspecto clave en el estudio de la geoquímica de este metal es su papel limitante de la producción primaria en las zonas extensas de los océanos [**Laglera y col., 2011; Thuróczy y col., 2011**]. Es un micronutriente esencial para los organismos y en ciertas aguas oceánicas caracterizadas por altas concentraciones de nutrientes (nitratos, fosfatos y silicatos) y bajas concentraciones de clorofila, tales como el Pacífico Ecuatorial, el Golfo de Alaska y el Océano Atlántico, parece ser que limita el crecimiento del fitoplancton, teniendo implicaciones en los ciclos globales del carbono

[Bakker y col., 2005]. La fertilización de los océanos (ocean iron fertilization, OIF) con hierro parece una de las alternativas en la reducción del efecto invernadero, aunque este método es muy controvertido tanto a nivel científico como económico [Güssow y col., 2010].

Las fuentes mayoritarias de hierro en los océanos son la deposición eólica, el transporte fluvial, las emisiones hidrotermales, la regeneración de la plataforma continental y las corrientes de aguas profundas enriquecidas en hierro [Measures y col., 1995; Bowie y col., 1998; Nielsdóttir y col., 2012]. La atmósfera es, probablemente, la mayor fuente de hierro para los océanos, procediendo generalmente del polvo que se forma por la erosión eólica de los suelos [Paris y col., 2011].

La **Figura II.5** representa un diagrama esquemático del ciclo biogeoquímico del hierro en el océano.

Aunque el hierro abunda en el polvo atmosférico que proviene principalmente de las zonas desérticas de la tierra y entra en los océanos, las concentraciones de hierro son extremadamente bajas en las aguas oceánicas (0,05-2 nmol/L) [Measures y Vink, 1999; de Baar y de Jong, 2001; Bowie y col., 2003; Pons y col., 2005; Nédélec y col., 2007; Mendez y col., 2010; Ibisani y col., 2011; Lin y Twining, 2012] debido a que se encuentra principalmente en forma de complejos de  $Fe^{3+}$  oxidado, poco solubles en agua. Durante el transporte atmosférico, puede pasar por ambientes algo ácidos, lo que incrementa un poco la solubilidad del hierro. Aún así, menos del 2% del hierro que llega al agua de mar desde la atmósfera es soluble y puede ser absorbido por el fitoplancton como nutriente.

El hierro se encuentra en las aguas litorales procedente de los aportes fluviales de donde lo toman los organismos, como pequeños vegetales hasta los grandes mamíferos que lo utilizan para formar la hemoglobina de su sangre. Su origen puede ser: *detrítico*, es decir, de partículas minerales arrastradas por los ríos después de ser desgastadas de las rocas; *químico*, por precipitación de las sales de hierro de los sedimentos, *biológico*, por la resultante de la actividad orgánica de los animales y vegetales y por *contaminación industrial o corrosión de conductos* [Chaturvedi y Dave,

2012]. Debido a su baja solubilidad abunda en los sedimentos, tanto fluviales como marinos, sobre todo en los lodos de la plataforma continental y del litoral en forma de hierro metálico, como carbonato ferroso, sulfato o sulfuro de hierro.

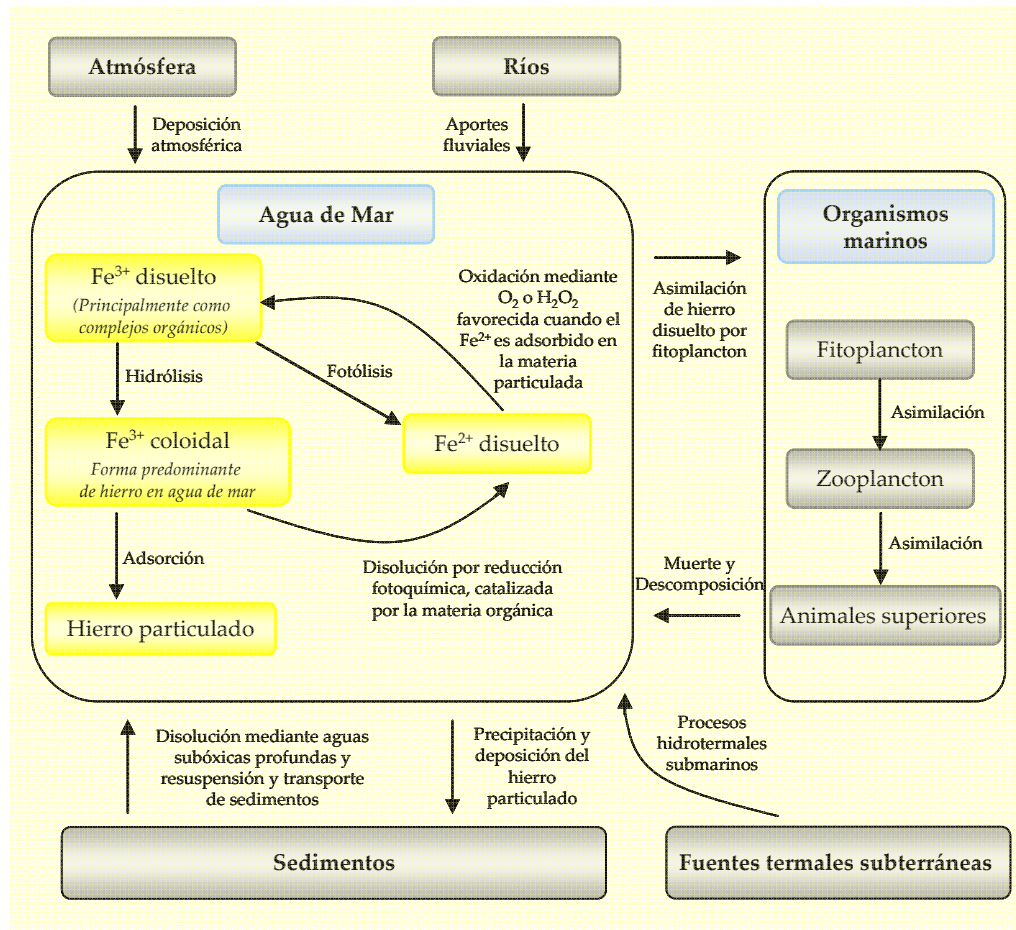


Figura II.5. Diagrama esquemático del ciclo biogeoquímico del hierro en el océano [Achterberg, 2001]

El hierro disuelto en el agua de mar puede existir en dos estados de oxidación diferentes: Fe<sup>3+</sup> y Fe<sup>2+</sup> [Rue y Bruland, 1995; Ibisanni y col.; 2011; Lin y Twining,



2012], aunque puede encontrarse en otros estados de oxidación más altos, como intermedios transitorios en algunas reacciones de tipo redox.

El  $\text{Fe}^{3+}$  es la forma más estable termodinámicamente en aguas óxicas [Ibisanmi y col.; 2011; Calza y col., 2012; Rivaro y col., 2012], existiendo predominantemente como óxidos o hidróxidos insolubles o materia coloidal [Bowie y col., 1998; Rue y Bruland, 1995]. Las especies inorgánicas de  $\text{Fe}^{3+}$  disueltas están dominadas por los productos de hidrólisis:  $\text{Fe}(\text{OH})_2^+$ ,  $\text{Fe}(\text{OH})_4^-$ ,  $\text{FeOH}^{2+}$  y  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  [Rue y Bruland, 1995; VanLoon y Duffy, 2011]. Las revisiones realizadas por Turner y col. [Turner y col., 1981] y por Byrne y col. [Byrne y col., 1988] indican que la especie  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  es la especie predominante del  $\text{Fe}^{3+}$  disuelto en la superficie del agua de mar. Sin embargo, Zafiriou y True [Zafiriou y True, 1980] así como Hudson y Morel [Hudson y Morel, 1990] descartan la importancia de la especie neutra y sostienen que la especie  $\text{Fe}(\text{OH})_2^+$  es la dominante. El ión libre hidratado  $\text{Fe}^{3+}$  es una especie poco frecuente, mientras que el hierro divalente existe principalmente como ión libre  $\text{Fe}^{2+}$ , mucho más soluble y cinéticamente más reactivo que el  $\text{Fe}^{3+}$  libre [Rue y Bruland, 1995].

El  $\text{Fe}^{2+}$  es una especie termodinámicamente inestable en la superficie de las aguas óxicas, existiendo vía deposición atmosférica o vía reducción química o fotoquímica de  $\text{Fe}^{3+}$ , mediante la disolución fotoquímica de hidroxilos u óxidos de  $\text{Fe}^{3+}$  o por fotólisis de complejos orgánicos de  $\text{Fe}^{3+}$  disueltos (con ácidos húmicos o fúlvicos, por ejemplo). Al pH del agua de mar, el  $\text{Fe}^{2+}$  con un tiempo de vida media de varios minutos, es oxidado rápidamente a  $\text{Fe}^{3+}$  por  $\text{O}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$  [Stumm y Morgan, 1996; Fujii y col., 2008; Calza y col., 2012]. La determinación de  $\text{Fe}^{2+}$  es de gran interés en la química atmosférica y oceánica. Su determinación en agua de mar es importante debido principalmente a su papel en la solubilidad y bioactividad. Además, la fotorreducción de  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$  en nubes, niebla y agua de lluvia es una fuente importante de radicales hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ), radical clave en la fotoquímica atmosférica que desempeña una función esencial en la atmósfera, en la oxidación de numerosos gases traza troposféricos, así como de especies en disolución en aguas atmosféricas. Aunque pueden encontrarse un gran número de publicaciones referentes al hierro total en la atmósfera y en los océanos, la información es más limitada en lo que se refiere a la

concentración de  $\text{Fe}^{2+}$ . Esto es debido principalmente a que se requieren métodos analíticos con límites de detección muy bajos. Además, si se tiene en cuenta el reducido tiempo de vida media del  $\text{Fe}^{2+}$  en aguas óxicas, se necesitan métodos analíticos que permitan realizar el análisis "in-situ" de las muestras [King y col., 1991; Yi y col., 1992] o su fijación.

#### **II.2.1.1. Implicaciones biológicas del hierro en los océanos**

Debido a su bioactividad, el hierro es el más importante de todos los metales traza en los océanos [Fujii y col., 2008]. Martin y col. llegaron a sugerir que, si el hierro podía afectar al crecimiento del fitoplancton, el consumo de nutrientes y carbonato por estos organismos estaría limitado por la biodisponibilidad del hierro. Así, si la restricción del hierro controla el crecimiento de fitoplancton, capaz de eliminar dióxido de carbono de la atmósfera, los niveles de dióxido de carbono atmosférico variarían en función del transporte de hierro a la superficie de los océanos. Tales hipótesis se comprobaron en aguas de baja productividad del Pacífico Ecuatorial donde la adición de concentraciones no muy elevadas de sulfato de hierro sobre una extensión de agua superficial, provocó una proliferación masiva del fitoplancton (especialmente diatomeas) y dio como resultado un aumento circunstancial en el flujo atmósfera-océano del dióxido de carbono [Martin y Fitzwater, 1988; Martin y col., 1991].

Por otro lado, se tiene conocimiento de la influencia del hierro en el metabolismo del nitrógeno de las algas debido a que es necesario para la reducción del nitrato y para la fijación del nitrógeno. Price y col. observaron que adiciones de hierro provocaban que el fitoplancton indígena en el Pacífico Ecuatorial dejara de usar  $\text{NH}_4^+$  como principal nutriente para el crecimiento y pasara a emplear  $\text{NO}_3^-$ , estando acompañada esta modificación en la nutrición nitrogenada por un cambio en la composición de la comunidad del fitoplancton [Price y col., 1991].

Diversos estudios han demostrado de igual forma que el fitoplancton es capaz de utilizar únicamente las especies disueltas  $\text{Fe}^{2+}$  o  $\text{Fe}^{3+}$ , y que el consumo de hierro coloidal o particulado es posible únicamente vía disolución térmica o fotoquímica.

Estos estudios demuestran que la biodisponibilidad e interacción del hierro con la biota está críticamente vinculada con el conocimiento de su naturaleza termodinámica y cinética en la matriz del agua de mar [Bowie y col., 1998].

En consecuencia, se han realizado numerosas investigaciones sobre los efectos del hierro en el fitoplancton y, para interpretar la reactividad de este elemento en las aguas oceánicas y debido a una fuerte relación entre la especiación de hierro y su disponibilidad para ser consumido [Jiann y Wen, 2012], es de gran interés el desarrollo de métodos analíticos con este fin.

### II.2.1.2. Niveles de concentración y distribución

La concentración de hierro en aguas naturales puede variar en varios órdenes de magnitud desde  $\mu\text{g/L}$  en agua de mar (0,2-322  $\mu\text{g/L}$ ) [Crompton, 2007] hasta  $\text{mg/L}$  en agua dulce (0-50  $\text{mg/L}$ ) [Stegpniak y col., 2008; Colvin y col., 2011; Chaturvedi y Dave, 2012]. En la mayoría de las aguas superficiales y subterráneas la concentración de este metal no es muy importante desde el punto de vista sanitario; sin embargo, su contenido afecta a las propiedades organolépticas del agua potable, principalmente al color, sabor y turbidez [Cho, 2005]. Además, la presencia de  $\text{Fe}^{2+}$  a concentraciones bajas puede causar el crecimiento de bacterias que originan atascos en las tuberías y mal olor del agua [Blatný y col., 1997; Chaturvedi y Dave, 2012].

La utilización de sales férricas en los procesos de potabilización de aguas ha provocado que la concentración de hierro sea un parámetro importante para determinar la calidad de agua potable. La Organización Mundial de la Salud y la Agencia de Protección Ambiental recomiendan una concentración límite de hierro en el agua potable de 0,3  $\text{mg/L}$  [WHO, 1993; EPA, 2009].

## II.3. MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE HIERRO EN AGUA DE MAR

Dada la importancia de la presencia de hierro en los ecosistemas acuáticos, se procedió a revisar los métodos analíticos usados para su determinación.

Aunque en la mayoría de los casos es imprescindible efectuar una etapa previa de preconcentración y/o separación antes de realizar la determinación por las técnicas instrumentales adecuadas (Espectroscopía atómica, Espectrometría de masas y atomización con plasma acoplado inductivamente, Voltamperometría de redisolución, Quimioluminiscencia,...), el hierro también ha sido determinado en agua de mar directamente.

### II.3.1. Determinación directa de hierro

El hierro se ha determinado directamente en agua de mar, sin etapa previa de preconcentración, por formación de complejos con compuestos orgánicos tipo ferrioina. Estos ligandos que se caracterizan por poseer el grupo cromóforo "ferrioina", selectivo del hierro, han sido ampliamente utilizados en su determinación colorimétrica. Tal es el caso del 2,2'-bipiridilo, la 1,10-fenatrolina, así como la 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina (TPTZ). Estos compuestos orgánicos se han empleado como reactivos fotométricos para el  $Fe^{2+}$ , como agentes enmascarantes y reactivos de detección de varios iones metálicos. Sus quelatos de hierro se han usado también como indicadores redox. Más recientemente, Meyer y col. han desarrollado un método colorimétrico para el análisis de hierro en agua de mar, utilizando *ferene* (sal disódica del ácido 3-(2-piridil)-5,6-di(2-furil)-1,2,4-triazina-5',5''-disulfónico) como reactivo complejante de  $Fe^{2+}$  [Meyer y col., 2012], y Huang y col. han utilizado dihidrocloruro de N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DPD) mediante la técnica de análisis por inyección de flujo inverso (RFIA) [Huang y col., 2012].

De igual forma, el hierro ha sido determinado espectrofotométricamente por su efecto catalítico sobre determinadas reacciones. Así, se ha analizado  $Fe^{3+}$  a niveles de mg/L o inferiores por su efecto catalítico sobre la oxidación de la Variamina azul B (N-(p-metilfenil)-p-fenilendiamina) [Kreingold y Sosenkova, 1971], de su análogo (N-(p-metoxifenil)-N',N'-dimetil-p-fenilendiamina) [Kawashima y col., 1979] y de la 2-hidroxibenzaldehído tiosemicarbazona por peróxido de hidrogeno [Moreno y col.,

1984]. No obstante hay pocos métodos que proporcionen suficiente sensibilidad para determinar  $\text{Fe}^{3+}$  a niveles de  $\mu\text{g/L}$  o menores.

### II.3.2. Determinación de hierro con etapa previa de preconcentración

Debido a la complejidad de la matriz así como a las bajas concentraciones que el hierro presenta en la mayoría de las muestras de agua de mar, generalmente es necesario realizar una etapa previa de preconcentración y/o separación, que permita aumentar la sensibilidad y la selectividad del método, así como minimizar los efectos de la matriz que pueden resultar muy perjudiciales cuando se determinan concentraciones a niveles de nanomoles o picomoles por litro.

#### II.3.2.1. Preconcentración por extracción líquido-líquido

Uno de los procedimientos más ampliamente utilizados para la determinación de hierro en agua de mar consiste a llevar a cabo una etapa previa de preconcentración de la muestra por extracción líquido-líquido [Croot y Hunter, 2000; Saçmaci y Kartal, 2008; Tabrizi, 2010] pudiéndose efectuar el posterior análisis mediante espectroscopía de absorción atómica o molecular UV-visible, así como por espectroscopía de emisión atómica con fuente de plasma acoplado inductivamente. La etapa previa de extracción líquido-líquido se realiza mediante el uso de agentes quelatantes, principalmente *ditiocarbomatos* en métodos que emplean la espectroscopía de absorción atómica o de emisión atómica para el análisis y mediante compuestos que se caracterizan por poseer la agrupación “ferroina”, selectiva del hierro, así como por *azinas* e *hidrazonas*, en métodos en los que se utiliza la espectroscopía de absorción molecular.

#### II.3.2.2. Preconcentración por extracción sólido-líquido

El hierro ha sido determinado en agua de mar mediante la utilización de ferrozina inmovilizada sobre cartuchos de extracción en fase sólida  $\text{C}_{18}$  de fase inversa. La preconcentración tiene lugar mediante la formación del complejo metálico; el metal

es posteriormente eluido desde la columna y determinado por espectroscopía de absorción molecular UV-visible o con otra técnica instrumental adecuada [King y col., 1991; Blain y Tréguer, 1995; Fischer y col., 2006].

### **II.3.2.3. Preconcentración por intercambio iónico**

La determinación de hierro en agua de mar se ha realizado igualmente utilizando métodos en los que la etapa previa de preconcentración de la muestra se lleva a cabo por intercambio iónico mediante el empleo de zeolitas [Al-Anber y Al-Anber, 2008], o mediante resinas quelatantes tales como la Chelex-100, así como resinas con 8-hidroxiquinoleína inmovilizada. El posterior análisis se efectúa mediante una gran variedad de técnicas instrumentales, tales como: espectroscopía de absorción atómica, espectroscopía de absorción molecular ultravioleta-visible, espectroscopía de emisión molecular, concretamente quimioluminiscencia molecular, e incluso por activación neutrónica. Además, este tipo de metodología ofrece la posibilidad de realizar el análisis por inyección en flujo (FIA), que permite minimizar el tiempo de análisis así como la manipulación de la muestra, reduciendo los riesgos de contaminación de la misma [Weeks y Bruland, 2002].

### **II.3.2.4. Preconcentración por voltamperometría de redisolución**

Los métodos voltamperométricos también han sido aplicados al análisis de trazas metálicas en agua de mar [Segura y col., 2008; Laglera y col., 2011; Kondo y col., 2012], pues presentan ciertas características muy adecuadas para este tipo de muestras, entre ellas su sensibilidad, el pequeño volumen de muestra que requieren así como su capacidad para realizar estudios de especiación, permitiendo además llevar a cabo análisis "in-situ". Se describirán con más detalles en el siguiente capítulo. La **Tabla II.9** muestra un resumen de la revisión de los métodos analíticos usados para la determinación y la especiación de hierro en muestras de aguas naturales, especialmente en agua de mar, incluyendo las técnicas de preconcentración utilizadas como etapa previa al análisis del metal en cuestión, y los límites de detección alcanzados por cada método.

**Tabla II.9. Métodos de determinación de hierro en aguas naturales**

Especie determinada	Método de detección	Preconcentración/ Agente complejante	L.D. (nmol/L)	Tipo de muestra	Referencia
Fe <sup>3+</sup> , Fe <sup>2+</sup>	Espectrofotometría	SPE/ (Ferrozina/ Columna C18)	0,1 Fe <sup>2+</sup> , 0,3 Fe <sup>3+</sup>	Agua de mar	Blain y Tréguer, 1995
Fe total	FIA/ Espectrofotometría	SPE/ (8-HQ/ Columna)	0,025	Agua de mar	Measures y col., 1995
Fe <sup>2+</sup>	FIA/ Quimioluminiscencia	SPE/ (8-HQ/ Columna)	0,1	Agua de mar	Powell y col., 1995
Fe <sup>3+</sup> , Fe <sup>2+</sup>	AdCSV	1-Nitroso-2-naftol (1N2N)	0,12 Fe <sup>2+</sup> , 0,077 Fe <sup>3+</sup>	Agua de mar	Gledhill y van den Berg, 1995
Fe <sup>3+</sup> , Fe <sup>2+</sup>	FIA/ Quimioluminiscencia	SPE/ (8-HQ/ Columna)	0,04	Agua de mar	Bowie y col., 1998
Fe total	ICP-MS	Coprecipitación/ Mg(OH) <sub>2</sub>	0,05	Agua de mar	Wu y Boyle, 1998
Fe total	ICP-MS	SPE/ (HEDC/ Columna C18)	0,006	Agua de mar	Wells y Bruland, 1998
Fe <sup>3+</sup>	FIA/ Quimioluminiscencia	SPE/ (8-HQ/ Columna)	0,021	Agua de mar	de Jong y col., 1998
Fe <sup>2+</sup> , Fe total	Espectrofotometría	LLE/ PDT	10	Agua de lago y agua de río	Croot y Hunter, 2000
Fe <sup>3+</sup> , Fe <sup>2+</sup>	Espectrofotometría	Ferrozina	300	Agua de mar y agua dulce	Viollier y col., 2000
Fe <sup>3+</sup> , Fe <sup>2+</sup>	FIA/UV-Vis/ AAS	SPE/ (2- Mercaptobenzimidazol/ Silica gel)	2,7	Agua mineral, agua de pozo y agua potable	Bagheri y col., 2000

Cont. **Tabla II.9.** Métodos de determinación de hierro en aguas naturales

Especie determinada	Método de detección	Preconcentración/ Agente complejante	L.D. (nmol/L)	Tipo de muestra	Referencia
Fe <sup>3+</sup>	FAAS, Espectrofotometría	LLE/CEIDNa	87	Agua de grifo, agua de río y agua de mar	Akl, 2003
Fe disuelto, Fe total, Fe lábil	FIA/ Espectrofotometría	-	1,6	Agua de mar	Laës y col., 2005
		SPE/ (8-HQ/ resina)	0,15		
Fe <sup>2+</sup>	Radioanálisis	SPE/ (Ferrozina/ Cartuchos C18	-	Agua de mar	Fischer y col., 2006
Fe total		SPE/ (1N2N)/ Cartuchos C18	-		
Fe <sup>3+</sup>	AdSCP	-	0,11	Agua de mar y agua de estuario	Riso y col., 2007
Fe <sup>3+</sup>	Espectrofotometría	SPE/ Amberlita XAD-4	41	Agua potabilizada con tratamiento con FeCl <sub>3</sub>	Vanloot y col., 2007
Fe <sup>3+</sup> , Fe <sup>2+</sup>	FAAS	LLE/ AMPC	4,3	Agua potable, agua de lago, de río y agua de mar	Saçmaci y Kartal, 2008
Fe <sup>3+</sup>	AAS	IE/ Zeolita	-	-	Al-Anber y Al- Anber, 2008
Fe <sup>3+</sup>	AdCSV	1-(2-Piridilazo)-2-naftol (PAN)	1,8	Agua de mar	Segura y col., 2008
Fe <sup>2+</sup>	FIA/ Quimioluminiscencia	SPE/ (8-HQ/ Columna)	-	Agua de mar	Ussher y col., 2009
Fe <sup>2+</sup>	Espectrofotometría	DLLME/ o-fenantrolina	134	Agua mineral	Tabrizi, 2010



Cont. Tabla II.9. Métodos de determinación de hierro en aguas naturales

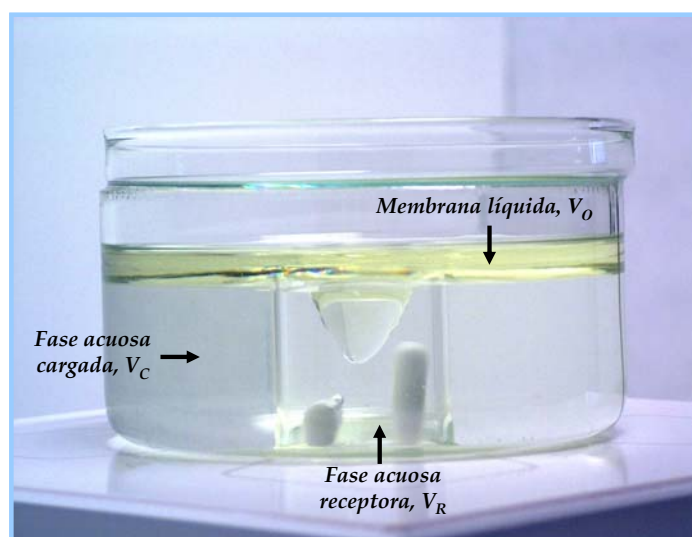
Especie determinada	Método de detección	Preconcentración/ Agente complejante	L.D. (nmol/L)	Tipo de muestra	Referencia
Especiación de Fe orgánico	AdCSV	SA y DHN	-	Agua de mar	Laglera y col., 2011
Especiación de Fe orgánico	AdCSV	1-Nitroso-2-naftol (1N2N)	0,15 Fe lábil	Agua de lluvia	Cheize y col., 2012
Fe <sup>2+</sup>	Espectrofotometría	Ferene	20	Agua de mar	Meyer y col., 2012
Fe total	rFIA/ Espectrofotometría	Dihidrocloruro de N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DPD)	0,4	Agua de mar	Huang y col., 2012

**8-HQ:** 8-hidroxiquinoleína; **AdCSV:** Voltametría de redisolución catódica adsorbtiva; **AdSCP:** Cronopotenciometría de redisolución adsorbtiva; **AMPC:** Ácido 4-Acetil-5-metil-1-fenil-1H-pirazol-3-carboxílico; **CEIDNa:** Sal sódica de 2-carboetoxi-1,3-indandiona; **DHN:** Dihidroxinaftaleno; **DLLE:** Microextracción líquido-líquido dispersiva; **FAAS:** Espectroscopia de absorción atómica con llama; **Ferene:** Sal disódica del ácido 3-(2-piridil)-5,6-di(2-furil)-1,2,4-triazina-5',5''-disulfónico; **FIA:** Análisis por inyección en flujo; **HEDC:** bis(2-hidroxietil) ditiocarbamato; **ICP-MS:** Espectrometría de masas y atomización con plasma acoplado inductivamente; **IE:** Intercambio iónico; **LLE:** Extracción líquido-líquido; **PDT:** 3-(2-piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazina; **rFIA:** Análisis por inyección en flujo inverso; **SA:** Salicilaloxima; **SPE:** Extracción en fase sólida

## II.4. DESARROLLO DE UN NUEVO MÉTODO PARA LA SEPARACIÓN Y PRECONCENTRACIÓN DE HIERRO EN AGUAS MEDIANTE EL DISEÑO DE UNA MEMBRANA LÍQUIDA

### II.4.1. Celda de membrana líquida empleada para la preconcentración de hierro

Como se indicó al principio de este capítulo, en este trabajo se propone un método para la separación y preconcentración de trazas de hierro mediante el diseño de una nueva membrana líquida de volumen. La celda empleada, y que aparece en la **Figura II.6**, consta de dos vasos concéntricos de distinto volumen fabricados en vidrio o cuarzo.



**Figura II.6.** Celda de membrana líquida de volumen

En el compartimento exterior, de mayor capacidad, se coloca lo que se denomina la fase de alimentación o *fase acuosa cargada* ( $V_C$ ) con la especie que se desea transferir a la *fase acuosa receptora* ( $V_R$ ), que se sitúa en el vaso interior. La disolución orgánica empleada como *membrana líquida* ( $V_O$ ), de menor densidad que las disoluciones acuosas utilizadas, queda sobre éstas poniéndolas en contacto, posibilitando el transporte del metal desde la fase cargada hacia la fase receptora. En este sistema, la diferencia de volumen entre los compartimentos destinados a las

disoluciones cargada y receptora, hace posible la concentración de la especie recuperada durante la separación. El proceso se lleva a cabo mediante agitación magnética de ambas disoluciones, con ayuda de imanes (1,2 cm x 0,4 cm) y empleando un agitador magnético.

La celda de membrana líquida de volumen se cubre con una placa de vidrio acoplada perfectamente a la celda, para evitar durante el proceso de preconcentración problemas de evaporación del disolvente orgánico y/o de contaminación. Según la relación de volumen entre la fase cargada y la fase receptora, se determina el factor de preconcentración del sistema de membrana líquida.

El fundamento del método a desarrollar se basa en una preconcentración a través de una extracción-reextracción simultánea del ión metálico mediante la formación de un complejo metálico neutro y su posterior destrucción con una fase receptora ácida.

En la interfase entre la fase cargada y la membrana líquida se forma el complejo metálico  $ML_n$ , que es soluble fundamentalmente en la fase orgánica. Dicho complejo metálico difunde a través de la membrana hacia la interfase membrana-disolución receptora, donde se descompone por la acción de una tercera especie química, el medio ácido, que al unirse al extractante produce el proceso opuesto. De esta forma, los iones metálicos son liberados en la fase receptora y se regenera el transportador, que regresa a la fase orgánica. La fuerza impulsora de esta transferencia de materia es el gradiente de concentración de protones entre las dos fases acuosas, de tal forma que los iones metálicos llegan a ser transportados incluso en contra de su gradiente de concentración (**Figura II.7**).

En la **Figura II.8** se detallan las dimensiones de la celda empleada. Los volúmenes de las disoluciones de alimentación y receptora se determinaron en ensayos previos, con objeto de evitar mezclas entre las diferentes fases acuosas durante el funcionamiento del sistema. Se observó que se podía utilizar un volumen de 260 mL de la disolución acuosa cargada y 12 mL de la disolución receptora, consiguiendo así un factor de preconcentración de 21,7.

Con objeto de favorecer el transporte de la especie de interés desde la fase cargada hacia la fase receptora y para minimizar el gasto de disolvente orgánico, se utilizó la menor cantidad posible de membrana líquida, siendo suficiente un volumen de 70 mL.

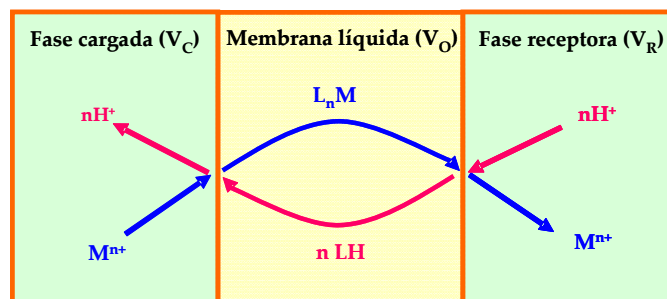


Figura II.7. Mecanismo de transporte de un ión metálico  $M$  a través de una membrana líquida de volumen empleando un ligando  $LH$  como transportador

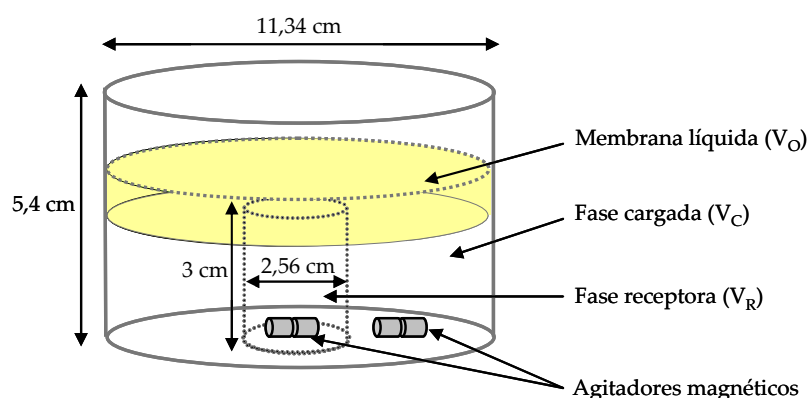


Figura II.8. Dimensiones de la celda de membrana líquida utilizada. Factor de preconcentración: 21,7

#### II.4.2. Estudios previos para la elección del transportador y del disolvente orgánico

La configuración de un sistema de membrana líquida requiere de un disolvente orgánico de baja miscibilidad con las disoluciones acuosas. Además, en el caso de transporte asistido se emplea un reactivo orgánico, soluble en el disolvente, que facilite

la permeabilidad del analito a través de la membrana. Para el transporte de iones metálicos se suelen utilizar ligandos quelatantes solubles en el disolvente orgánico.

En este trabajo se estudiaron como disolventes orgánicos hexanol, tolueno, cloroformo, N,N-dimetilformamida y octanol, y como agentes extractantes se utilizaron diferentes hidrazonas dadas sus características quelatantes. Para ello, se estudió previamente la solubilidad de algunas hidrazonas sintetizadas en nuestro laboratorio en estos disolventes orgánicos. En la **Tabla II.10** se recoge el carácter soluble de los reactivos estudiados.

**Tabla II.10.** Carácter soluble de diferentes hidrazonas en hexanol, tolueno, N,N-dimetilformamida, cloroformo y octanol

Reactivos	Carácter soluble				
	Hexanol	Tolueno	N,N-Dimetilformamida	Cloroformo	Octanol
<b>2-HBBH</b>	Si	Si	Si	Si	Si
<b>APBBH</b>	No	No	Si	Si	-
<b>DABBH</b>	Si	No	Si	Si	Si
<b>DAPBBH</b>	No	No	Si	Si	-
<b>VBH</b>	No	No	Si	No	Si
<b>VPH</b>	Si	Si	Si	Si	Si
<b>VSH</b>	No	No	Si	No	-

**2-HBBH:** 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona; **APBBH:** acetilfenilbenzaldehído benzoilhidrazona; **DABBH:** diacetilbenzaldehído benzoilhidrazona; **DAPBBH:** diacetilfenilbenzaldehído benzoilhidrazona; **VBH:** o-vanillina benzoilhidrazona; **VPH:** o-vanillina fenilhidrazona; **VSH:** o-vanillina saliciloilhidrazona

De todos los reactivos estudiados, solo o-vanillina fenilhidrazona (VPH) y 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH) fueron solubles en todos los disolventes orgánicos utilizados.

Así, se realizaron pruebas de extracción líquido-líquido para los reactivos que presentaron una cierta solubilidad en los disolventes orgánicos estudiados, seguido de pruebas de reextracción con una fase acuosa ácida. Se estudiaron diversos cationes metálicos de interés medioambiental. Estos estudios preliminares en discontinuo servirían posteriormente para su estudio de aplicabilidad en el sistema de membrana líquida, que funciona en continuo.

Para realizar las pruebas de extracción-reextracción se procedió de la siguiente manera:

En un tubo de ensayo se tomaron 3 mL de agua desionizada (Milli-Q) cuyo pH fue ajustado con 1 mL de la disolución reguladora universal Britton-Robinson (B.R.) de diferentes valores de pH: 4 (ácido), 7 (neutro) y 9 (básico) y se adicionaron 0,2 mL de disolución de metal de concentración 20 mg/L para obtener una concentración aproximada de 1 mg/L de metal en la muestra. A esta fase acuosa se le añadieron 2 mL de una disolución orgánica del ligando a estudiar.

La formación del complejo metal-ligando se determinó comprobando el cambio de color de la fase orgánica después de agitar los tubos unos dos minutos.

Después de realizar la extracción y separar ambas fases, se añadió sobre la fase orgánica unos 2 mL de HNO<sub>3</sub> 1 mol/L para destruir el complejo metal-ligando formado en la etapa anterior. La eficacia de la reextracción se comprobó por la desaparición del color previamente obtenido en la fase orgánica.

En la **Tabla II.11** se recogen los resultados obtenidos del estudio cualitativo de extracción para los tres valores de pH en función del metal añadido, empleando VPH y 2-HBBH en tolueno como ejemplo, y en la **Tabla II.12** los resultados obtenidos después de la reextracción ácida. En esta tabla puede observarse como podrían ser potencialmente preconcentrados por extracción-reextracción los metales Co<sup>2+</sup> (a pH 4, 7 y 9) y Cu<sup>2+</sup> (a pH 9) utilizando VPH y Fe<sup>3+</sup> (a pH 4) y Ni<sup>2+</sup> (a pH 9) con 2-HBBH.

**Tabla II.11.** Estudios cualitativos de extracción de iones metálicos con VPH y 2-HBBH disueltos en tolueno

Metal	VPH			2-HBBH		
	pH=4	pH=7	pH=9	pH=4	pH=7	pH=9
<b>Tl<sup>+</sup></b>	No	No	No	No	No	No
<b>V<sup>5+</sup></b>	No	No	No	<b>Si</b>	No	No
<b>Co<sup>2+</sup></b>	<b>Si</b>	<b>Si</b>	<b>Si</b>	No	No	No
<b>Cr<sup>3+</sup></b>	No	No	No	No	No	No
<b>As<sup>3+</sup></b>	No	No	No	No	No	No
<b>Ag<sup>+</sup></b>	No	No	No	No	No	No
<b>Bi<sup>3+</sup></b>	No	No	No	No	No	No
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	No	No	No	<b>Si</b>	No	No
<b>Cu<sup>2+</sup></b>	No	No	<b>Si</b>	No	No	No
<b>Pb<sup>2+</sup></b>	No	No	No	No	No	No
<b>Zn<sup>2+</sup></b>	No	No	No	No	<b>Si</b>	No
<b>Ni<sup>2+</sup></b>	No	No	No	No	No	<b>Si</b>
<b>Cd<sup>2+</sup></b>	No	No	No	No	No	<b>Si</b>

*2-HBBH: 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona; VPH: o-vanillina fenilhidrazona*

A partir de los resultados obtenidos en estos estudios previos, y dada la importancia medioambiental del análisis de hierro en muestras acuosas, se seleccionó el reactivo orgánico 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH) como ligando transportador y el hierro como especie de interés, para desarrollar una membrana líquida con posibles aplicaciones al análisis de este metal.

**Tabla II.12.** Estudios cualitativos de reextracción de iones metálicos complejados por VPH y 2-HBBH en tolueno con un medio ácido ( $\text{HNO}_3$  1 mol/L)

Metal	VPH			2-HBBH		
	Condiciones previas de extracción					
	pH=4	pH=7	pH=9	pH=4	pH=7	pH=9
$\text{V}^{5+}$	-	-	-	No	-	-
$\text{Co}^{2+}$	Si	Si	Si	-	-	-
$\text{Fe}^{3+}$	-	-	-	Si	-	-
$\text{Cu}^{2+}$	-	-	Si	-	-	-
$\text{Zn}^{2+}$	-	-	-	-	No	-
$\text{Ni}^{2+}$	-	-	-	-	-	Si
$\text{Cd}^{2+}$	-	-	-	-	-	No

2-HBBH: 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona; VPH: o-vanillina fenilhidrazona

#### II.4.3. Características del ligando transportador de la membrana líquida propuesta: 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH)

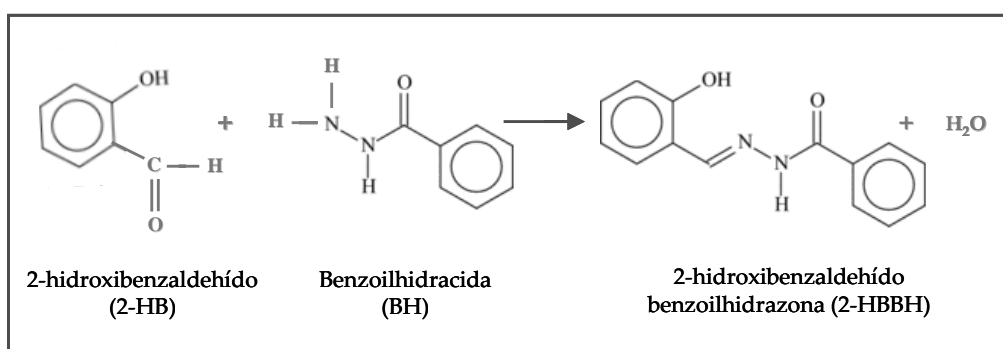
El sistema de la membrana líquida propuesto en este trabajo utiliza la 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona como agente transportador del metal a través de la membrana (tolueno) desde la fase cargada hacia la receptora mediante un mecanismo de transporte asistido, y más concretamente de contratransporte acoplado (ver **Figura II.4**).

La síntesis de la 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH) se realiza por condensación, siguiendo el procedimiento que se describe a continuación:

En un vaso de precipitado de 100 mL de capacidad, se disuelven 1,11 g de benzoilhidracida (BH) (Sigma Aldrich (Steinheim, Alemania)) en 30 mL de agua desionizada (Milli-Q) y se añaden 20 mL de etanol conteniendo 1 mL de 2-hidroxibenzaldehído (salicilaldehído) (2-HB) (Sigma Aldrich (Steinheim, Alemania)). Se mezcla el contenido del vaso hasta homogeneización y se deja reposar a



temperatura ambiente hasta obtención de un precipitado blanco que se filtra mediante vacío. El reactivo obtenido se recrystaliza dos veces en etanol/agua (1:1) y se deja en el frigorífico durante 24 horas para conseguir una buena recrystalización que permita eliminar el exceso de los reactivos de partida. Tras la última recrystalización y filtrado, se obtiene un producto amarillo claro que se seca en la estufa durante aproximadamente 6 horas a 50 °C para quitar toda la humedad, obteniéndose finalmente la 2-HBBH en forma de polvo de aspecto filamentoso cristalino. La reacción de condensación para la síntesis de la 2-HBBH aparece descrita en la **Figura II.9**.



**Figura II.9.** Síntesis del ligando 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH)

Este ligando presenta tres grupos adecuados para formar enlaces de coordinación con metales de transición: el grupo hidroxilo fenólico, el nitrógeno del grupo azometino y el grupo carbonilo de la amida. La reactividad del primer grupo depende fuertemente del medio, estando involucrado en la coordinación de metales en medios neutros y básicos. De este modo, el grupo carbonilo de la amida y el nitrógeno del azometino juegan un papel más importante en la coordinación que el oxígeno fenólico cuando el grupo hidroxilo no está ionizado. En este caso, la 2-HBBH se comporta como ligando bidentado en medios ácidos, mientras que es un ligando mononegativo tridentado en medios básicos y ligeramente neutros [Lu y col., 2006]. Cuando la 2-HBBH actúa como ligando tridentado es a través del oxígeno del grupo

hidroxilo, del nitrógeno del grupo azometino y del grupo carbonilo en su forma cetónica [Ainscough y col., 1995; Zidan, 2004].

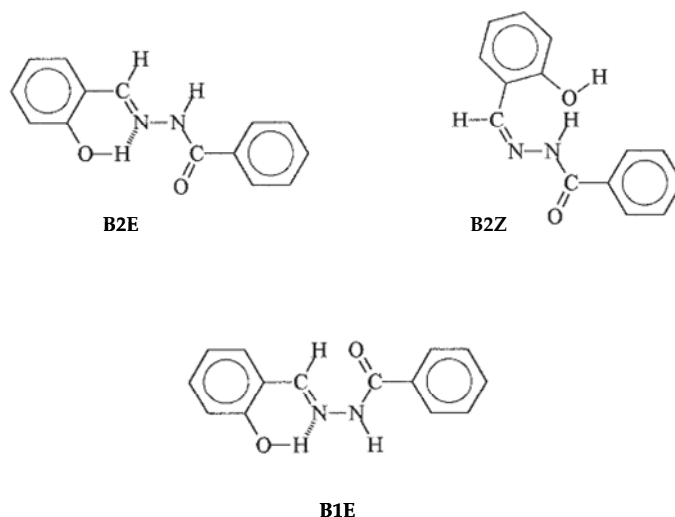
La solubilidad de la 2-HBBH en agua es baja, y posee dos funciones ácidas con valores de  $pK_a$  de 6,77 del grupo OH y 9,11 del grupo NH [Cordier y col., 2004].

El análisis de la molécula de 2-HBBH por espectroscopía de infrarrojos indica la presencia de las siguientes bandas vibracionales:  $\nu(N-H) + \nu(O-H)$  3175(w);  $\nu(C=O)$  1675(s);  $\nu(C=N) + \text{amida(II)}$  1620(m) [Ainscough y col., 1998]. Este ligando muestra una banda alrededor de 3400 y 3200  $\text{cm}^{-1}$ , debido a la tensión de los enlaces entre O-H y N-H de los grupos OH y NH libres, respectivamente. Estas bandas no aparecen en el complejo metálico, lo cual sugiere la desprotonación del grupo fenólico y la coordinación a través del oxígeno fenólico y la enolización del grupo carbonilo, seguido de desprotonación [Sreeja y Prathapachandra-Kurup, 2005].

Existen dos formas sólidas para la 2-HBBH: una cristalina [Murphy y col., 1985] y otra amorfa [Grammaticakis, 1950]. El análisis por RX de los monocristales revela la presencia del isómero E [Lyubchova y col., 1995] denominado B2E en la Figura II.10. El análisis por RNM bidimensional indica la misma estructura para la 2-HBBH disuelto en DMSO [Colonna y col., 1993]. Además, este ligando tiene la misma estructura en sus complejos metálicos con  $\text{Cu}^{2+}$  [Aruffo y col., 1982, 1984; Ainscough y col., 1995, 1998],  $\text{Fe}^{3+}$  [Aruffo y col., 1982, 1984],  $\text{Mn}^{2+}$  [Dutta y col., 1995],  $\text{Mo}^{6+}$  [Khudoyarov, 1991] y  $\text{U}^{6+}$  [Gulbaev y col., 1997], lo que sugiere que B2E es la estructura más estable.

La estructura de la 2-HBBH en medio DMSO/ $\text{H}_2\text{O}$  ha sido estudiada por Cordier y col. mediante espectroscopía IR y RMN [Cordier y col., 2004]. La adición de agua a disoluciones diluidas de este reactivo en DMSO cambia la conformación principal de la forma B2E a B1E donde el grupo carbonilo está asociado con agua. La forma B2Z también se ha detectado en DMSO y en la mezcla DMSO/ $\text{H}_2\text{O}$ . La forma B2E pasa a B2Z por la rotación sobre el doble enlace C=N, y a B1E por la rotación sobre el enlace de N-N.

El equilibrio entre las formas B1E, B2E y B2Z parece depender principalmente del impedimento estérico y de la formación del enlace de hidrógeno que implica los dos átomos de nitrógeno de la hidrazona o por lo menos uno de ellos. Se ha demostrado que la primera deprotonación ocurre en el sitio de NH para las formas B1E y B2E, y en el sitio del grupo OH fenólico para B2Z.



**Figura II.10.** Estructuras B2E, B2Z y B1E de la 2-HBBH [Cordier y col., 2004]

La 2-HBBH es una base de Schiff que puede reaccionar con un amplio número de metales de transición [Yuan y col., 2001; Sazanovich y col., 2003; Lu y col., 2006] y formar numerosos complejos con los mismos. Ha sido utilizada como reactivo en voltamperometría de redisolución catódica adsorptiva en la determinación simultánea de  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{Bi}^{3+}$  [Espada y col., 2009b] y hasta el momento no ha sido aplicada su capacidad de complejación para la preconcentración por membranas líquidas.

El ligando 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH), también denominado salicilaldehído benzoilhidrazona (SBH) pertenece a una serie de quelatantes de hierro propuesta por Ponka y col. [Ponka y col., 1979a,b; Richardson y Ponka, 1998] para quimioterapia en tratamientos por sobredosis de hierro, en desorden clínico por hemocromatosis o en tratamientos asociados a transfusiones de

sangre repetidas [Ponka y col., 1979a,b; Johnson y col., 1982; Avramovici-Grisaru, 1983; Richardson y Ponka, 1998]. Las hidrazonas de este tipo también tienen características biológicas interesantes como, por ejemplo, actividad antibacteriana [Dimmock y col.; 1972] y antitumoral [Johnson y col.; 1982] relacionadas con la inhibición de la síntesis del ADN en varias células del ser humano y de roedores.

#### **II.4.4. Pruebas preliminares del proceso de extracción-reextracción de Fe<sup>3+</sup> mediante membrana líquida utilizando el ligando 2-HBBH**

Se realizaron diversos estudios preliminares para el diseño de la membrana líquida. En estos estudios las disoluciones de hierro utilizadas para la preparación de la fase cargada se realizaron a partir de una disolución patrón de 1000 mg/L de Fe<sup>3+</sup> Certipur utilizando agua desionizada (Milli-Q). Con objeto de conservar estas disoluciones se les añadió una concentración de ácido nítrico Suprapur 0,05 mol/L para evitar la precipitación de metal. Además, para evitar la contaminación debida al vidrio se emplearon matraces aforados de plástico TPX para la preparación y botes de teflón para guardar estas disoluciones en el frigorífico. Las concentraciones inferiores a 50 mg/L fueron preparadas diariamente. Todas las disoluciones se prepararon en cabina de flujo laminar Clase 100 (Crusair 9005-FL, Cruma, España), para evitar posibles contaminaciones por la atmósfera del laboratorio.

Para la detección del metal preconcentrado en la fase receptora se utilizó la Espectroscopía de Absorción Atómica (AAS). Los patrones utilizados de la recta de calibración para medir la concentración de Fe<sup>3+</sup> en la fase receptora, se prepararon a partir de un patrón de 100 mg/L de Fe<sup>3+</sup> y una disolución de HNO<sub>3</sub> saturada con tolueno. Esta disolución se preparó por agitación manual con tolueno durante cinco minutos en un embudo de decantación y posterior reposo hasta separación de las dos fases acuosa y orgánica.

##### **II.4.4.1. pH de la fase cargada**

En los estudios previos (II.4.2) se observó que la extracción del Fe<sup>3+</sup> con 2-HBBH se producía en condiciones ácidas. Además, y dado que el catión de Fe<sup>3+</sup> precipita

fácilmente al subir el pH, se decidió trabajar controlando el pH de la fase cargada con disolución reguladora de cloroacético/cloroacetato (HAcCl/AcCl). La preparación de esta reguladora se realizó a partir de una disolución de ácido cloroacético en agua desonizada (Milli-Q) a la que se le añadió KOH hasta obtener el pH deseado.

Dado que es importante mantener el pH de la disolución cargada durante el proceso de extracción-reextracción, se estudió el efecto de la concentración de la disolución reguladora en la fase cargada sobre la conservación del pH de la misma durante el proceso de preconcentración en la celda de membrana líquida. Se realizaron cuatro experimentos modificando la concentración del sistema tamponante HAcCl/AcCl<sup>-</sup> partiendo de un valor de pH inicial de aproximadamente 2. Igualmente se estudiaron tres de los disolventes orgánicos que en los estudios en discontinuo fueron adecuados para disolver la 2-HBBH: hexanol, octanol y tolueno. Las condiciones de la membrana fueron:

**Fase cargada o de alimentación:** disolución acuosa conteniendo 0,5 mg/L de Fe<sup>3+</sup> y disolución reguladora cloroacético-cloroacetato de pH inicial aproximadamente de 2.

**Membrana líquida:** disolución orgánica conteniendo 0,168 g de 2-HBBH en un volumen de 70 mL para obtener una concentración de 0,01 mol/L de ligando en la membrana. Se consideró como concentración adecuada de agente transportador la presencia de un exceso considerable de ligando en la membrana líquida frente a la concentración de metal en la fase cargada, con la finalidad de desplazar la reacción de complejación metal-ligando. En todos los estudios realizados en este trabajo, la concentración de ligando fue aproximadamente 1000 veces superior a la concentración de metal.

**Fase receptora:** disolución de HNO<sub>3</sub> 3 mol/L, de calidad Suprapur. Con esta acidez se destruía el complejo metálico formado en la fase orgánica, favoreciendo la reextracción del metal hacia la fase receptora.

El sistema de la membrana líquida se mantuvo con agitación durante 6-8 horas a temperatura ambiente a 800 rpm. El pH de la fase cargada fue medido al comienzo y al final de cada experimento. Durante el proceso de preconcentración se observó como la

fase orgánica se iba coloreando indicando la formación del complejo metálico en la membrana líquida. El color amarillo-verde claro obtenido en esta fase desaparecía posteriormente conforme se iba produciendo la destrucción del complejo formado y reextracción del metal en la fase receptora.

Los resultados de este estudio realizados para el hexanol se recogen en la **Tabla II.13**. Puede apreciarse una disminución en el pH de la fase cargada durante el funcionamiento del sistema, siendo menor para una concentración de disolución reguladora de 0,67 mol/L en la fase cargada. Esta disminución de pH es debida al cotransporte en dirección contraria de los protones en relación al flujo de metal (ver **Figura II.7**). No se pudieron emplear concentraciones más altas de reguladora por falta de solubilidad de los reactivos. Por consiguiente, se eligió esta concentración máxima de reguladora de 0,67 mol/L en la fase cargada. Comparando la eficacia de la extracción para los tres disolventes orgánicos estudiados, pudo comprobarse que tanto tolueno como octanol producían similares porcentajes de preconcentración, pero fue con tolueno con el que se mantuvo el pH de forma más constante durante el proceso (**Tabla II.14**). A partir de estos resultados se decidió escoger el tolueno como disolvente orgánico para la membrana líquida.

**Tabla II.13.** Variación del pH de la fase cargada después del proceso de preconcentración con membrana líquida en función de la concentración de la disolución reguladora ([2-HBBH]=0,01 mol/L en hexanol; tiempo de agitación=6 h)

[HAcCl/AcCl <sup>-</sup> ] (mol/L)	pH Inicial (Vc)	pH Final (Vc)
0,13	1,97	0,75
0,27	1,92	0,93
0,33	1,93	1,52
0,67	1,97	1,72

**Tabla II.14.** Eficacia del transporte de  $Fe^{3+}$  utilizando diferentes disolventes en la composición de la membrana líquida empleada ( $[2\text{-HBBH}] = 0,01 \text{ mol/L}$ ; tiempo de agitación = 8 h)

Disolvente	% Recuperación $Fe^{3+}$	pH Inicial (Vc)	pH Final (Vc)
Hexanol	20,95	1,97	1,72
Octanol	42,26	2,01	1,62
Tolueno	42,56	2,23	2,21

Con objeto de comprobar la selectividad del transporte para  $Fe^{3+}$  frente al  $Fe^{2+}$  se realizaron los mismos experimentos añadiendo a la fase cargada  $0,5 \text{ mg/L}$  ( $8,95 \cdot 10^{-6} \text{ mol/L}$ ) de  $Fe^{3+}$  y una disolución en exceso de ácido ascórbico ( $7,93 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$ ), con el fin de reducir todos los iones  $Fe^{3+}$  presentes en la fase cargada. El resto de las condiciones físico-químicas se mantuvieron constantes e iguales al estudio anterior. Los resultados, recogidos en la **Tabla II.15**, mostraron que el transporte del  $Fe^{2+}$  mediante la membrana líquida de volumen diseñada no se producía, permitiendo sólo el transporte de iones  $Fe^{3+}$ . Además se observó que durante el proceso de extracción con iones de  $Fe^{2+}$  la fase orgánica no se coloreaba como ocurría con los iones  $Fe^{3+}$  y se mantuvo el aspecto casi incoloro característico del reactivo en tolueno, lo que confirmaba que la extracción y transporte del  $Fe^{2+}$  no se producía. Esto hace muy interesante el sistema que se propone pues permite su aplicación en estudios de especiación de este elemento, de gran interés en análisis medioambiental.

**Tabla II.15.** Eficacia del transporte de  $Fe^{2+}$  utilizando diferentes disolventes en la composición de la membrana líquida ( $[2\text{-HBBH}] = 0,01 \text{ mol/L}$ ; tiempo de agitación = 8 h)

Disolvente	% Recuperación $Fe^{2+}$	pH Inicial (Vc)	pH Final (Vc)
Hexanol	0	2,09	2,08
Octanol	0	2,06	1,71
Tolueno	0	1,94	1,93

#### II.4.4.2. Influencia de la temperatura en el proceso de transporte de Fe<sup>3+</sup> con 2-HBBH

La temperatura es un parámetro muy importante en los procesos cinéticos de transporte; así el incremento de este parámetro suele favorecerlos. En algunos casos actúa negativamente cuando contribuye a la destrucción de algunos compuestos químicos presentes en el sistema.

El estudio de la influencia de la temperatura sobre la eficacia del transporte y la preconcentración de Fe<sup>3+</sup> mediante el reactivo orgánico 2-HBBH en tolueno se realizó empleando un baño termostático, manteniendo las restantes condiciones experimentales descritas en el apartado anterior y utilizando un tiempo de preconcentración de 6 horas.

En este apartado de estudios previos, se estudiaron solo dos temperaturas: 25 °C y 35 °C, demostrándose que un aumento de temperatura de 10 °C mejoraba el rendimiento de la preconcentración en un valor de aproximadamente un 10% (**Tabla II.16**). Además, se puede observar como este incremento de temperatura consigue prácticamente la misma eficacia que se alcanzaba con 8 horas a temperatura ambiente (42%) (ver **Tabla II.14**). Por tanto, se consideró importante realizar los experimentos de membrana líquida con control de temperatura y estudiar con mayor detalle esta influencia una vez se hubieran optimizado los restantes parámetros del sistema.

**Tabla II.16.** Eficacia del transporte de Fe<sup>3+</sup> a diferente temperatura ([2-HBBH]=0,01 mol/L en tolueno; tiempo de agitación=6 h)

Temperatura (°C)	% Recuperación Fe <sup>3+</sup>	pH Inicial (Vc)	pH Final (Vc)
25	31,16	2,06	2,11
35	41,9	2,05	2,03

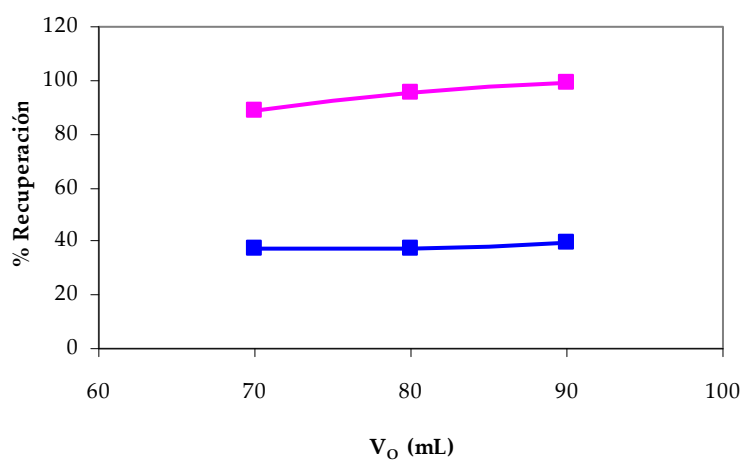
#### II.4.4.3. Influencia del volumen de la membrana líquida (Vo)

Con objeto de mejorar la eficacia del transporte en la membrana líquida, se estudió la influencia de incrementar su volumen, facilitando el contacto entre las fases



acuosa y orgánica. Para ello, se varió  $V_o$  en el intervalo de 70 a 90 mL, manteniendo constante e igual a 0,01 mol/L la concentración del reactivo orgánico 2-HBBH disuelto en tolueno. Los volúmenes de la fase cargada y la fase receptora empleados fueron 260 y 12 mL, respectivamente. Este estudio se llevó a cabo utilizando una disolución de 0,5 mg/L de  $Fe^{3+}$  a pH 1,5 controlado mediante una disolución reguladora HAcCl/AcCl- 0,67 mol/L como fase cargada, y una disolución de ácido nítrico de 3,5 mol/L como fase receptora. En este caso se incrementó la concentración de ácido para favorecer aún más la reextracción. El proceso de preconcentración se llevo a cabo a una temperatura de 35 °C controlada mediante un baño termostático con agitación magnética.

En la **Figura II.11** se ha representado la eficacia de la preconcentración a las 3 y 6 horas en función del volumen de la fase orgánica del sistema de la membrana líquida estudiado. De los resultados obtenidos se comprobó que el incremento del volumen de la membrana líquida mejoraba ligeramente el proceso de preconcentración, pero no de forma significativa siendo muy destacado el mayor volumen de tolueno empleado. Por tanto, se optó por seguir empleando 70 mL como volumen para la membrana líquida.



**Figura II.11.** Variación de la eficacia de la preconcentración con el volumen de la membrana líquida (■ 3 h y ■ 6 h)

## II.4.5. Propiedades del ligando transportador de la membrana líquida en disolución: 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH)

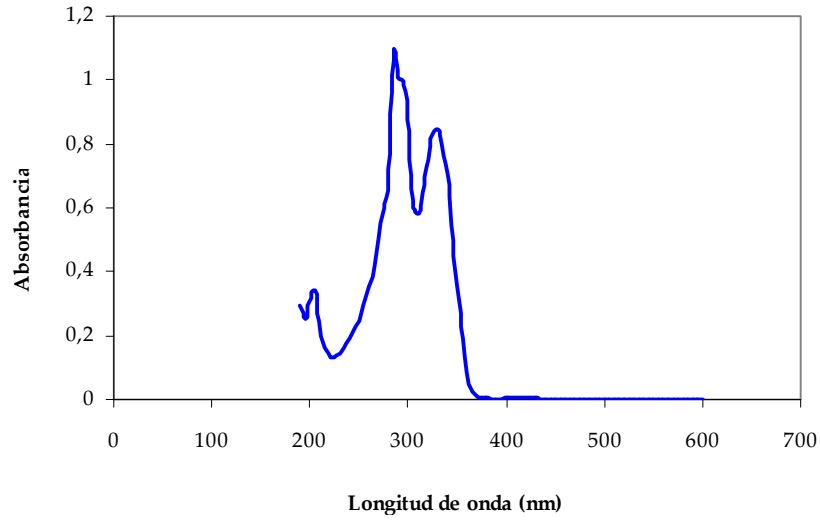
### II.4.5.1. Disolución de 2-HBBH en tolueno

Para utilizar correctamente la 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH) en tolueno como membrana líquida, se estudiaron previamente algunas de sus características en disolución: solubilidad en tolueno, espectro de absorción molecular ultravioleta-visible y la estabilidad espectrofotométrica de la disolución con el tiempo.

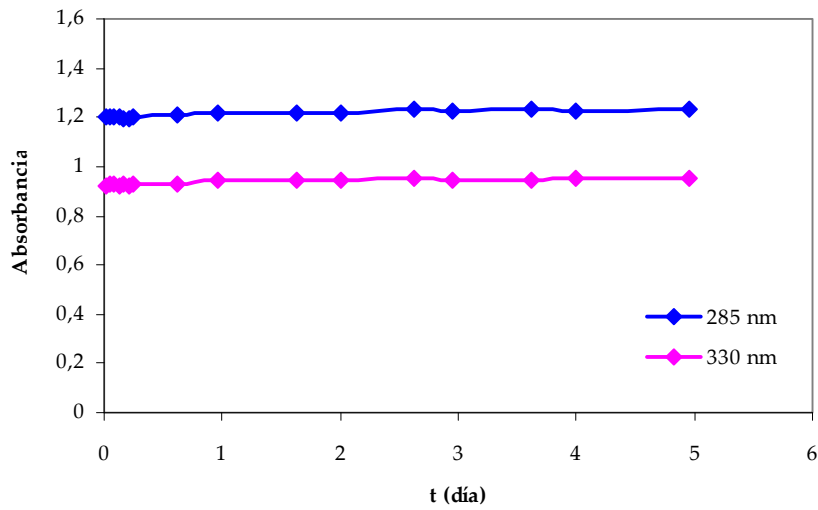
La solubilidad de la 2-HBBH en tolueno fue estudiada para comprobar si este reactivo era lo suficientemente soluble en el disolvente seleccionado como para que su concentración fuera suficiente y le permitiera actuar como agente transportador de todo el metal. Se consideró como concentración adecuada de agente transportador la presencia de un exceso considerable de ligando frente a las concentraciones usuales de hierro en aguas naturales (0,2-3925  $\mu\text{g/L}$  ó 0,0036-70,3  $\mu\text{mol/L}$ ) [Crompton, 2007]. Se observó que este reactivo no era bastante soluble en tolueno, permitiendo disolver solamente hasta 0,65 g/L. Sin embargo presenta una solubilidad alta en N,N-dimetilformamida. Por ello, en caso de usar concentraciones altas de este reactivo se procedió a disolverlo previamente en una pequeña alícuota de N,N-dimetilformamida antes de su disolución en tolueno (0,5-1,5% v/v DMF/tolueno).

Para conocer la estabilidad de la 2-HBBH en tolueno, se realizó un estudio espectral de las disoluciones a utilizar. Así, se registró el espectro de absorción UV-Vis de la 2-HBBH en tolueno frente al tolueno como disolución de referencia. El espectro presenta dos bandas de absorción a 285 y 330 nm (**Figura II.12**). El estudio de la estabilidad de la 2-HBBH consistió en medir la absorbancia de la disolución de este reactivo en las condiciones de concentración adecuada para el sistema de membrana líquida desarrollado, pero la elevada absorbancia de la disolución para estas condiciones ( $[2\text{-HBBH}] = 0,01 \text{ mol/L}$ ) requirió diluir ésta en el instante previo a la medida espectrofotométrica ( $[2\text{-HBBH}] = 5,98 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$ ). La disolución se mantuvo durante el estudio a 4 °C y en la oscuridad para su mejor conservación. Los resultados

mostraron que la disolución era muy estable, manteniéndose constante el espectro UV-Vis al menos 5 días desde su preparación (**Figura II.13**).



**Figura II.12.** Espectro de absorción molecular UV-Vis de la disolución de 2-HBBH en tolueno ( $[2\text{-HBBH}] = 5,98 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$ )



**Figura II.13.** Estabilidad de la disolución de 2-HBBH en tolueno ( $5,98 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$ )

#### II.4.5.2. Determinación de la estequiometría del complejo $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH

Para determinar la estequiometría del complejo que se forma entre los iones  $\text{Fe}^{3+}$  y el reactivo complejante 2-HBBH, se emplearon dos métodos: el método de las variaciones continuas y el de la razón molar o proporción de moles.

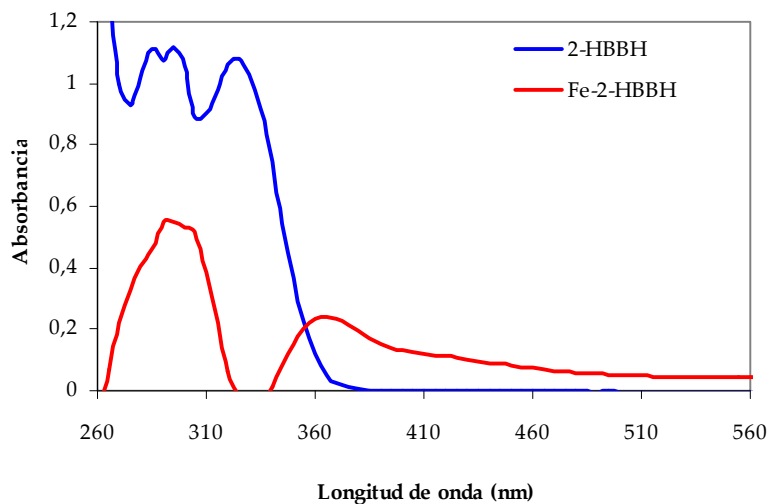
##### II.4.5.2.1. Características de la disolución acuo-etanólica de $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH

Los estudios de estequiometría de los complejos se suelen realizar mediante medidas espectrofotométricas, por lo que se hace necesario conocer el espectro UV-Vis del complejo objeto de estudio en el medio empleado. Para preparar las disoluciones se emplearon las condiciones químicas óptimas de la membrana líquida que se desarrollan en este trabajo para la preconcentración de hierro mediante membrana líquida (ver siguientes apartados). De esta forma, se prepararon las disoluciones de ligando y complejo metálico mediante el siguiente procedimiento:

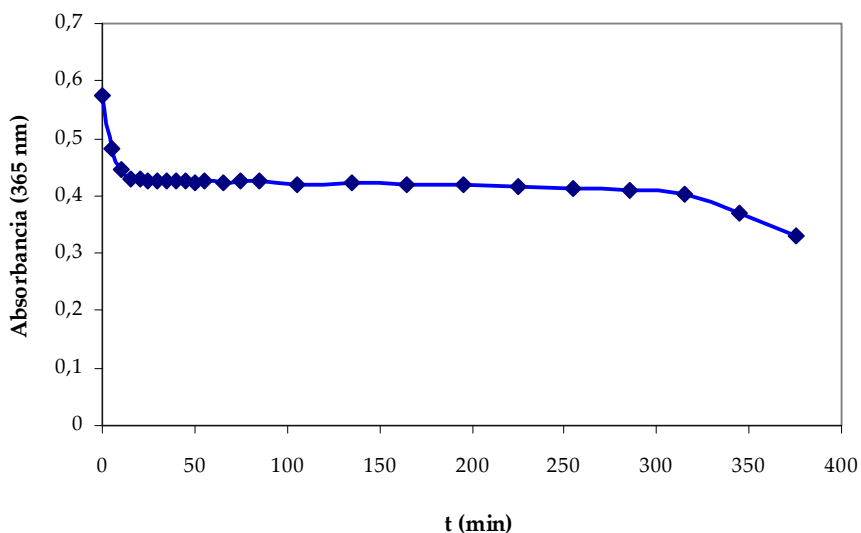
Se adicionó en matraces aforados de 25 mL un volumen de 4,17 mL de la disolución reguladora  $\text{HAcCl}/\text{AcCl}^-$  4 mol/L de pH 1,9 y 2 mL de una disolución de 2-HBBH  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L disuelto en etanol (concentración en el matraz de  $1,6 \cdot 10^{-4}$  mol/L). La disolución del complejo se preparó de la misma manera añadiendo a la disolución del ligando, de igual composición que la anterior, 1 mL de una disolución de  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L de metal (concentración en el matraz de  $8 \cdot 10^{-5}$  mol/L). Las muestras se enrasaron hasta 25 mL con agua desionizada (Milli-Q). Se registraron los espectros de la muestra del ligando frente a un blanco de etanol y del complejo frente a la disolución de reactivo como blanco. En la **Figura II.14** se recogen los espectros obtenidos, observándose un máximo de absorción del complejo metálico de  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH a 365 nm.

De igual forma, y antes de evaluar la estequiometría, se examinó la estabilidad del complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH en la disolución acuoetanólica. Para ello se midió la variación de la absorbancia de una disolución conteniendo  $2 \cdot 10^{-4}$  mol/L del ligando 2-HBBH y  $10^{-4}$  mol/L de  $\text{Fe}^{3+}$  a la longitud de onda de máxima absorbancia determinada en el estudio anterior, 365 nm. Los resultados obtenidos, representados en la **Figura II.15**, indicaron que el valor de la absorbancia se mantiene constante entre unos 3 y 300

minutos desde la preparación de la disolución, indicando que el complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH es estable durante este intervalo de tiempo en disolución acuo-etanólica. Ello permitió proceder al estudio de la estequiometría de este complejo realizando las medidas espectrofotométricas necesarias dentro del intervalo de tiempo establecido.



**Figura II.14.** Espectros UV-Vis del ligando 2-HBBH y del complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH en disolución acuoetanólica a pH 1,9 ( $[2\text{-HBBH}] = 1,6 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$ ;  $[\text{Fe}^{3+}] = 8 \cdot 10^{-5} \text{ mol/L}$ )



**Figura II.15.** Estabilidad espectrofotométrica (a 365 nm) de la disolución acuoetanólica del complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH a pH 1,9 ( $[2\text{-HBBH}] = 2 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$ ;  $[\text{Fe}^{3+}] = 10^{-4} \text{ mol/L}$ )

#### II.4.5.2.2. Aplicación del método de las variaciones continuas o método de Job

Este método permite determinar la estequiometría de un complejo metálico a través de medidas de espectrofotometría UV-Vis. Para ello, se preparan distintas disoluciones de concentración conocida del ión metálico y del ligando, manteniendo constante el número de moles totales presentes en la disolución de tal manera que las proporciones de sus concentraciones respectivas se ajustan gradualmente desde una disolución que contenga únicamente ligando hasta una disolución que contenga sólo metal. La representación de los valores de absorbancia de dichas disoluciones en función de la fracción molar del metal permite determinar la estequiometría del complejo estudiado [Kirkbright y col., 1965]. La curva primero aumenta a medida que se forma más complejo, alcanza el máximo cuando se llega a la relación estequiométrica y de ahí comienza a descender debido a una insuficiencia del ligando formador de complejo. La curvatura de la línea experimental en la zona intermedia se debe a que en esa zona se alcanzan las condiciones de equilibrio, lo que permite evaluar la constante de formación del complejo. Para ello se mide la desviación de la curva con respecto a la extrapolación de las rectas teóricas que se obtendrían en esa zona si la reacción entre el ligando y el metal estuviera totalmente desplazada en el sentido de formación del complejo.

Para aplicar este método en el estudio de la estequiometría del complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH, se prepararon disoluciones acuosas de patrones de  $\text{Fe}^{3+}$  y el reactivo 2-HBBH en etanol. A partir de ellas se prepararon varias muestras en las que se fue variando la fracción de  $\text{Fe}^{3+}$ , pero manteniendo constante el número total de los moles en las muestras. Las muestras contenían: 4,17 mL de disolución tampón HAcCl/AcCl<sup>-</sup> 4 mol/L de pH 1,9; de 0 a 2 mL de disolución acuosa de  $\text{Fe}^{3+}$   $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L y de 2 a 0 mL de disolución etanólica de 2-HBBH  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L. Todas las muestras tuvieron el mismo volumen de etanol, que fue adicionado en la proporción requerida hasta completar con un 20% v/v. Estas muestras se enrasaron a 10 mL con agua Milli-Q y se agitaron en ultrasonido durante 2 o 3 minutos. Los blancos se prepararon de la misma manera con la misma matriz sin adición del ión metálico, midiendo la absorbancia a 365 nm. La descripción completa de la preparación de estas disoluciones se recoge en la **Tabla**

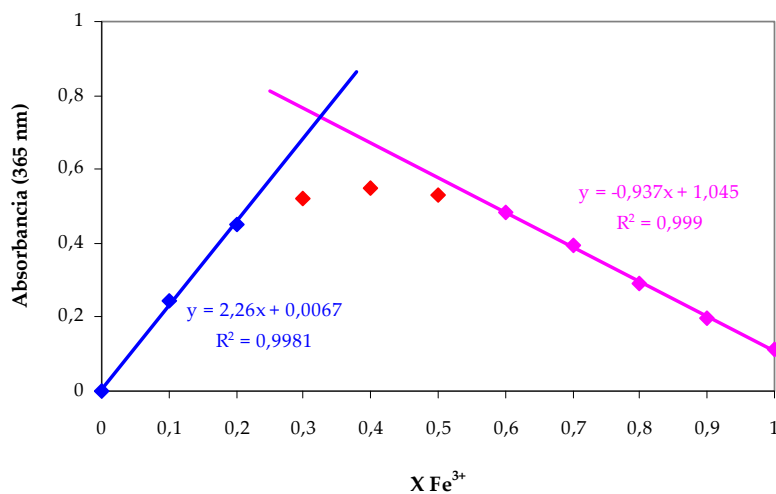
**II.17**, en la que se puede observar que la concentración total de metal más ligando es constante para todas las muestras e igual a  $4 \cdot 10^{-4}$  mol/L. De igual forma se realizó otro estudio con una concentración total M+L más diluida, de  $2 \cdot 10^{-4}$  mol/L.

**Tabla II.17.** Composición de las disoluciones utilizadas para la determinación de la estequiometría del complejo  $Fe^{3+}$ -2-HBBH aplicando el método de las variaciones continuas (Concentración total (M+L):  $4 \cdot 10^{-4}$  mol/L (volumen final=10 mL))

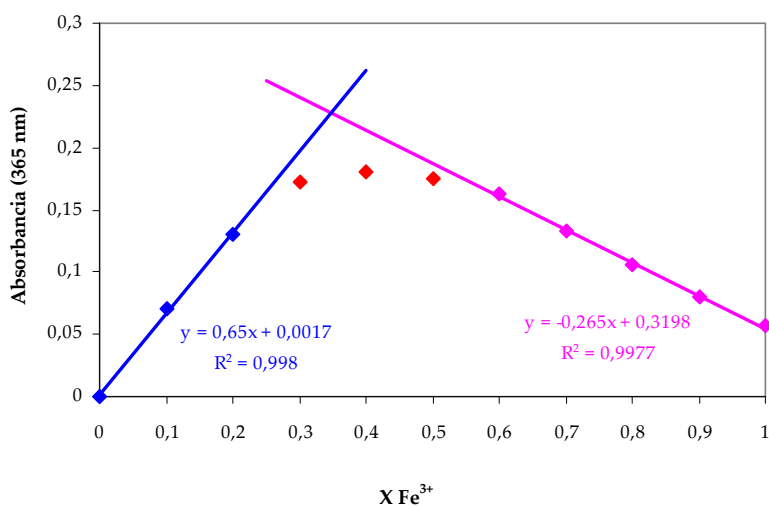
Muestra	V <sub>T</sub> (mL)	V <sub>Fe</sub> (mL)	V <sub>2-HBBH</sub> (mL)	V <sub>Et</sub> (mL)	X <sub>Fe</sub>	Abs (365 nm)
1	1,7	0	2	0	0	0,001
2	1,7	0,2	1,8	0,2	0,1	0,244
3	1,7	0,4	1,6	0,4	0,2	0,453
4	1,7	0,6	1,4	0,6	0,3	0,519
5	1,7	0,8	1,2	0,8	0,4	0,547
6	1,7	1	1	1	0,5	0,531
7	1,7	1,2	0,8	1,2	0,6	0,483
8	1,7	1,4	0,6	1,4	0,7	0,394
9	1,7	1,6	0,4	1,6	0,8	0,289
10	1,7	1,8	0,2	1,8	0,9	0,199
11	1,7	2	0	2	1	0,112

V<sub>T</sub>: volumen de tampón HAcCl/AcCl- 4 mol/L de pH 1,9; V<sub>Fe</sub>: volumen de  $Fe^{3+}$   $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L; V<sub>2-HBBH</sub>: volumen de 2-HBBH  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L; V<sub>Et</sub>: volumen de etanol; X<sub>Fe</sub>: fracción molar de  $Fe^{3+}$

Las Figuras II.16 y II.17 recogen la representación de los valores de absorbancia medidos para diferentes fracciones de  $Fe^{3+}$  tanto para la concentración total M+L de  $4 \cdot 10^{-4}$  mol/L como para  $2 \cdot 10^{-4}$  mol/L. Según el método de las variaciones continuas, el máximo de absorbancia, obtenido por el punto del corte de las dos líneas ajustadas por regresión lineal de los puntos experimentales proporciona la fracción molar de metal y de ligando en condiciones estequiométricas. Así, para ambas figuras se obtuvo este punto para la fracción molar de  $Fe^{3+}$  igual a 0,33, siendo así la correspondiente fracción molar de reactivo X<sub>2-HBBH</sub> de 0,66; por consiguiente la estequiometría del complejo obtenida fue de 1:2 metal:ligando (ML<sub>2</sub>).



**Figura II.16.** Aplicación del método de las variaciones continuas al cálculo de la estequiometría del complejo  $Fe^{3+}$ -2-HBBH (Concentración total (M+L):  $4 \cdot 10^{-4}$  mol/L)



**Figura II.17.** Aplicación del método de las variaciones continuas al cálculo de la estequiometría del complejo  $Fe^{3+}$ -2-HBBH ( $\lambda=365$  nm) (Concentración total (M+L):  $2 \cdot 10^{-4}$  mol/L)

#### II.4.5.2.3. Aplicación del método de la razón molar o proporción de moles

El método de la razón molar o proporción de moles (método de Yoe y Jones) consiste en la medición de la señal espectrofotométrica del complejo metal-ligando en



una serie de disoluciones en las que se mantiene constante la concentración de un componente, mientras se varía la del otro [Skoog y col., 2005], representando la absorbancia frente a la proporción molar de los reactivos. Si la constante de formación es razonablemente favorable, se obtienen dos rectas de pendientes distintas, que se cortan en un valor de proporción de moles correspondiente a la proporción de combinación en el complejo. Se puede realizar variando la concentración de metal o de ligando.

Las constantes de formación se pueden evaluar a partir de los datos de la zona curva de las gráficas de proporción de moles, donde la reacción está cercana al equilibrio. Según la proximidad entre la curva experimental y las rectas extrapoladas, mayor es la constante de formación del complejo.

#### a) Cálculo de la estequiometría con ligando constante

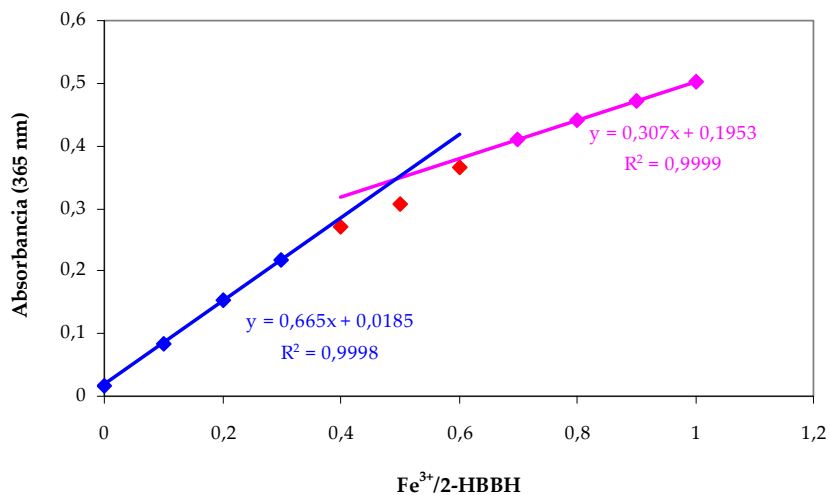
En este caso se optó por variar la concentración del metal  $\text{Fe}^{3+}$ , manteniendo constante la concentración de 2-HBBH y con un valor de  $2 \cdot 10^{-4}$  mol/L.

Las muestras se prepararon mediante adición de: 4,17 mL de disolución tampón HAcCl/AcCl- 4 mol/L de pH 1,9; de 0 a 1 mL de disolución acuosa de  $\text{Fe}^{3+}$   $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L y 1 mL de disolución etanólica de 2-HBBH  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L. En este caso, el volumen de etanol en la disolución fue del 10% v/v. Estas muestras se enrasaron a 10 mL con agua Milli-Q y se agitaron en ultrasonido durante 2 o 3 minutos. Los blancos se prepararon de igual forma con la misma matriz sin adición del ión metálico, midiendo la absorbancia a 365 nm. La descripción completa de la preparación de estas fracciones se recoge en la **Tabla II.18**. La absorbancia medida se representó frente a la relación molar metal/ligando (**Figura II.18**). Como se observa en la figura, según el método de proporción de moles el máximo de absorbancia obtenido por el punto del cruce de las dos líneas obtenidas por regresión lineal de los puntos experimentales, corresponde a la proporción de moles metal/ligando igual a 0,5. Esto confirma la relación estequiométrica 1:2 metal:ligando en el complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH, determinada por el método de las variaciones continuas en el apartado anterior.

**Tabla II.18.** Composición de las disoluciones utilizadas para la determinación de la estequiometría del complejo  $Fe^{3+}$ -2-HBBH aplicando el método de la proporción de moles: Ligando constante (volumen final=10 mL)

Muestra	$V_T$ (mL)	$V_{Fe}$ (mL)	$V_{2-HBBH}$ (mL)	$R_{Fe/2-HBBH}$	Abs (365 nm)
1	1,7	0	1	0	0,018
2	1,7	0,1	1	0,1	0,085
3	1,7	0,2	1	0,2	0,153
4	1,7	0,3	1	0,3	0,217
5	1,7	0,4	1	0,4	0,270
6	1,7	0,5	1	0,5	0,329
7	1,7	0,6	1	0,6	0,366
8	1,7	0,7	1	0,7	0,410
9	1,7	0,8	1	0,8	0,441
10	1,7	0,9	1	0,9	0,472
11	1,7	1	1	1	0,502

$V_T$ : volumen de tampón HAcCl/AcCl 4 mol/L de pH 1,9;  $V_{Fe}$ : volumen de  $Fe^{3+}$   $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L;  $V_{2-HBBH}$ : volumen de 2-HBBH  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L;  $R_{Fe/2-HBBH}$ : relación molar de  $Fe^{3+}/2-HBBH$



**Figura II.18.** Aplicación del método de proporción de moles con ligando constante al cálculo de la estequiometría del complejo  $Fe^{3+}$ -2-HBBH

### b) Cálculo de la estequiometría con metal constante

La estequiometría del complejo metálico formado por  $\text{Fe}^{3+}$  y 2-HBBH fue también determinada mediante el método de la razón molar variando esta vez la concentración de reactivo complejante y manteniendo la concentración de metal constante en una serie de muestras. Estas últimas se prepararon siguiendo el orden y los volúmenes de los componentes que están resumidos en la **Tabla II.19**. Las disoluciones de partida para el metal y para el ligando fueron de  $4 \cdot 10^{-3}$  mol/L. Se midió la absorbancia de estas disoluciones a  $\lambda=365$  nm y se representó frente a la relación molar ligando/metal, tal y como aparece en la **Figura II.19**. Las rectas de extrapolación de los puntos experimentales se cortan en un punto que corresponde con la relación molar ligando/metal igual a 2, lo que significa una estequiometría 2:1, confirmando los resultados anteriores.

Como conclusión, se puede decir que estos resultados demuestran una estequiometría de 2:1 ligando:metal para el complejo metálico  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH, calculada por el método de variaciones continuas de *Job* y el método de la razón molar de *Yoe y Jones*.

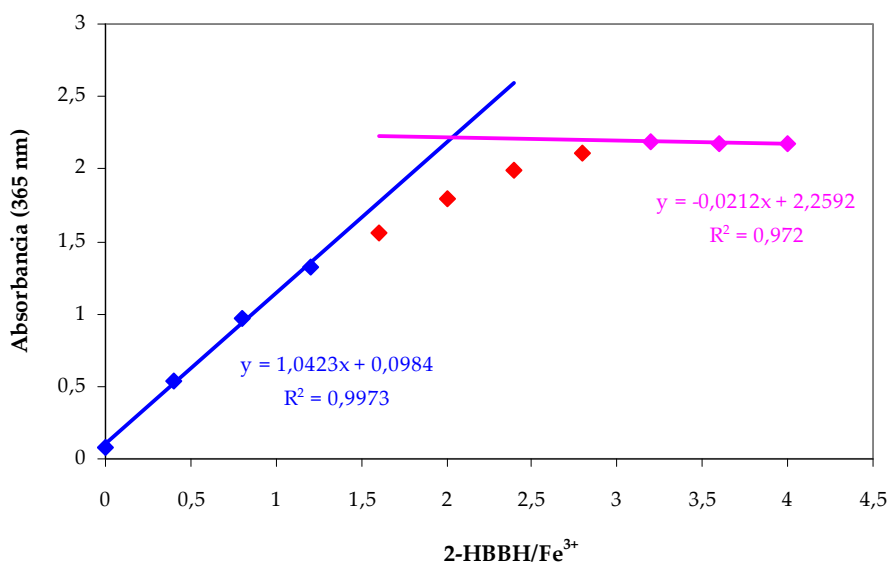
**Tabla II.19.** Composición de las disoluciones utilizadas para la determinación de la estequiometría del complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH aplicando el método de proporción de moles: Metal constante (volumen final=10 mL)

Muestra	V <sub>T</sub> (mL)	V <sub>Fe</sub> (mL)	V <sub>2-HBBH</sub> (mL)	V <sub>ET</sub> (mL)	R <sub>2-HBBH/Fe</sub>	Abs (365 nm)
1	1,7	0,5	0	2	0	0,077
2	1,7	0,5	0,2	1,8	0,4	0,532
3	1,7	0,5	0,4	1,6	0,8	0,963
4	1,7	0,5	0,6	1,4	1,2	1,323
5	1,7	0,5	0,8	1,2	1,6	1,562
6	1,7	0,5	1	1	2	1,801
7	1,7	0,5	1,2	0,8	2,4	1,993
8	1,7	0,5	1,4	0,6	2,8	2,108

**Cont. Tabla II.19.** Composición de las disoluciones utilizadas para la determinación de la estequiometría del complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH aplicando el método de proporción de moles: Metal constante (volumen final=10 mL)

Muestra	$V_T$ (mL)	$V_{\text{Fe}}$ (mL)	$V_{2\text{-HBBH}}$ (mL)	$V_{\text{ET}}$ (mL)	$R_{2\text{-HBBH}/\text{Fe}}$	Abs (365 nm)
9	1,7	0,5	1,6	0,4	3,2	2,192
10	1,7	0,5	1,8	0,2	3,6	2,181
11	1,7	0,5	2	0	4	2,175

$V_T$ : volumen de tampón  $\text{HAcCl}/\text{AcCl}$  4 mol/L de pH 1,9;  $V_{\text{Fe}}$ : volumen de  $\text{Fe}^{3+}$   $4 \cdot 10^{-3}$  mol/L;  $V_{2\text{-HBBH}}$ : volumen de 2-HBBH  $4 \cdot 10^{-3}$  mol/L;  $V_{\text{ET}}$ : volumen de etanol;  $R_{2\text{-HBBH}/\text{Fe}}$ : relación molar de 2-HBBH/ $\text{Fe}^{3+}$



**Figura II.19.** Aplicación del método de proporción de moles con metal constante al cálculo de la estequiometría del complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH

#### II.4.5.3. Determinación de la constante de formación del complejo $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH

Una vez determinada la estequiometría del complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH en disolución, se puede calcular su constante de formación o constante de estabilidad mediante relaciones entre absorbancias y concentraciones, a partir de los datos experimentales

de los métodos de las variaciones continuas y de la razón molar. La curvatura de las representaciones gráficas de los puntos experimentales obtenidos por ambos métodos es una indicación cualitativa de la estabilidad del complejo. Esa curvatura en el entorno de la composición estequiométrica es la que precisamente se utiliza para el cálculo de la constante de formación del complejo.

La constante de formación o constante de equilibrio de un complejo determinado  $ML$ , a partir de un ligando  $L$  y un ión  $M$  según una reacción reversible  $M + L \rightleftharpoons ML$  se define como:

$$K = \frac{[ML]}{[M] \cdot [L]}$$

donde  $[ML]$ ,  $[M]$  y  $[L]$  representan la concentración de complejo, metal y ligando cuando se alcanza el equilibrio. En este trabajo, la determinación de la constante de formación del complejo estudiado se ha llevado a cabo mediante las curvas obtenidas por los tres métodos empleados para el cálculo de su estequiometría: curva de absorbancia frente a la fracción molar de hierro ( $X_{Fe}$ ) y curva de absorbancia frente a la razón molar, tanto de reactivo ( $R_{Fe/2-HBBH}$ ) como de metal ( $R_{2-HBBH/Fe}$ ).

El procedimiento del cálculo se basa en la diferencia de absorbancia que existe entre el valor correspondiente a la completa formación del complejo ( $A_{max}$ ) y el valor experimental ( $A_{eq}$ ) cuando la reacción de formación se encuentra en equilibrio. Gráficamente,  $A_{max}$  es el valor de la absorbancia que corresponde al punto en el que se cortan las rectas de extrapolación de los puntos experimentales y  $A_{eq}$  se obtiene de la curva experimental en dicho punto (**Figura II.20**). Para calcular la concentración del complejo en el equilibrio a partir del valor de su absorbancia se ha hecho uso de la ley de Lambert-Beer:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot C$$

siendo  $\varepsilon$  el coeficiente de absorptividad molar ( $L/mol \cdot cm$ ),  $b$  es la longitud del paso óptico de la muestra (en este caso  $b=1$  cm) y  $C$  es la concentración del complejo ( $mol/L$ ). El cálculo de  $\varepsilon$  se ha llevado a cabo utilizando el valor de  $A_{max}$  y la concentración máxima que se podría obtener teóricamente si todo el complejo se formara.

$$\varepsilon = \frac{A_{\max}}{b \cdot [\text{Fe}(2\text{-HBBH})_2]_{\max}}$$

Conociendo el valor de  $\varepsilon$  se puede calcular la concentración en equilibrio del complejo y por lo tanto la del metal y del ligando, teniendo en cuenta la estequiometría del complejo en cuestión:

$$[\text{Fe}(2\text{-HBBH})_2]_{\text{eq}} = \frac{A_{\text{eq}}}{b \cdot \varepsilon}$$

$$[\text{Fe}]_{\text{eq}} = [\text{Fe}]_i - [\text{Fe}(2\text{-HBBH})_2]_{\text{eq}}$$

$$[2\text{-HBBH}]_{\text{eq}} = [2\text{-HBBH}]_i - 2 [\text{Fe}(2\text{-HBBH})_2]_{\text{eq}}$$

Una vez obtenidos los valores de las concentraciones en equilibrio, se sustituyen en la ecuación de la constante. Los valores de la constante de formación del complejo  $\text{Fe}(2\text{-HBBH})_2$ , calculada mediante el método de la razón molar y el de variaciones continuas, fueron del orden de  $10^8$  (Tabla II.20).

$$K_f = \frac{[\text{Fe}(2\text{-HBBH})_2]_{\text{eq}}}{[\text{Fe}]_{\text{eq}} \cdot [2\text{-HBBH}]_{\text{eq}}^2}$$

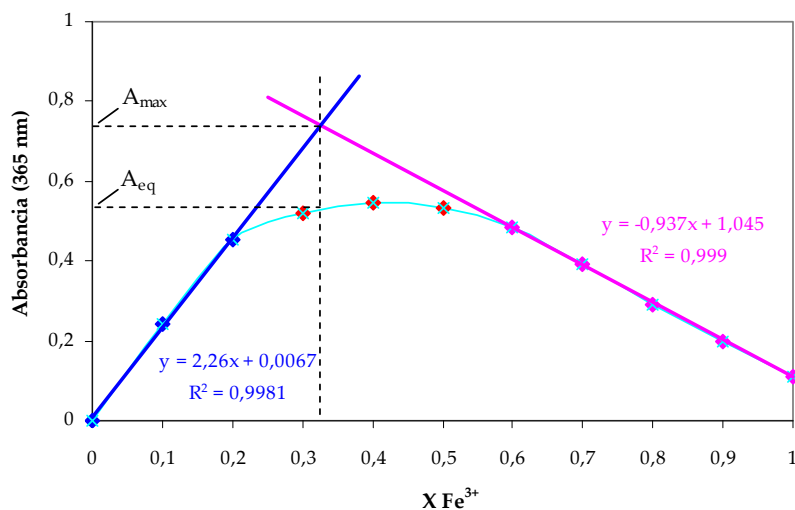


Figura II.20. Aplicación del método de las variaciones continuas para el cálculo de la constante de formación del complejo  $\text{Fe}(2\text{-HBBH})_2$

**Tabla II.20.** Valores de la constante de formación del complejo  $Fe(2-HBBH)_2$

Método	$K_f$ ((mol/L) <sup>-2</sup> )
Variaciones continuas	$3,55 \cdot 10^8$
Razón molar: 2-HBBH constante	$4,67 \cdot 10^9$
Razón molar: Fe constante	$6,52 \cdot 10^8$

#### II.4.5.4. Naturaleza de la carga del complejo $Fe^{3+}$ -2-HBBH

Una de las propiedades físico-químicas que caracterizan un complejo metálico es su carga eléctrica que puede ser positiva, negativa o neutra. Esta determinación puede realizarse mediante la evaluación del posible intercambio iónico entre una disolución del complejo y resinas intercambiadoras de diferente naturaleza, tales como resinas catiónicas o aniónicas.

Las resinas intercambiadoras de iones son pequeñas sustancias granuladas insolubles en agua las cuales tienen estructura polimérica con grupos ácidos o básicos con iones positivos o negativos, denominados contraiones. Estos contraiones pueden ser reemplazados por iones del mismo signo presentes en la disolución al estar en contacto con la resina, mediante una reacción de intercambio iónico. De esta forma, la reacción que tiene lugar en una resina aniónica puede esquematizarse como:



y en una resina catiónica será:



donde R-A y R-C corresponden a la resina aniónica y catiónica, respectivamente; A<sup>-</sup> y C<sup>+</sup> son los contraiones de cada resina; y, B<sup>-</sup> y D<sup>+</sup> son los aniones y cationes de la disolución que se desean intercambiar.

En este trabajo se emplearon dos tipos de resinas de intercambio iónico: como resina catiónica se utilizó la Dowex 50 W x 8 (forma H<sup>+</sup>; 50-100 mesh) y como resina

aniónica se empleó la Dowex 1 x 8 (forma Cl<sup>-</sup>; 20-50 mesh), ambas de marca Fluka. En las etapas en las que se utilizó agitación, se empleó un agitador de desplazamiento horizontal modelo Promax 2020 (Heidolph, Alemania).

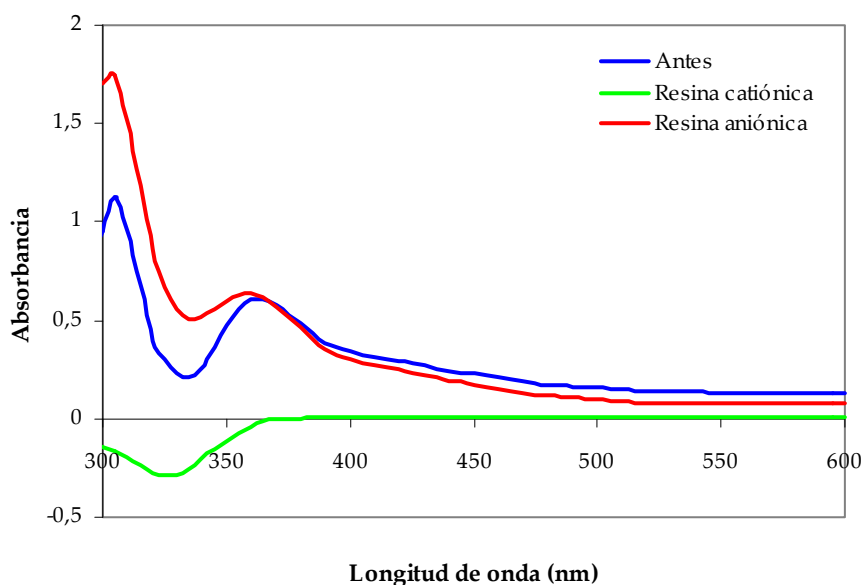
Antes de realizar el contacto entre la disolución del complejo metálico y cada una de las resinas, se procedió a preparar la resina por hidratación con agua desionizada (Milli-Q). De esta forma, la resina se hincha y el disolvente penetra en los poros de la estructura polimérica, facilitando la permeabilidad de los iones en la matriz de la resina y mejorando la accesibilidad a los grupos funcionales. Para ello y utilizando en paralelo ambas resinas, se pesaron 1,5 g de cada una que fueron colocados en sendos matraces erlenmeyer de 100 mL de capacidad, adicionando 25 mL de agua desionizada (Milli-Q) a cada uno. Se dejaron 24 horas en contacto a temperatura ambiente, observándose a simple vista el aumento de volumen de las resinas. Se eliminó el agua sobrenadante por filtración con papel de filtro, evitando llevar a sequedad las resinas. Después de este paso, se lavaron las resinas con 15 mL de disolución de HCl 1 mol/L para el estudio con la resina catiónica, y con NaOH 1 mol/L para la resina aniónica, agitando a 1600 rpm durante 30 minutos. Una vez lavadas y filtradas, se añadieron unos 15 mL de NaCl al 10% bajo agitación durante una hora para el acondicionamiento de cada resina. De esta forma, se fijan los iones Cl<sup>-</sup> en la resina aniónica, que tiene en su matriz radicales positivos mientras que los iones Na<sup>+</sup> se fijan en la resina catiónica cuyo radicales son negativos. A las resinas acondicionadas se les adicionaron 15 mL de disolución reguladora HAcCl/AcCl<sup>-</sup> 0,67 mol/L de pH 1,9 manteniendo la agitación de las mismas durante una hora a 1600 rpm. Después de decantar la resina y separar la disolución reguladora, se adicionaron a unos 15 mL de la disolución de complejo metálico, realizándose el posible intercambio iónico mediante una hora de agitación. Transcurrido el tiempo de agitación se filtraron las resinas observándose que con la resina aniónica la disolución mantenía su color verde original propio del complejo metálico, mientras que la que se obtuvo después del tratamiento con la resina catiónica quedó transparente, dejando coloreadas de verde pardusco las partículas inicialmente de color anaranjadas.



La disolución del complejo metálico, para la que se pretendía determinar su carga eléctrica, fue preparada en un matraz de 50 mL añadiendo un volumen de 10 mL de una disolución de  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L de 2-HBBH disuelto en etanol y 5 mL de una disolución de  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L de  $\text{Fe}^{3+}$  para tener la relación estequiométrica 2:1 ligando:metal. Las concentraciones de 2-HBBH y de  $\text{Fe}^{3+}$  en esta disolución serían de  $4 \cdot 10^{-4}$  y  $2 \cdot 10^{-4}$  mol/L, respectivamente. Antes de enrasar se ajustó el pH de esta disolución a 1,9 mediante adición de 8,34 mL de la disolución reguladora HAcCl/AcCl<sup>-</sup> 4 mol/L.

Este mismo procedimiento de intercambio aniónico y catiónico fue aplicado respectivamente a la disolución de reactivo 2-HBBH sin metal, para emplear las disoluciones resultantes como blanco en las medidas espectrofotométricas posteriores. Así, en el procedimiento descrito la disolución de complejo metálico fue sustituida por una disolución de reactivo preparada añadiendo en un matraz de 50 mL: 10 mL de una disolución de  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L de 2-HBBH disuelto en etanol y 8,34 mL de la disolución reguladora HAcCl/AcCl<sup>-</sup> 4 mol/L enrasando con agua Milli-Q.

Después de recuperar las disoluciones de reactivo y de complejo que fueron sometidas a procesos de intercambio catiónico y aniónico, se realizaron los espectros del complejo frente a la disolución de reactivo correspondiente. Estos espectros fueron comparados con el que presentaba la disolución del complejo de hierro frente al reactivo inicialmente (**Figura II.21**). A partir de los resultados pudo observarse como la banda de absorción correspondiente al complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH tenía el mismo aspecto después del tratamiento con la resina aniónica, mientras que con la resina catiónica desapareció totalmente. Así, el complejo quedaba retenido en la resina, indicando su naturaleza de ión positivo. Esto coincidía con los trabajos de Vauthier y col., que indicaban que el complejo presentaba carga positiva:  $\text{Fe}(\text{2-HBBH})_2^+$  [Vauthier y col., 1999]. Por ello, la extracción líquido-líquido se realizará probablemente con la ayuda del contraión de la disolución reguladora, el anión cloroacético.



*Figura II.21. Espectros UV-Vis del complejo metálico  $Fe^{3+}$ -2-HBBH registrados antes y después del tratamiento con las resinas de intercambio iónico*

#### II.4.6. Optimización de la metodología de membrana líquida propuesta

Las técnicas de optimización, conjuntamente con los sistemas informáticos, se han convertido en una poderosa herramienta para el diagnóstico y solución de múltiples problemas complejos. El objetivo de la optimización es encontrar las condiciones que proporcionan el mejor resultado.

Para establecer un método analítico se requiere encontrar las condiciones químicas, instrumentales o de otra índole adecuadas para el análisis. Así, la finalidad de cualquier optimización es descubrir las condiciones que producen mejor respuesta analítica [Montgomery, 2001]. Esto históricamente se ha llevado a cabo controlando la influencia en la respuesta experimental de un factor cada vez o método univariante. Se trata de identificar el valor (o valores) de una variable al cual una determinada respuesta alcanza el máximo o mínimo para, posteriormente, realizar el mismo proceso

sobre la siguiente variable, manteniendo la primera de ellas en su zona óptima, y así sucesivamente con todas las variables que se desean estudiar. Aunque se trata de un método simple, el sistema de optimización de un factor tiene sus desventajas, entre ellas el tiempo que implica y el riesgo de mal interpretar los resultados si existen interacciones importantes entre las variables, pudiéndose obtener errores sobre las condiciones óptimas de trabajo.

Por ello, la aplicación de métodos de optimización multivariantes tales como los diseños simultáneos y secuenciales, son muy adecuados en optimización analítica [Araujo y Brereton, 1996].

Los diseños de optimización secuenciales se usan cuando el analista tiene conocimientos limitados sobre la localización de la región óptima en la que se encuentra su sistema [Bayne y Ruben, 1986] o desea conocer el óptimo sin limitar la región de estudio. Estos sistemas permiten además realizar la optimización simultánea de varias señales de respuesta en vista de la interacción entre las variables [Ferreirós y col., 2006], por lo que son muy versátiles. Existen distintos tipos de diseño secuencial, siendo los más notables el diseño *Simplex* y sus versiones modificadas, el diseño de pendiente ascendente y el diseño de optimización evolutivo. En este trabajo de investigación se optó por usar el diseño *Simplex Modificado* [MultiSimplex, 1998] para el desarrollo de la metodología de preconcentración de hierro.

#### II.4.6.1. Diseño multivariante secuencial: el método *Simplex*

El método *Simplex* es un procedimiento iterativo que permite ir mejorando la solución a cada paso. El proceso concluye cuando no es posible seguir mejorando más dicha solución.

El *Simplex* implica la identificación de los valores de las variables que dan lugar al óptimo de la respuesta deseada. Esto se alcanza por medio de una sucesión de ensayos en los que los valores de las variables se encuentran condicionados por los resultados del ensayo inmediatamente anterior.

Desde la introducción del diseño *Simplex* en 1962 por Spendley y col., éste ha sido aplicado a muchos problemas químicos. La técnica se basa en la figura geométrica más simple posible, que es una línea en una dimensión, un triángulo en dos dimensiones, un tetraedro en tres dimensiones y una figura de  $K + 1$  vértices en  $K$  dimensiones [Bayne y Ruben, 1986]. Así, el simplex se visualiza como una figura geométrica definida por un número de puntos una unidad superior al número de variables a optimizar.

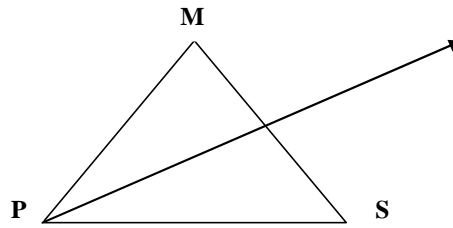
Partiendo del valor de la función objetivo en un vértice cualquiera, el método consiste en buscar sucesivamente otro vértice que mejore al anterior. La búsqueda se hace siempre a través de los lados del polígono (o de las aristas del poliedro, si el número de variables es mayor). Como el número de vértices (y de aristas) es finito, siempre se podrá encontrar la solución.

Una optimización *Simplex* de un sistema que depende de  $K$  factores comienza con un diseño simplex inicial de  $K + 1$  experimentos. Para crear los vértices iniciales es necesario elegir unos valores de variables de partida y un ancho de paso para cada una de las variables y, teniendo en cuenta estos valores elegidos, se crea un simplex inicial.

Para moverse hacia el óptimo de la forma más rápida y eficaz posible se siguen una serie de reglas:

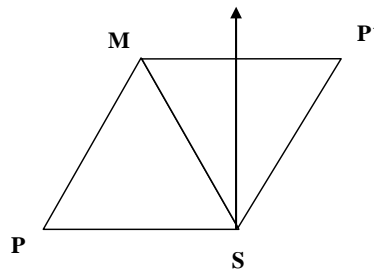
**Regla 1:** Se produce un nuevo simplex rechazando el peor o el mejor valor experimental, dependiendo de si se quiere maximizar o minimizar la respuesta, y sustituyendo éste por uno nuevo simétrico con respecto al centro de gravedad del simplex. Para calcular los valores de las variables del nuevo vértice se multiplica la media de los valores de los vértices que se mantienen por dos y al resultado se le resta el valor descartado. La aplicación gráfica de esta regla se muestra en la **Figura II.22**.

Cuando el nuevo punto tiene el peor valor del nuevo simplex, no se puede aplicar de nuevo la regla 1, ya que una nueva reflexión daría de nuevo el simplex anterior, produciéndose una oscilación entre los dos simplex. En este caso se aplica la regla número 2.



*Figura II.22. Reflexión del simplex (dos factores) en dirección opuesta al peor valor, siendo P la peor respuesta, M la mejor y S la segunda peor respuesta*

**Regla 2:** Siempre que el nuevo vértice produzca una respuesta peor, el simplex  $x$  avanza eliminando el segundo vértice con peor respuesta y obteniendo el nuevo simplex mediante la imagen especular ya explicada. El resultado es obtener un cambio de dirección en la progresión hacia el óptimo, lo que suele suceder en la zona próxima al mismo. La representación gráfica se muestra en la **Figura II.23**. Si el punto obtenido está próximo al óptimo, los sucesivos simplex girarán en torno al óptimo.

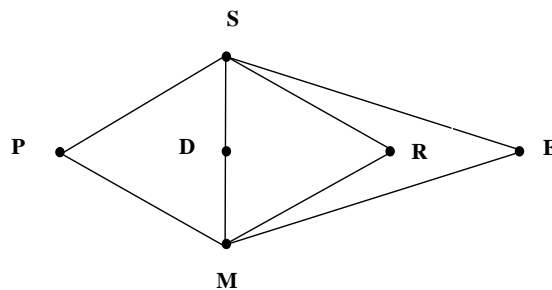


*Figura II.23. Cambio de dirección mediante el rechazo del segundo peor punto, siendo P' la peor respuesta, M la mejor y S la segunda peor respuesta, para un simplex de dos factores*

**Regla 3:** Este método permite también sustituir viejos vértices. Si un vértice se mantiene durante  $K + 1$  simplex sin ser eliminado, se puede sustituir haciendo una

repetición del mismo antes de continuar con la optimización. Esta regla evita que el sistema de los simplex se ancle en resultados falsos.

Estas reglas se aplican en un método *Simplex* básico, pero el método *Simplex* presenta diversas variantes, las cuales aceleran la aproximación hacia el óptimo. En este trabajo de investigación se ha utilizado el método del *Simplex Modificado* (MSM) introducido por Nelder y Mead en 1965. Este método permite realizar, además de reflexiones, expansiones, contracciones y traslaciones del simplex. En las **Figuras II.24** y **II.25** se muestran los posibles movimientos a realizar. Se rige por las mismas reglas que el *Simplex* básico, pero tiene reglas adicionales para saber qué operaciones usar [Bayne y Ruben, 1986].



**Figura II.24.** Reflexión (R) y expansión (E) del Simplex Modificado, siendo P la peor respuesta, M la mejor, S la segunda mejor y D el centroide

Los valores del primer vértice reflejado se construyen añadiendo al centroide (D) la distancia desde el peor valor (P) a dicho centroide. Este movimiento puede observarse en la **Figura II.24**.

$$R = D + (D - P)$$

Este método de reflexión es equivalente a la regla 1 del método básico antes mencionada.

Los diferentes movimientos del *Simplex Modificado* se determinan por comparación del nuevo valor de R con el mejor valor (M). Existen varias posibilidades:

1. Si  $R > M$ , el simplex sufrirá una expansión (**Figura II.24**). El nuevo vértice (E) se calcula teniendo en cuenta la expresión:

$$E = D + a(D - P) \quad a > 1$$

El valor de "a" suele ser 2, pero puede ser modificado dependiendo de la situación.

2. Si  $E > M$  el nuevo simplex será MSE, de otro modo será MSR y el nuevo vértice será calculado aplicando otro algoritmo.
3. Si  $S < R < M$ , siendo S el segundo peor valor, el nuevo simplex será el compuesto por MSR (**Figura II.24**).
4. Si  $R < S$ , el nuevo simplex sufre una contracción, existiendo dos posibles situaciones: que se produzca una contracción negativa ( $C^-$ ) o que se produzca una contracción positiva ( $C^+$ ). En ambos casos debe restarse o sumarse al centroide la distancia ( $D - P$ ), respectivamente. Estos movimientos pueden apreciarse en la **Figura II.25**.

- a. Si  $R > P$ , se produce contracción positiva y el nuevo simplex será  $MSC^+$

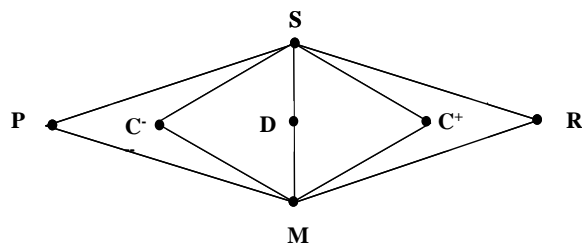
$$C^+ = D + b(D - P) \quad 0 < b < 1, \text{ normalmente } b \text{ vale } 0,5.$$

- b. Si  $R < P$ , el nuevo simplex es  $MSC^-$

$$C^- = D - b(D - P) \quad 0 < b < 1, \text{ normalmente } b \text{ vale } 0,5.$$

El método *Simplex Modificado* se podrá detener teniendo en cuenta diversas condiciones, como por ejemplo:

1. Que el número de experimentos sea excesivo.
2. Que la distancia entre los vértices sea demasiado pequeña.
3. Que la varianza de la respuesta sea demasiado pequeña.



**Figura II.25.** Contracción positiva ( $C^+$ ) o negativa ( $C^-$ ) en la optimización del Simplex Modificado, siendo  $P$  la peor respuesta,  $M$  la mejor,  $S$  la segunda peor,  $R$  la reflexión y  $D$  el centroide

#### II.4.6.2. Selección de las variables en la aplicación del método Simplex Modificado

El método *Simplex* implica la identificación de los valores de las variables que dan lugar al óptimo de la respuesta deseada. En el caso de la optimización del método de preconcentración de hierro mediante la membrana líquida propuesta, los vértices iniciales se diseñaron a partir de los parámetros significativos y el ancho de paso adecuados en función de los estudios previos realizados sobre el sistema.

Así, las variables que se consideraron significativas para optimizar fueron: concentración del transportador (2-HBBH) en la membrana líquida, molaridad de ácido nítrico en la disolución receptora y pH de la fase cargada, manteniendo las restantes condiciones constantes tal y como se establecieron en los estudios previos. Estas condiciones fueron las siguientes:

- Concentración de  $Fe^{3+}$  en la fase cargada: 0,5 mg/L.
- Concentración de la disolución reguladora en la fase cargada: 0,67 mol/L.
- Volumen de la membrana líquida: 70 mL.
- Volumen de la fase cargada o de alimentación: 260 mL.
- Volumen de la disolución receptora: 12 mL.
- Temperatura del sistema:  $35 \pm 0,5$  °C.
- Tiempo de preconcentración: 6 horas.
- Velocidad de agitación: 800 rpm



En los experimentos realizados en el *Simplex*, la variable de respuesta a optimizar fue el valor del coeficiente de permeabilidad, que representa la eficacia del proceso del transporte del metal desde la fase de alimentación hacia la fase receptora. El diseño multivariante secuencial *Simplex Modificado* se aplicó utilizando el programa de software MultiSimplex, versión 2.0.4 [Karlskrona, 1998].

Las condiciones iniciales del *Simplex* se establecieron a partir de los resultados de los estudios previos. En estos experimentos iniciales, el *Simplex* requiere dar un valor central inicial, un ancho de paso y el número de cifras decimales significativas de cada parámetro objeto de estudio. Estos valores iniciales que aparecen detallados en la **Tabla II.21**, fueron introducidos en el programa *MultiSimplex* proporcionando los primeros experimentos para iniciar el proceso de optimización. El número de experimentos iniciales propuestos por el programa depende del número de las variables que se desea optimizar. En este caso y para tres variables, el programa propone cuatro experimentos formando el simplex inicial (**Tabla II.22**).

**Tabla II.21.** Variables del diseño Simplex y valores introducidos en el programa MultiSimplex

Variable	Valor central	Ancho de paso	Decimales
pH de la fase cargada	2	1	1
[HNO <sub>3</sub> ] (mol/L) en la fase receptora	3	1	1
[2-HBBH] (mol/L) en la fase orgánica	0,015	0,01	3

**Tabla II.22.** Condiciones de los experimentos del simplex inicial

Vértice	pH de la fase cargada	[HNO <sub>3</sub> ] (mol/L)	2-HBBH] (mol/L)
1	1,5	3,5	0,01
2	1,5	2,5	0,02
3	2,5	2,5	0,01
4	2,5	3,5	0,02

### II.4.6.3. Resultados experimentales del Simplex Modificado

Los resultados de los experimentos propuestos por el método *Simplex* están recogidos en la **Tabla II.23**, incluyendo las condiciones experimentales y las respuestas obtenidas para cada experimento. El avance del *Simplex* fue detenido después de 15 experimentos siguiendo el criterio de comparación de las varianzas, que se basa en la comparación de la varianza de cada simplex con la varianza del método de preconcentración, mediante el valor de la distribución F de Fischer.

**Tabla II.23.** Resultados del proceso de optimización mediante el Simplex Modificado (variable respuesta: Permeabilidad de la membrana líquida)

Vértice	pH	[HNO <sub>3</sub> ] (mol/L)	[2-HBBH] (mol/L)	Permeabilidad·10 <sup>3</sup> (cm/min)	Tipo
1	1,5	3,5	0,01	9,22	I
2	1,5	2,5	0,02	1,08	I
3	2,5	2,5	0,01	9,49	I
4	2,5	3,5	0,02	1,08	I
5	1,2	2,2	0,007	5,15	R
6	2	3	-0,002	****	R
7	1,6	2,6	0,014	10,58	C-
8	2,5	3,5	0,016	10,85	R
9	3,2	4,2	0,02	2,17	E
10	2,9	2,2	0,017	1,36	R
11	1,8	3,2	0,012	11,12	C-
12	1,4	3,7	0,018	8,41	R
13	2,2	2,8	0,012	11,12	C-
14	2,7	3,7	0,013	8,68	R
15	1,9	2,9	0,014	11,39	C-

I: Simplex inicial; R: Reflexión; E: Expansión; C-: Contracción negativa; C+: Contracción positiva; \*\*\*\*: Experimento imposible

Para calcular la varianza  $\sigma_m^2$  el método de preconcentración, se seleccionó el experimento que corresponde al vértice 7 puesto que este último presentó un valor aceptable del coeficiente de permeabilidad. Para ello, se realizaron cuatro réplicas de este experimento cuyos valores de las variables se incluyen en la **Tabla II.23**. Los resultados obtenidos de las cuatro réplicas se recogen en la **Tabla II.24**, así como el valor de la varianza del método.

**Tabla II.24.** Cálculo de la varianza  $\sigma_m^2$  del método de preconcentración a partir del experimento n° 7 del Simplex

Réplica	Permeabilidad·10 <sup>3</sup> (cm/min)	Varianza ( $\sigma_m^2$ )
1	10,58	5,3959. 10 <sup>-7</sup>
2	10,85	
3	12,21	
4	10,85	

Con el fin de encontrar el experimento que proporciona las condiciones óptimas y poder parar el *Simplex*, se compararon la varianza del método con la varianza de *Simplex*  $\sigma_s^2$  lo largo de su avance. Así, se calculó la varianza de la función respuesta para cada uno de los bloques de cuatro experimentos que conforman cada simplex ofrecido por el programa. A partir de las varianzas de cada uno de los diferentes simplex y la varianza del método, se procedió a determinar el valor de la distribución  $F_{\text{experimental}} = \sigma_s^2 / \sigma_m^2$ , con objeto de determinar si había diferencias significativas entre las dos varianzas [Karlskrona, 1998]. El valor de F determinado experimentalmente se compara con el valor de F teórico, el cual viene dado en función de los grados de libertad de cada uno de las varianzas y de la probabilidad [Bayne y Ruben, 1986]. Si el valor teórico es mayor que el calculado se concluye que las variaciones del *Simplex* se deben únicamente a errores aleatorios y se habrá encontrado el óptimo. Los valores de

la varianza de cada simplex y del valor F calculado experimentalmente se incluyen en la **Tabla II.25**.

**Tabla II.25.** Varianza de cada simplex y valor de F experimental

Simplex	Experimentos de cada simplex	$\sigma_s^2$	F <sub>experimental</sub>
1	1-2-3-4	2,2828.10 <sup>-5</sup>	42,31
2	1-2-3-5	1,5746.10 <sup>-5</sup>	29,18
3	1-3-5-7	5,6596.10 <sup>-6</sup>	10,49
4	1-3-5-7	5,6596.10 <sup>-6</sup>	10,49
5	1-3-7-8	6,3770.10 <sup>-7</sup>	1,18
6	1-3-7-8	6,3770.10 <sup>-7</sup>	1,18
7	3-7-8-11	5,0893.10 <sup>-7</sup>	0,94
8	3-7-8-11	5,0893.10 <sup>-7</sup>	0,94
9	3-7-8-11	5,0893.10 <sup>-7</sup>	0,94
10	7-8-11-13	6,7449. 10 <sup>-8</sup>	0,12
11	7-8-11-13	6,7449. 10 <sup>-8</sup>	0,12
12	8-11-13-15	4,9054. 10 <sup>-8</sup>	0,09

Teniendo en cuenta que el número de grados de libertad de cada simplex era 3 ( $v_s = n^\circ$  de experimentos de cada simplex - 1 = 4 - 1 = 3) al igual que el de la varianza del método ( $v_m = n^\circ$  de replicas - 1 = 4 - 1 = 3), el valor teórico de F vale 1 para un valor de  $p = 0,5$  [Bayne y Ruben, 1986]. De esta forma y observando los valores de F experimentales ( $F_{\text{experimental}} < 1$ ) puede decirse que a partir del simplex 7 (**Tabla II.25**) las varianzas de los simplex realizados se debían únicamente a errores aleatorios; y cualquiera de las condiciones experimentales asociadas a los mismos serían adecuadas. De estos experimentos, el que presentó la máxima respuesta, es decir, mayor valor para el coeficiente de permeabilidad, fue el experimento 15, por lo que fue seleccionado para proponer el método desarrollado, aunque cualquiera de los restantes podría ser válido.

Así, las condiciones óptimas seleccionadas para la preconcentración de  $\text{Fe}^{3+}$  mediante el sistema de membrana líquida propuesto fueron las siguientes:

Fase de alimentación o fase cargada:

- Disolución del ión metálico a determinar a pH 1,9 controlado por la disolución reguladora cloroacético/cloroacetato 0,67 mol/L.
- Volumen de la fase cargada  $V_c$ : 260 mL.

Fase receptora:

- Disolución ácida de  $\text{HNO}_3$  2,9 mol/L preparada en agua desionizada (Milli-Q)
- Volumen de la fase receptora  $V_R$ : 12 mL.

Fase orgánica o membrana líquida:

- Concentración de 0,014 mol/L del ligando 2-HBBH en tolueno (1,4% v/v DMF/tolueno).
- Volumen de la fase orgánica  $V_o$ : 70 mL.

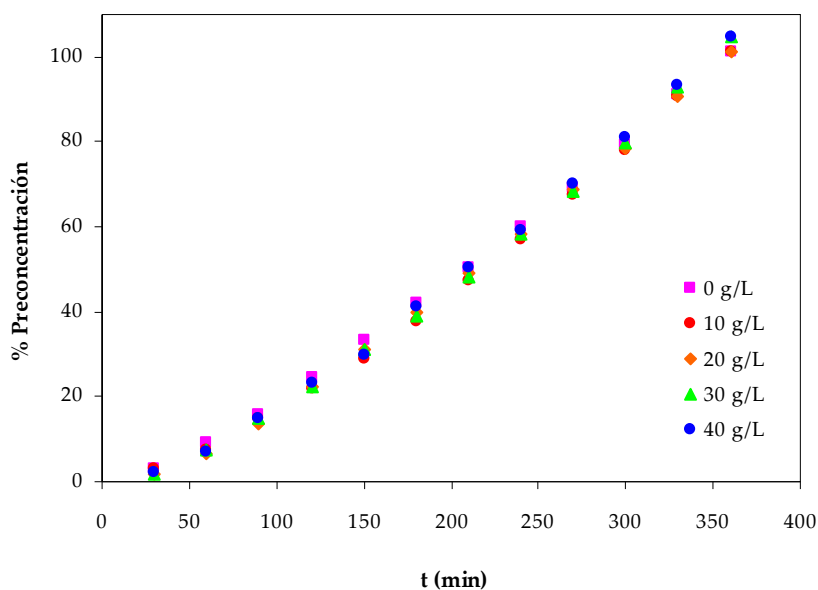
Con este sistema el factor de preconcentración del ión metálico era de 21,7, siendo el tiempo empleado de 6 horas y utilizando agitación magnética a una velocidad de 800 rpm.

## **II.4.7. Otros factores que influyen en la eficacia del sistema de membrana líquida propuesto**

### **II.4.7.1. Influencia de la salinidad de la fase acuosa cargada**

Una vez optimizadas las condiciones físico-químicas del método de preconcentración de  $\text{Fe}^{3+}$  se pasó a realizar el estudio de su aplicabilidad a muestras de aguas naturales de diferente naturaleza, con objeto de implementar este método en muestras de aguas naturales de matriz compleja, como es el caso de agua de mar caracterizada por la elevada fuerza iónica debida a la presencia de diferentes sales. Para ello, se procedió a estudiar la influencia de la salinidad de la fase cargada sobre la

eficacia del proceso de preconcentración de  $\text{Fe}^{3+}$  mediante el sistema de la membrana líquida desarrollado. Se realizaron cinco experimentos variando la salinidad de la fase de alimentación mediante adición de diferentes concentraciones de cloruro sódico (0, 10, 20, 30 y 40 g/L), sal mayoritaria del agua de mar, comprobándose el efecto sobre el transporte de 0,5 mg/L de  $\text{Fe}^{3+}$ . Las preconcentraciones se realizaron bajo las condiciones óptimas establecidas: 260 mL de fase cargada a pH 1,9 ajustado con disolución reguladora de ácido cloroacético/cloroacetato 0,67 mol/L; 12 mL de disolución de ácido nítrico 2,9 mol/L como fase receptora; y como membrana líquida 0,014 mol/L del ligando 2-HBBH en 70 mL de tolueno. La eficacia del transporte se evaluó después de seis horas de extracción a una temperatura de 35 °C. Los resultados obtenidos (**Figuras II.26**) mostraron que la salinidad del agua no influye en el proceso de preconcentración de  $\text{Fe}^{3+}$  mediante el sistema de membrana líquida estudiado, con un porcentaje de preconcentración medio de  $102,49 \pm 2,18\%$  para los cinco experimentos (Permeabilidad media =  $(11,064 \pm 0,45) 10^{-3}$  cm/min). Esto permite la aplicación del método propuesto en muestras de aguas naturales con diferente concentración salina, incluso en agua de mar.



**Figura II.26.** Influencia de la salinidad en la eficacia de la preconcentración de  $\text{Fe}^{3+}$  (0,5 mg/L) (Concentración de  $\text{NaCl}$ =0, 10, 20, 30 y 40 g/L)

#### II.4.7.2. Influencia de la temperatura

En las pruebas preliminares realizadas con la membrana líquida, se observó que el transporte del metal se incrementaba con la temperatura. Por ello, los experimentos de preconcentración llevados a cabo durante la optimización del sistema fueron realizados a 35 °C. En estas condiciones se alcanzaba el 100% de la preconcentración del metal tras seis horas de agitación. Con objeto de realizar un estudio más exhaustivo, se realizaron diversas experiencias a 25, 30, 35, 40 y 50 °C para una concentración de 0,5 mg/L de Fe<sup>3+</sup>. Para el control de la temperatura se utilizó un baño termostático donde fue sumergida la celda de preconcentración, evitando cualquier tipo de contaminación del interior de la misma. Se utilizaron las condiciones óptimas de la membrana líquida, descritas en el apartado anterior, adicionando una salinidad de 30 g/L en cloruro sódico, y realizando los experimentos por duplicado. No se estudiaron temperaturas mayores debido a que la membrana líquida formada por tolueno podría evaporarse y a que el ligando orgánico disuelto en dicha membrana podría sufrir procesos de hidrólisis.

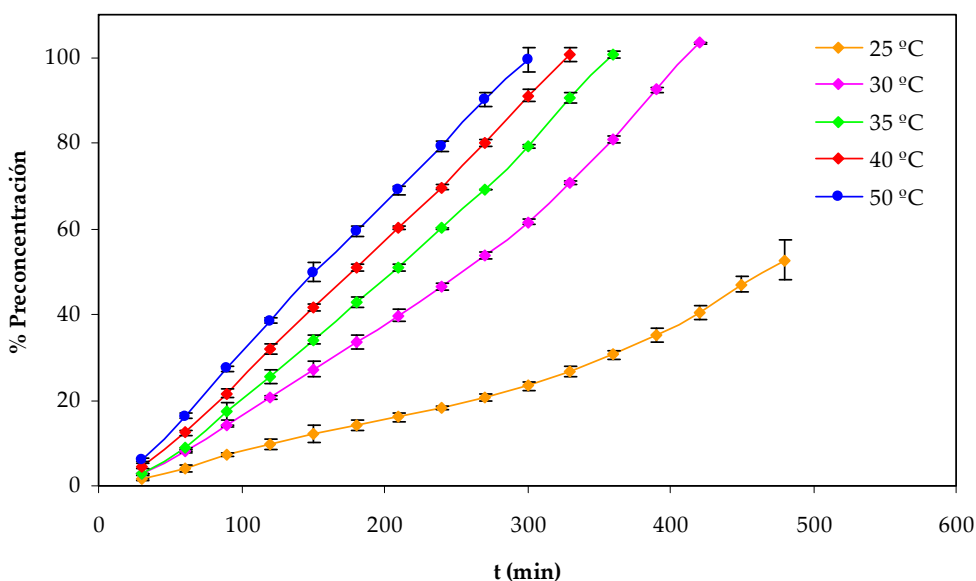
En la **Figura II.27** se detallan los valores de la eficacia del proceso de preconcentración, mostrando claramente la influencia de la temperatura. Así por ejemplo, un incremento de 30 a 50 °C puede reducir el tiempo de preconcentración del 100% del ión metálico de 7 a 5 horas, demostrando que la temperatura acelera la difusión de los iones Fe<sup>3+</sup> a través de la membrana líquida, favoreciendo su transporte hacia la fase receptora.

#### II.4.8. Método de preconcentración del Fe<sup>3+</sup> mediante una membrana líquida de 2-HBBH

Concluido el estudio del sistema seleccionado, se propuso el siguiente método de separación-preconcentración de Fe<sup>3+</sup> por medio de una nueva membrana líquida de volumen:

*Se deposita en la celda de la membrana diseñada un volumen de muestra problema de 260 mL ajustada a pH 1,9 con una disolución reguladora*

cloroacético/cloroacetato 0,67 mol/L constituyendo la fase cargada ( $V_C$ ) (preparación de la muestra problema: 250 mL de muestra + 50 mL de disolución reguladora 4 mol/L); como fase receptora ( $V_R$ ) se usan 12 mL de una disolución de  $HNO_3$  de concentración 2,9 mol/L; por último, sobre estas dos disoluciones se depositan 70 mL de 2-HBBH de concentración 0,014 mol/L en tolueno (1,4% v/v DMF/tolueno). El sistema se agita mediante imanes y un agitador magnético a una velocidad de 800 rpm durante un periodo de tiempo de 5-6 horas (según la temperatura del trabajo), controlando la temperatura con ayuda de un baño termostático. Las pérdidas de disolución orgánica por evaporación se deben evitar tapando la celda. En estas condiciones el factor de preconcentración de la muestra es de 18,1. Las medidas de la fase receptora se realizan por espectroscopía de absorción atómica.



**Figura II.27.** Efecto de la temperatura sobre la eficacia del proceso de preconcentración de  $Fe^{3+}$  ( $[Fe^{3+}] = 0,5 \text{ mg/L}$ ,  $[NaCl] = 30 \text{ g/L}$ )



Para evaluar el rango de aplicabilidad del método se analizaron diversas fases cargadas con concentraciones de  $\text{Fe}^{3+}$  desde 0,02 hasta 0,5 mg/L y se midieron las fases receptoras correspondientes mediante espectroscopía de absorción atómica con llama. En todos los casos, se obtuvo una eficacia del 100% para la preconcentración de  $\text{Fe}^{3+}$ . Este intervalo de aplicabilidad puede incrementarse para valores de concentración inferiores empleando la atomización con horno de grafito (GFAAS).

Posteriormente se pasó a realizar la validación del método, estudiando las siguientes características analíticas que lo definen: reproducibilidad, límite de detección, límite de cuantificación y exactitud de la preconcentración empleando para ello agua de mar sintética y muestras de referencia certificadas.

#### II.4.8.1. Reproducibilidad del método propuesto

La reproducibilidad del método de preconcentración de  $\text{Fe}^{3+}$  mediante el sistema de membrana líquida propuesto, se estudió utilizando las condiciones experimentales óptimas. Para ello, se realizaron siete réplicas para una concentración de 0,5 mg/L de  $\text{Fe}^{3+}$  en la fase cargada. La eficacia de la preconcentración se calculó para 6 horas de extracción a 35 °C.

El porcentaje de error o precisión del método se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Precisión (\%)} = \frac{s \cdot t}{\bar{X} \cdot (\sqrt{n})} \cdot 100$$

donde el valor de la *t-student* fue de 2,447 para 6 grados de libertad ( $n^{\circ}$  experimentos realizados = 7), aceptando un intervalo de confianza del 95% [Miller y Miller, 2002].

En la **Tabla II.26**, se muestran los valores del porcentaje de extracción obtenidos que demuestran una reproducibilidad satisfactoria del método con una precisión de 2,02% para un intervalo de confianza de 95%, confirmando las adecuadas condiciones del sistema propuesto.

**Tabla II.26.** Reproducibilidad del método de preconcentración de  $Fe^{3+}$  mediante una membrana líquida de 2-HBBH

Parámetros	Valores
% Extracción	100,79; 103,18; 102,43; 99,78; 100,4; 100,14; 105,98
Media (X)	101,81
Desviación estándar (s)	2,22
Intervalo de confianza	95%
nº de experimentos	7
Grados de libertad= n-1	6
Valor <i>t-student</i>	2,447
Desviación estándar relativa (RSD) (%)	2,18
Precisión (%)	2,02

#### II.4.8.2. Sensibilidad del método: límite de detección y de cuantificación

Para el sistema de membrana líquida de volumen empleado en este trabajo de investigación, el límite de detección (o ruido químico, o límite de preconcentración) se puede definir como la cantidad mínima de hierro que se puede preconcentrar durante el proceso de extracción. Este parámetro es muy importante para cualquier método analítico, y para su cuantificación, se aplicó el criterio de la desviación del blanco del método. Para su determinación se realizaron varios experimentos utilizando como fase cargada, agua desionizada (Milli-Q) en ausencia de metal, cuyo pH fue ajustado mediante el empleo de la disolución reguladora HAcCl/AcCl<sup>-</sup> 0,67 mol/L. Las fases orgánica y receptora se prepararon de la misma manera que se indicó en los apartados anteriores. Los resultados obtenidos se recogen en la **Tabla II.27**.

**Tabla II.27.** Valores de concentración de  $Fe^{3+}$  en los blancos de preparación de la membrana líquida

Réplica	Concentración de $Fe^{3+}$ por FAAS (mg/L)	
	En la fase receptora ( $V_R$ )	Muestra Blanco
1	0,3264	0,0151
2	0,3765	0,0174
3	0,3041	0,0140
4	0,3031	0,0140
Promedio	0,3275	0,0151
Desviación estándar	0,0344	0,0016

Dado que se había comprobado la presencia de una ligera contaminación de hierro en los experimentos de preconcentración, se eliminaron trazas de hierro de las disoluciones cargada y orgánica antes de su uso en la celda de preconcentración. Así, y para eliminar cualquier cantidad contaminante de hierro que pudiera proceder de los reactivos químicos utilizados en la preparación de la fase cargada y la fase orgánica, se procedió a “limpiar” estas disoluciones como se describe a continuación:

- En embudos de decantación se colocaron 300 mL de la fase cargada  $V_c$  regulada a pH 1,9 con  $HAcCl/AcCl^-$  0,67 mol/L y 70 mL de una disolución de 0,014 mol/L de 2-HBBH en tolueno. Las dos fases se agitaron durante 20 minutos con un agitador de embudos, tiempo suficiente para extraer la cantidad de hierro que pudiera contener la fase cargada.

- La fase orgánica se limpió colocando 70 mL de disolución de tolueno conteniendo 0,014 mol/L de 2-HBBH en un embudo de decantación; a este volumen se le añadieron 25 mL de una disolución de  $HNO_3$  2,9 mol/L. Ambas fases se agitaron mecánicamente durante 20 minutos. De esa manera, se extraen los iones  $Fe^{3+}$  que pueden existir en forma del complejo Fe-2-HBBH en la fase orgánica, por destrucción del complejo producido por la acidez de la disolución de  $HNO_3$ .

Una vez preparadas las fases cargada y orgánica, se procedió a determinar la concentración de hierro en los blancos del método. Para ello, se realizaron cinco réplicas a una temperatura de 35 °C controlada en un baño termostático bajo agitación durante 6 horas de preconcentración.

Las medidas de la señal del blanco para cada réplica se realizaron mediante análisis de la fase receptora empleando la espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito (GFAAS) (más sensible que FAAS) y los resultados obtenidos se reflejan en la **Tabla II.28** en la que se han recogido los valores de la concentración de Fe<sup>3+</sup> en los blancos calculados a partir de las concentraciones del mismo en la fase receptora tomando en consideración el factor de preconcentración del sistema empleado que es 21,7. El valor medio de los cinco blancos fue 0,286 ± 0,018. A partir de estos datos, se calculó el límite de detección (L.D.) del sistema desarrollado multiplicando por tres la desviación estándar del blanco del método [IUPAC, 1997], obteniéndose un valor de 0,053 µg/L de Fe<sup>3+</sup> en la fase cargada. Se calculó también el límite de cuantificación (L.C.) definido como la concentración de analito que daba una respuesta equivalente a diez veces la desviación estándar del blanco [IUPAC, 1997], conduciendo a un valor de concentración de 0,18 µg/L de Fe<sup>3+</sup> en la muestra.

**Tabla II.28.** Valores de concentración de Fe<sup>3+</sup> en las muestras del blanco del método de preconcentración mediante la membrana líquida propuesta, tras la limpieza de los reactivos

Réplica	Concentración de Fe <sup>3+</sup> por GFAAS (µg/L)	
	En la fase receptora (V <sub>R</sub> )	Muestra Blanco
1	6,175	0,285
2	6,826	0,315
3	5,811	0,268
4	6,178	0,285
5	5,970	0,275
Promedio	6,192	0,286
Desviación estándar	0,386	0,018
L.D. / L.C.		<b>0,053 / 0,18</b>

### II.4.8.3. Exactitud del método de preconcentración propuesto

En este trabajo se verificó la exactitud del método de preconcentración de hierro propuesto analizando diferentes muestras de agua con matriz compleja. Así, se utilizaron muestras de agua de mar sintética, con objeto de estudiar la posible influencia de diferentes sales presentes en este tipo de aguas, una muestra de referencia certificada de agua y diversas muestras reales.

#### II.4.8.3.1. Aplicación a muestras de agua de mar sintética

Con el fin de comprobar la aplicabilidad del método desarrollado a muestras de agua de mar con matriz salina, se realizó el análisis de diferentes muestras de agua de mar sintética, cuya composición era similar a las muestras reales y que contenían diferentes concentraciones de  $\text{Fe}^{3+}$ , siguiendo para la preparación de esta agua la composición descrita en la bibliografía y que se encuentra detallada en la **Tabla II.29** [Grasshoff, 1983].

**Tabla II.29.** Composición del agua de mar sintética [Grasshoff, 1983]

Sal	Concentración (g/L)
NaCl	30
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	10,825
$\text{Na}_2\text{SO}_4$	3,994
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,495
KCl	0,677
$\text{NaHCO}_3$	0,196
KBr	0,098
$\text{H}_3\text{BO}_3$	0,027
$\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,024
NaF	0,003

Antes del uso de estas muestras de agua de mar sintética fue preciso eliminar la posible contaminación de hierro procedente de las sales utilizadas para su preparación.

El proceso de limpieza empleado consistió en agitar durante 20 minutos esta agua, después de ajustar su pH a 1,9 con la disolución reguladora HAcCl/AcCl- 0,67 mol/L, con una disolución de 0,014 mol/L del ligando 2-HBBH disuelto en 70 mL de tolueno en un embudo de decantación y dejar separar la fase orgánica de la fase acuosa. A esta última se le adicionó la concentración de Fe<sup>3+</sup> que se desea preconcentrar y se procedió a la aplicación del sistema de membrana líquida durante 6 horas, realizando 2 réplicas de cada experiencia y controlando el dispositivo a 50 °C.

Al igual que el estudio de las interferencias de las sales, también se comprobó el efecto de los metales sobre la eficacia del método, para ello se adicionaron a las muestras de agua de mar sintética antes preparada, varios metales con las concentraciones usuales a las que se encuentran en el agua de mar. En la **Tabla II.30**, se recogen los resultados obtenidos en este estudio, junto con los errores relativos calculados. De estos resultados se puede deducir la inexistencia de efectos interferentes significativos procedentes de las sales y los metales a los niveles característicos presentes en agua de mar.

**Tabla II.30.** Validación de la metodología propuesta usando muestras sintéticas de agua de mar con diferentes concentraciones de Fe<sup>3+</sup> y efecto de la adición de otros iones metálicos

Agua de mar Sintética	Cantidad de Fe <sup>3+</sup> añadida (µg/L)	Fe <sup>3+</sup> medido por MLV + FAAS (µg/L) (n=2)	Error Relativo (%)
M1	40	38,9 ± 2,05	-2,73
M2	50	52,8 ± 2,21	+5,67
M3	75	79,2 ± 3,56	+5,59
M4	100	100,6 ± 10,24	+0,62
M5 <sup>a</sup>	50	53,5 ± 2,51	+7,04
M6 <sup>b</sup>	40	39,6 ± 1,78	-1,05

<sup>a</sup> Al (2 µg/L), Co (0,02 µg/L), Mo (10 µg/L), Ni (0,3 µg/L) y Zn (0,6 µg/L) [Metrohm, 1990]

<sup>b</sup> V (5,094 µg/L), Pb (0,07µg/L), Bi (0,627 µg/L), Ni (0,3 µg/L), Cu (6,35 µg/L), Zn (6,54 µg/L), Al (2,698 µg/L), Mn (5,49 µg/L), Cd (0,337 µg/L), Pd (0,319 µg/L), Co (0,177 µg/L) y Tl (0,613 µg/L) [Crompton, 2007]

### II.4.8.3.2. Muestra de agua de referencia certificada

Como se ha indicado anteriormente, también se evaluó la exactitud del método de preconcentración de  $\text{Fe}^{3+}$  mediante la membrana líquida propuesta analizando una muestra de referencia certificada TMDA-62 (agua del Lago Ontario). La muestra de agua de referencia fue irradiada durante dos horas, previamente a ser sometida a la preconcentración en el sistema de membrana líquida, en digestor de UV (Equipo Metrohm 705 UV Digester), tras la adición de unas gotas de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30% (Suprapur, Merck, Alemania), con objeto de eliminar la materia orgánica presente. La membrana líquida formada por 0,014 mol/L de 2-HBBH en 70 mL de tolueno (1,4% v/v DMF/tolueno) y empleada para este estudio fue previamente lavada mediante agitación con una disolución acuosa de  $\text{HNO}_3$  2,9 mol/L durante 20 minutos.

La muestra se analizó por duplicado y los resultados de este estudio se recogen en la **Tabla II.31**. Como puede apreciarse, el valor de la concentración de hierro obtenido para la muestra de referencia analizada por el método propuesto, está dentro del intervalo certificado. La correcta concordancia del valor obtenido con el certificado demuestra la total eficacia del método desarrollado con muestras reales.

**Tabla II.31.** Validación de la metodología propuesta usando la muestra de referencia de agua TMDA-62

Muestra de referencia	$\text{Fe}^{3+}$ ( $\mu\text{g/L}$ )		Error relativo (%)
	Valor certificado	Valor medido (MLV + FAAS) (n=2)	
TMDA-62	121 ± 16,5	119 ± 9,38	-1,39

Por otro lado, y para evaluar la exactitud de la metodología propuesta, se aplicó al resultado obtenido el método de la *comparación de una media experimental con un valor conocido* [Miller y Miller, 2002]. Para ello se calculó el estadístico *t* de *student* mediante la siguiente expresión:

$$t = \frac{(\bar{x} - \eta) \cdot \sqrt{n}}{s}$$

donde  $\eta$  es el valor certificado,  $\bar{x}$  es la media del dato analítico muestral,  $n$  el número de experimentos realizados para obtenerlo y  $s$  su desviación estándar.

Se utilizó este test para establecer si existían diferencias entre la concentración determinada en la muestra de referencia utilizando el método analítico propuesto y aquella que esta certificada tratando de probar la hipótesis nula de que el valor medido es igual al valor real. En este test, se compara el valor absoluto de  $t$  calculado con un valor de  $t$  tabulado dependiendo del nivel de significación del test y del número de grados de libertad,  $n-1$ . Si el valor calculado resulta mayor que el tabulado entonces se rechaza la hipótesis nula, es decir, las diferencias entre ambos valores no son atribuibles únicamente a errores aleatorios.

En este caso, se obtuvo un valor de  $t$  calculado de 0,256 para la muestra de referencia TMDA-62. Para un intervalo de confianza del 95% y número de grados de libertad 1, el valor de  $t$  tabulado es 12,706. Como se puede observar el valor calculado fue mucho menor que el valor tabulado indicando que no existen diferencias significativas entre los resultados comparados y confirmando la exactitud del método propuesto.

#### **II.4.8.3.3. Aplicación del método de preconcentración propuesto en la determinación de hierro en muestras reales de agua de mar**

Para completar el estudio de la aplicabilidad del método propuesto se procedió al análisis de diversas muestras reales de agua. Así, se analizaron tres muestras de agua de mar costeras de una playa cercana a la zona industrial de Tánger (Marruecos) (M1, M2, M3), una muestra recogida en el Gran canal donde vierten las industrias de la misma ciudad (M4) y una muestra de agua tomada de la Ensenada de Guasabacoa perteneciente a la bahía de la Habana (Cuba) (M5).

Estas muestras de agua fueron pretratadas haciéndolas pasar a través de filtros de 0,45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro (OSMONICS, Micron Separations Inc.) empleando para



ello un sistema de vacío (MILLIPORE, Waters). Inmediatamente después de ser filtradas se acidificaron con 2 mL/L de HCl al 37% (Suprapur, Merck, Alemania) con el fin de preservar su contenido metálico y se almacenaron a 4 °C hasta su análisis.

Previamente a la aplicación del método de preconcentración, se realizó la digestión de las muestras para eliminar la materia orgánica que puede complejar los metales disueltos e interferir en las medidas. Estas muestras fueron digeridas mediante un digestor UV (705 UV Digester (Metrohm, Suiza)) durante dos horas en tubos de cuarzo de 15 mL de capacidad tras la adición de unos 50 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% (Suprapur, Merck, Alemania). Una vez digeridas las muestras se llevaron al pH óptimo de la membrana 1,9 mediante la disolución reguladora HAcCl/AcCl 0,67 mol/L y se colocaron en la celda del sistema de la membrana líquida para su posterior preconcentración.

Todas las muestras fueron preconcentradas durante 6 horas a una temperatura de 50 °C utilizando una concentración de 0,014 mol/L del agente transportador 2-HBBH en la membrana líquida. La preconcentración de estas muestras se hizo por duplicado y la concentración de Fe<sup>3+</sup> en la fase receptora, preparada con 2,9 mol/L de HNO<sub>3</sub> de calidad Suprapur, se determinó mediante espectroscopía de absorción atómica con llama (FAAS).

Para validar los resultados, éstos fueron contrastados con los obtenidos por voltamperometría de redisolución catódica adsorptiva empleando 1-nitroso-2-naftol y aplicando el método descrito en la Application Note No. V-125, Metrohm [Metrohm AN-V-125, 2004]. Las muestras fueron previamente digeridas por UV y la concentración de hierro en dichas muestras se obtuvo aplicando el método de adición estándar realizando tres adiciones con dos réplicas para cada medida. Los resultados obtenidos se detallan en la **Tabla II.32**. Como puede observarse, los errores relativos entre ambos métodos de medida son menores al 6%. Todo esto permite afirmar que el método de preconcentración propuesto, mediante el uso de una membrana líquida de volumen, es válido para ser aplicado a la determinación de iones Fe<sup>3+</sup> en muestras de agua real, con diferente grado de salinidad.

**Tabla II.32.** Aplicación del método de membrana líquida propuesto para preconcentrar y determinar  $Fe^{3+}$  en muestras reales de aguas naturales

Muestra	Salinidad (g/L)	$Fe^{3+}$ (mg/L)		Error relativo (%)
		Medido por AdCSV (n=2)	Medido por MLV + FAAS (n=2)	
M1	32,20	0,448 ± 0,007	0,437 ± 0,008	-2,40
M2	32,50	0,391 ± 0,007	0,397 ± 0,007	+1,66
M3	34,00	0,496 ± 0,002	0,519 ± 0,024	+4,66
M4	0,85	3,756 ± 0,267	3,538 ± 0,070	-5,80
M5	39,79	0,342 ± 0,002	0,348 ± 0,008	+1,72

## II.5. ESPECIACIÓN DE $Fe^{3+}/Fe^{2+}$ MEDIANTE EL MÉTODO DE MEMBRANA LÍQUIDA PROPUESTO

En Química Analítica Ambiental, además de conocer la concentración de un metal, es interesante conocer también en qué forma se encuentra en el agua, ya que la toxicidad de los metales pesados depende en muchas ocasiones de cómo se presentan frente a los organismos vivos. Como se ha comentado anteriormente, el estado de oxidación del hierro tiene una gran influencia en su actividad biológica. Debido a ello, unos de los objetivos perseguidos en el presente trabajo era estudiar la posible aplicación del sistema de membrana líquida desarrollado a la especiación de hierro, para determinar la concentración de sus diferentes estados de oxidación en muestras de aguas naturales y concretamente en muestras de agua de mar.

### II.5.1. Aplicación de la membrana líquida desarrollada a la determinación de $Fe^{2+}$

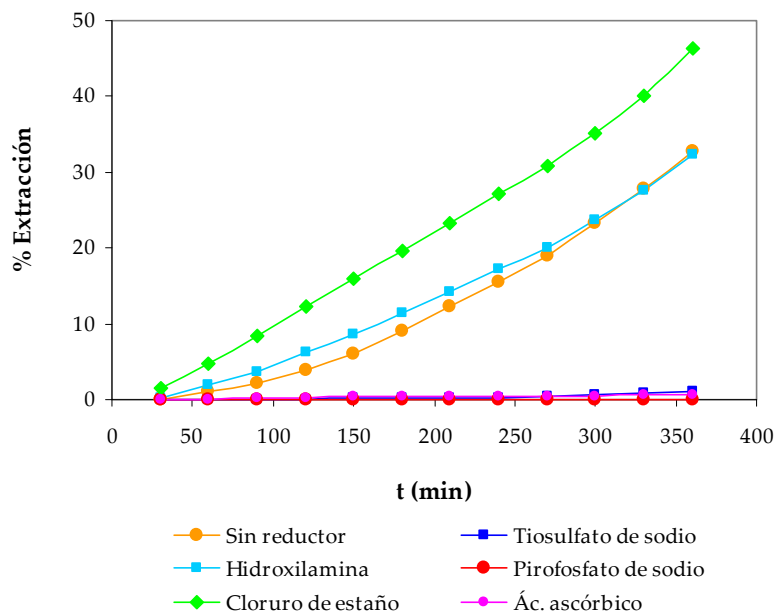
Con la finalidad de estudiar la especiación redox del hierro se optó por aplicar el método propuesto a la preconcentración de  $Fe^{2+}$ . Se realizaron diferentes experimentos de transporte de  $Fe^{2+}$  utilizando las condiciones físico-químicas optimizadas anteriormente. Para ello, se adicionó a la fase cargada una concentración de 0,5 mg/L de  $Fe^{2+}$  y un exceso de un agente reductor ( $10^{-3}$  mol/L) para evitar la oxidación de los

iones  $\text{Fe}^{2+}$  durante el proceso de preconcentración. La disolución stock de 100 mg/L de  $\text{Fe}^{2+}$  se preparó disolviendo 0,07 g de  $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (sal de mohr, Merck) en 100 mL de una disolución de HCl 0,01 mol/L.

En este estudio, se probaron cinco reductores: ácido ascórbico, cloruro de hidroxilamina ( $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ ), tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), pirofosfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ) y cloruro de estaño ( $\text{SnCl}_2$ ), todos de grado analítico. El proceso de preconcentración tuvo lugar a una temperatura de 35 °C en un baño termostático bajo agitación de 800 rpm durante 6 horas, tomando cada media hora un volumen de 2 mL de la fase receptora y reemplazándolo con 2 mL de  $\text{HNO}_3$  2,9 mol/L. Los valores del porcentaje de extracción obtenidos al cabo de 6 horas para estos experimentos se recogen en la **Tabla II.33** y su evolución con el tiempo transcurrido desde que comenzó el transporte se detalla en la **Figura II.28**.

**Tabla II.33.** Porcentaje de extracción de hierro con el sistema de MLV desarrollado en presencia de agentes reductores ( $[\text{Fe}^{2+}] = 0,5$  mg/L;  $[\text{agente reductor}] = 10^{-3}$  mol/L)

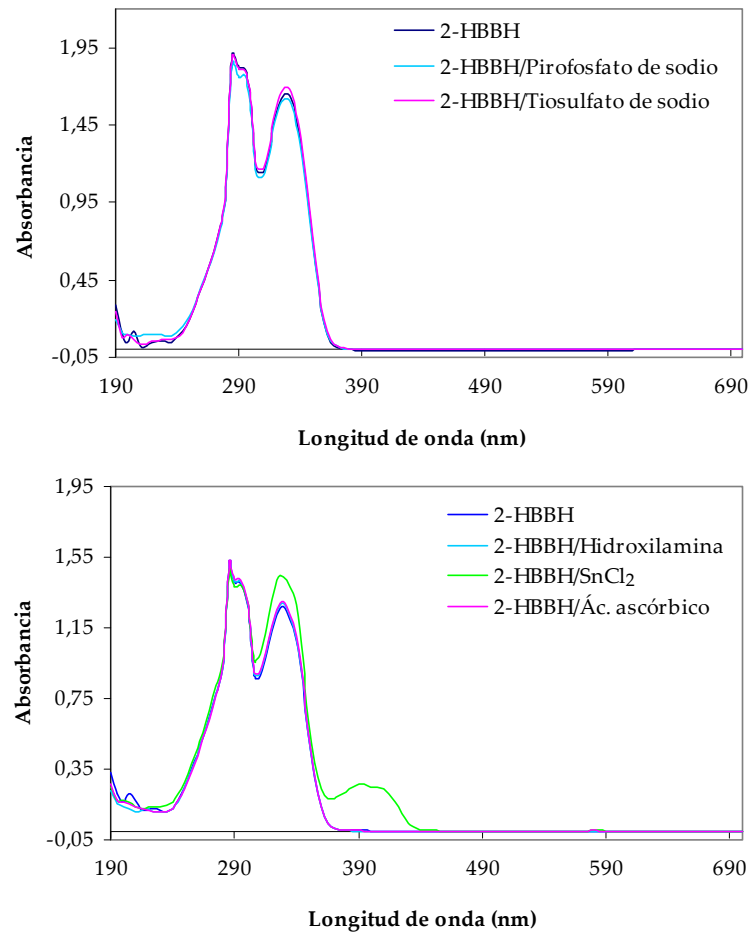
Agente reductor	Porcentaje de extracción (%)
Sin reductor	32,74
Hidroxilamina	32,25
Cloruro de estaño	46,24
Tiosulfato de sodio	0,99
Ácido ascórbico	0,67
Pirofosfato de sodio	0



**Figura II.28.** Variación en función del tiempo del porcentaje de preconcentración de hierro en presencia de diferentes reductores ( $[Fe^{2+}] = 0,5 \text{ mg/L}$ ;  $[agente \text{ reductor}] = 10^{-3} \text{ mol/L}$ )

Con objeto de comprobar la posible influencia que puede presentar cada uno de estos reductores sobre el agente transportador del sistema desarrollado, se analizaron los espectros de absorción molecular UV-Vis registrados para disoluciones de 2-HBBH en tolueno después de haberlas puesto en contacto con las disoluciones de los agentes reductores estudiados. Para ello, se dispusieron en un erlenmeyer de 100 mL de capacidad, unos 52 mL de la fase cargada conteniendo una concentración de  $10^{-3} \text{ mol/L}$  del agente reductor y 16,7 mL de la disolución reguladora 4 mol/L de pH 1,9 en ausencia de metal. A esta disolución se le añadieron 14 mL de la disolución de la membrana líquida formada por 0,014 mol/L de 2-HBBH en tolueno y se agitaron ambas disoluciones durante una hora a 800 rpm. Una vez transcurrido este tiempo se dejaron separar la fase acuosa y la fase orgánica y de esta última se tomaron unos 0,5 mL, que se enrasaron a 10 mL con tolueno para su posterior análisis mediante espectrofotometría. Los espectros obtenidos para la disolución orgánica de 2-HBBH

tratada con agitación con cada uno de los reductores frente a un blanco formado por el tolueno aparecen en la **Figura II.29**. Se puede observar como los espectros fueron similares al espectro de la disolución de 2-HBBH sin tratamiento con agente reductor, excepto en el caso de la utilización de SnCl<sub>2</sub>.



**Figura II.29.** Espectros UV-Vis de la 2-HBBH ( $7 \cdot 10^{-4}$  mol/L) en tolueno después de su agitación con disoluciones acuosas conteniendo diversos agentes reductores

De todos estos resultados se puede concluir que:

- La membrana líquida propuesta no transporta el ion  $\text{Fe}^{2+}$  de la fase cargada a la fase receptora.
- Durante el proceso de preconcentración con la membrana líquida, si la muestra contiene  $\text{Fe}^{2+}$ , un porcentaje de  $\text{Fe}^{2+}$  se oxida a  $\text{Fe}^{3+}$ , permitiendo su transporte a través de la membrana desde la fase de alimentación hacia la fase receptora.
- El empleo de ácido ascórbico, tiosulfato de sodio o pirofosfato de sodio permite evitar eficazmente la oxidación del  $\text{Fe}^{2+}$ , por lo que no es transportado por la membrana líquida (<1%).
- El empleo de cloruro de hidroxilamina como reductor no es eficaz, pues prácticamente se transporta la misma cantidad de  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$  que sin empleo de ningún tipo de reductor, debido a la oxidación del ión metálico.
- El empleo de cloruro de estaño no es adecuado porque altera la naturaleza de la membrana líquida.

### **II.5.2. Estabilización de $\text{Fe}^{2+}$ en la fase cargada**

Una vez comprobado que el agente transportador de la membrana líquida no puede transportar  $\text{Fe}^{2+}$  desde la fase de alimentación hacia la fase receptora como ocurría con  $\text{Fe}^{3+}$ , y con objeto de comprobar el transporte selectivo de  $\text{Fe}^{3+}$  a través de la membrana y realizar la especiación de este metal, se estudió la aplicación del método de membrana líquida a una disolución con hierro en los estados de oxidación  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{2+}$ .

Sin embargo, el hierro en forma de  $\text{Fe}^{2+}$  es una especie muy inestable y se oxida rápidamente a  $\text{Fe}^{3+}$  en contacto con el oxígeno del aire. De esta forma era necesario estabilizar esta especie durante el tiempo que duraba el proceso de preconcentración mediante el sistema de membrana líquida. Así se decidió estudiar dos métodos de estabilización de este ion: en primer lugar, mediante la eliminación del oxígeno que

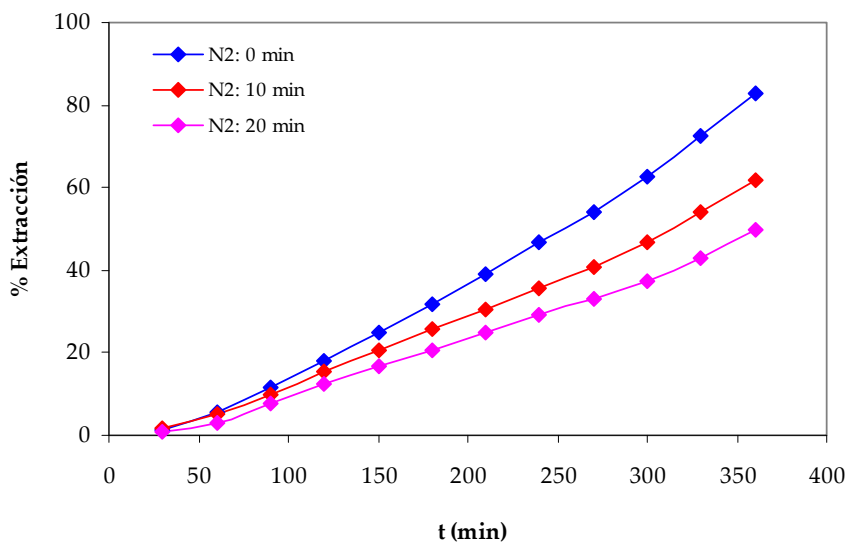
podiera existir en la fase de alimentación utilizando una purga de nitrógeno, y en segundo lugar, mediante la utilización de agentes enmascarantes de  $Fe^{2+}$ .

### II.5.2.1. Estabilización del $Fe^{2+}$ en la fase cargada mediante purga con nitrógeno

En este apartado se estudió la cantidad de nitrógeno adecuada para mantener estable el  $Fe^{2+}$ , variando el tiempo utilizado para purgar la fase de alimentación de concentración equimolar de  $Fe^{3+}$  y  $Fe^{2+}$ . Para ello, se realizaron tres experimentos de preconcentración empleando una concentración de 0,25 mg/L de ambas especies en la fase cargada. El proceso de preconcentración se llevó a cabo en un baño termostático a una temperatura de 35 °C durante 6 horas. El primer experimento de este estudio se realizó en ausencia de nitrógeno mientras que en el segundo y el tercero se purgó la fase cargada con nitrógeno durante 10 y 20 minutos, respectivamente. Los resultados obtenidos se detallan en la **Tabla II.34** y la **Figura II.30** donde puede observarse que tras purgar la fase cargada con nitrógeno durante un tiempo de 20 min ha conseguido preconcentrar el 50% del hierro total. Eso parece indicar que el  $Fe^{3+}$  de la fase cargada ha pasado a la fase receptora mediante transporte de la membrana conteniendo 2-HBBH, mientras que el 50% restante, que está en forma de  $Fe^{2+}$  ha permanecido en la fase cargada. Por tanto, en las condiciones de transporte empleadas, unos 20 minutos de purga con nitrógeno fueron suficientes para evitar la oxidación de la fracción de  $Fe^{2+}$  y mantenerla estable.

**Tabla II.34.** Porcentaje de extracción de hierro en función del tiempo de purga de la fase cargada con  $N_2$  ( $[Fe^{2+}] = 0,25$  mg/L;  $[Fe^{3+}] = 0,25$  mg/L)

Tiempo de purga con $N_2$ (min)	% Extracción
0	82,73
10	61,85
20	49,85



*Figura II.30. Influencia del tiempo de purga con N<sub>2</sub> de la fase cargada sobre la eficacia del proceso de preconcentración de hierro ([Fe<sup>2+</sup>]=0,25 mg/L; [Fe<sup>3+</sup>]=0,25 mg/L)*

### II.5.2.2. Estabilización mediante el empleo de agentes complejantes de Fe<sup>2+</sup>

Como una alternativa a la utilización de nitrógeno para mantener estable el Fe<sup>2+</sup>, se pensó en la utilización de ligandos complejantes de esta especie. Según la bibliografía, los iones Fe<sup>2+</sup> forman complejos estables en medios acuosos con 1,10-fenantrolina y 2,2'-bipiridilo, entre otros. Esta estabilización del Fe<sup>2+</sup> se atribuye a la existencia de enlace  $\pi$  entre el ión metálico Fe<sup>2+</sup> y estos ligandos orgánicos.

Para el estudio de la adición de 2,2'-bipiridilo, se disolvieron en un vaso de 50 mL de capacidad una cantidad de este agente enmascarante para tener una concentración molar en exceso respecto de la concentración de Fe<sup>2+</sup>, se adicionó 1 mL de la disolución reguladora acetato amónico/ácido acético para regular el pH a 3,5-4, se añadió un volumen adecuado del patrón Fe<sup>2+</sup> de 100 mg/L para obtener la concentración deseada de Fe<sup>2+</sup>, y se enrasó con HCl 0,01 mol/L hasta 50 mL aproximadamente. Se dejaron reaccionar los reactivos unos 30 minutos para permitir



que se produjera la complejación del metal, dando lugar a una disolución de color rosa.

En el caso del empleo de 1,10-fenantrolina, se adicionaron en un vaso de 50 mL unos 2 mL de 1,10-fenantrolina ( $C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$ ) de concentración 2,83 g/L (0,0143 mol/L) a una disolución que contenía  $Fe^{2+}$  y la disolución reguladora acetato amónico/ácido acético y se enrasó hasta 50 mL con HCl 0,01 mol/L. Igualmente, la reacción de complejación de  $Fe^{2+}$  se llevó a cabo bajo agitación durante 30 minutos, dando lugar esta vez a una disolución coloreada de naranja.

Una vez preparadas ambas disoluciones de ion metálico y agente complejante, se procedió a su uso como fase cargada de la membrana líquida. En ambos casos, la disolución se colocó en un matraz aforado de 500 mL y se adicionó un volumen de disolución patrón de 100 mg/L de  $Fe^{3+}$  según la concentración deseada. Se adicionó disolución reguladora HAcCl/AcCl<sup>-</sup> de pH 1,9 y concentración final de 0,67 mol/L, y se enrasó con agua desionizada (Milli-Q). Con la fase cargada así preparada se realizaron los experimentos de transporte a 35 °C durante 6 horas de preconcentración. El estudio se hizo por duplicado, con una muestra recién preparada y otra igual preparada, pero preservada a -20 °C durante 48 horas. El objetivo de este estudio era ver si con la metodología propuesta se podía realizar la conservación de la muestra previo a su análisis sin la alteración de los resultados. Hay que recordar que el objetivo final de este estudio es la aplicación a muestras reales y los agentes complejantes deberían de ser adicionados durante el muestreo, para evitar modificaciones en la especiación del metal, y que fueran útiles durante el tiempo que las muestras estuvieran almacenadas.

Los patrones de 100 mg/L de  $Fe^{2+}$  se prepararon diariamente disolviendo 0,0351 g de  $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot H_2O$  (sal de Mohr, Merck) en 50 mL de HCl 0,01 mol/L y burbujeando la disolución preparada con nitrógeno durante 5 minutos para estabilizar el  $Fe^{2+}$ . La disolución patrón de 100 mg/L de  $Fe^{3+}$  se preparó a partir de una disolución estándar de  $1000 \pm 2$  mg/L de  $Fe(NO_3)_3$ , conservada en  $HNO_3$  0,5 mol/L (Merck).

Los resultados obtenidos después de aplicada la membrana líquida a una disolución equimolar de 0,1 mg/L de  $Fe^{2+}$  y de  $Fe^{3+}$  y adición de los dos complejantes

propuestos, se detallan en la **Tabla II.35**. Como puede observarse, con la adición de los agentes enmascarantes en la disolución de la fase cargada se pudo preconcentrar el  $\text{Fe}^{3+}$  de forma selectiva, sin que la presencia de  $\text{Fe}^{2+}$  interfiriese en el proceso de preconcentración. Igualmente las muestras pudieron ser conservadas a  $-20^\circ\text{C}$  y el resultado seguía siendo adecuado, por lo que la adición de agentes enmascarantes se podrá utilizar como sistema de estabilización del  $\text{Fe}^{2+}$  en las muestras reales para el análisis de la especiación de hierro mediante el método propuesto.

**Tabla II.35.** Empleo de agentes enmascarantes de  $\text{Fe}^{2+}$  en el análisis de  $\text{Fe}^{3+}$  mediante el sistema de membrana líquida propuesto

Agente enmascarante	Concentración de hierro (mg/L)			
	Fase cargada inicial			Fase receptora final / $F_p$ <sup>b</sup>
	Fe Total	Fe <sup>2+</sup>	Fe <sup>3+</sup>	Fe <sup>3+</sup> (MLV+FAAS)
2,2'-Bipiridilo ( $8,96 \cdot 10^{-4}$ mol/L)	0,2	0,1	0,1	0,105
	0,2 <sup>a</sup>	0,1	0,1	0,099
1,10-Fenantrolina ( $5,72 \cdot 10^{-5}$ mol/L)	0,2	0,1	0,1	0,101
	0,2 <sup>a</sup>	0,1	0,1	0,116

<sup>a</sup> Fase cargada preservada a  $-20^\circ\text{C}$  durante 48 horas

<sup>b</sup>  $F_p$ : factor de preconcentración de la membrana líquida de volumen

Una vez comprobado que la utilización de ligandos complejantes de  $\text{Fe}^{2+}$ , pueden enmascarar esta fracción de hierro, y mantenerla estable durante la preconcentración de  $\text{Fe}^{3+}$  desde una disolución equimolar de ambas especies, se procedió a aplicar el método a muestras de agua con concentraciones diferentes de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{2+}$ , seleccionando en este caso el uso del 2,2' bipiridilo. Los resultados obtenidos se han recogido en la **Tabla II.36**, donde puede comprobarse la eficacia de la preconcentración selectiva de  $\text{Fe}^{3+}$ , incluso con diferentes cantidades de  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ .

El empleo de esta metodología requerirá que se añada el agente estabilizante al recipiente de toma de muestra antes de adicionar la muestra de agua, con objeto de evitar toda posible oxidación del ion  $\text{Fe}^{2+}$  que pueda ocurrir con el oxígeno del aire.

**Tabla II.36.** Preconcentración selectiva de  $\text{Fe}^{3+}$  en presencia de  $\text{Fe}^{2+}$  mediante la membrana líquida propuesta utilizando 2,2'-bipiridilo ( $0,7-7,6 \cdot 10^{-3}$  mol/L) como agente complejante

Concentración de hierro (mg/L)				% Recuperación de $\text{Fe}^{3+}$
Fase cargada inicial			Fase receptora final / $F_p^b$	
$\text{Fe}_{\text{Total}}$	$\text{Fe}^{2+}$	$\text{Fe}^{3+}$	$\text{Fe}^{3+}$ (MLV+FAAS)	
0,1	0	0,1	0,102	102
0,15	0,1	0,05	0,056	112
0,16	0,08	0,08	0,079	99
1,2	0,85	0,35	0,339	97

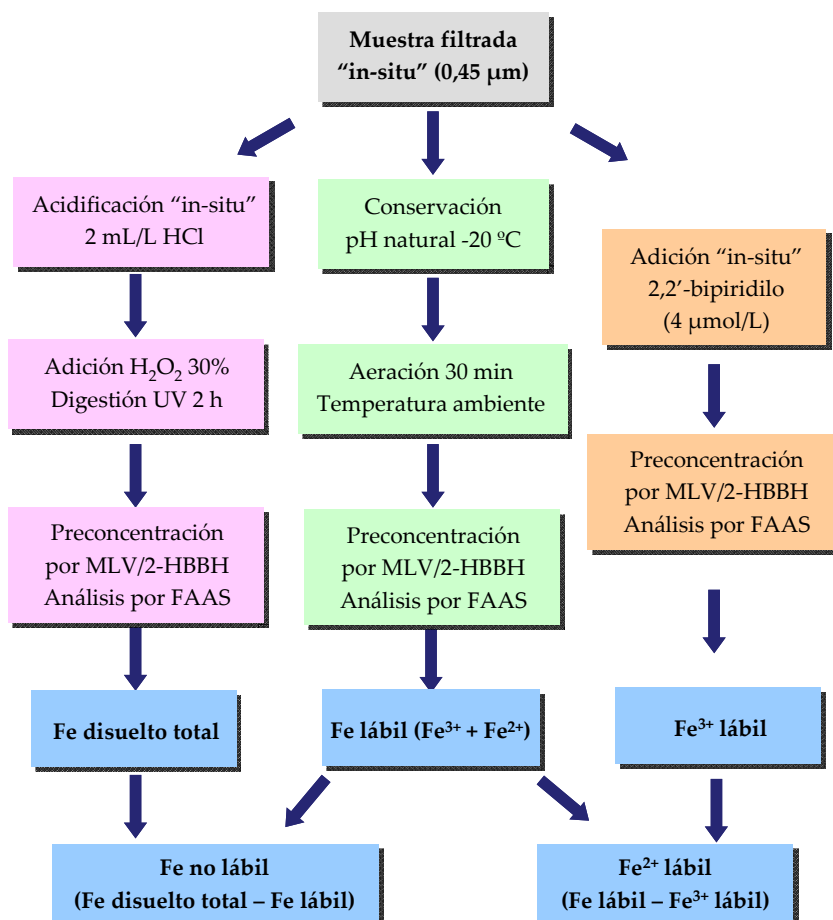
<sup>a</sup>  $F_p$ : factor de preconcentración de la membrana líquida de volumen

### II.5.3. Diseño de un método de especiación de Fe disuelto en aguas mediante el empleo de la membrana líquida propuesta

Como se mencionó en la introducción de este capítulo, el hierro se encuentra en las aguas naturales en dos estados de oxidación:  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ . Estos estados de oxidación están involucrados en la formación de complejos solubles inorgánicos y orgánicos, y en el metal particulado. El  $\text{Fe}^{3+}$  disuelto suele estar complejado por ligandos orgánicos o en forma coloidal, mientras que el  $\text{Fe}^{2+}$  predomina como ion hidratado libre o en un pequeño porcentaje como  $\text{FeCO}_3$  (ver **Figura II.5**) [Achterberg, 2001].

Atendiendo pues a la distribución de este metal en los ecosistemas acuáticos se propone un método de especiación del Fe disuelto utilizando la membrana líquida propuesta. El esquema de especiación se basa en la capacidad demostrada que posee la membrana líquida conteniendo 2-HBBH de diferenciar  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  durante el transporte

desde la fase acuosa cargada hacia la fase receptora. Este esquema se detalla en la **Figura II.31** y permite determinar el Fe disuelto total, así como diferenciar las siguientes fracciones en la muestra de agua: Fe no lábil (coloides y complejos orgánicos estables), así como  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  lábiles.



**Figura II.31.** Esquema de especiación de hierro empleado para el análisis de hierro en las muestras reales de agua de mar mediante el sistema de membrana líquida propuesto

El protocolo de muestreo incluyó la toma de las muestras de agua en barco, realizando el filtrado de las mismas "in-situ" y en continuo a través de filtros de membrana de 0,45 micras, conectados en línea con una bomba peristáltica, depositando las muestras directamente en botes de teflón. Las muestras así obtenidas fueron tratadas atendiendo al esquema de especiación requerido, de la siguiente forma: a) muestra filtrada y acidificada con 2 mL/L de HCl (Merck, calidad Suprapur); b) muestra filtrada a pH natural; c) muestra filtrada con adición de 4  $\mu\text{mol/L}$  de 2,2'-bipiridilo (2 mL/L de disolución 2 mmol/L de reactivo disuelto en HCl 0,01 mol/L) [Gledhill y van den Berg, 1995] para complejar el contenido de  $\text{Fe}^{2+}$  lábil. Después de este pretratamiento "in-situ" las muestras fueron conservadas en neveras de plástico con bloques de hielo hasta su llegada al laboratorio donde se congelaron inmediatamente a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

El análisis de la especiación del hierro se realizó según se describe a continuación:

#### **Fe disuelto total**

La determinación del contenido de metal disuelto total se realizó utilizando las muestras de agua de mar filtradas y acidificadas "in-situ" con 2 mL/L de HCl Suprapur (Merck, Alemania), las cuales fueron digeridas previa adición de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30% Suprapur (Merck, Alemania) con radiación UV durante 2 h. Una vez a temperatura ambiente, se conservaron las muestras digeridas en recipientes de poliestireno de 50 mL de capacidad a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis, que se realizó mediante la MLV propuesta. Con este procedimiento de radiación UV y  $\text{H}_2\text{O}_2$  se descompone la materia orgánica y los coloides que liberan el hierro no lábil, además de oxidar todo el metal. De esta forma se produce la preconcentración completa de todo el hierro disuelto.

#### **Fe lábil ( $\text{Fe}^{2+} + \text{Fe}^{3+}$ )**

Esta determinación se realizó sobre las muestras filtradas y conservadas a pH natural a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . La noche anterior al análisis, se sacó la muestra del congelador y se descongeló en el interior del frigorífico. Posteriormente, se atemperó la muestra a la

temperatura del laboratorio y se aplicó el método de la MLV tras aireación de la muestra durante 30 minutos, para favorecer la formación del estado más oxidado del hierro. De esta forma tanto  $\text{Fe}^{2+}$  como  $\text{Fe}^{3+}$  lábiles son transportados a través de la membrana. En este caso, los complejos de metal fuertemente complejados, así como la fracción coloidal no lábil no son preconcentrados.

#### **Fe<sup>3+</sup> lábil**

Esta fracción de metal se obtuvo a partir de las muestras filtradas y conservadas con 2,2'-bipiridilo (2 mL/L de disolución 2 mmol/L de reactivo disuelto en HCl 0,01 mol/L). La adición de este ligando estabiliza el estado de oxidación del  $\text{Fe}^{2+}$ , que no es transportado a través de la MLV, como se demostró anteriormente.

#### **Fe<sup>2+</sup> lábil**

Se obtiene por diferencia entre la cantidad de Fe lábil ( $\text{Fe}^{2+} + \text{Fe}^{3+}$ ) y  $\text{Fe}^{3+}$  lábil

#### **Fe no lábil (coloides y complejos orgánicos estables)**

Se obtiene por diferencia entre la cantidad de Fe total disuelto y el Fe lábil ( $\text{Fe}^{2+} + \text{Fe}^{3+}$ ).

El método de especiación de hierro propuesto utilizando la MLV se aplicó a tres muestras reales de agua de mar tomadas en la costa de Tánger (Marruecos). En la **Tabla II.37** se detallan los parámetros físico-químicos medidos en estas muestras. Estas muestras presentaban poco contenido en materia orgánica aunque el porcentaje de saturación de oxígeno disuelto era aproximadamente de un 20% inferior al valor máximo posible.

**Tabla II.37.** Parámetros físico-químicos de las muestras de agua de mar analizadas

Muestra	pH	Salinidad (g/L)	T (°C)	OD (% saturación)	COT (mg/L)
M1	8,69	35,9	16,5	81,4	0,48
M2	7,52	36,9	16,9	78,3	0,62
M3	7,7	38,4	16,8	80,8	0,33

Para la validación de la metodología se evaluaron los contenidos de hierro en cada una de las fracciones establecidas, empleando el método voltamperométrico de Metrohm (VA Application Note No. V-125) que permite analizar este metal mediante voltamperometría de redisolución catódica adsortiva de impulso diferencial (DP-AdCSV), utilizando el reactivo 1-nitroso-2-naftol (1N2N) como ligando complejante de hierro (Ver anexos). En la **Tabla II.37** se recogen los resultados obtenidos donde puede observarse que, tanto las medidas por el método propuesto de MLV como por AdCSV, aplicados en la determinación de Fe disuelto total, Fe lábil y Fe<sup>3+</sup> lábil, dieron resultados muy satisfactorios.

**Tabla II.37.** Análisis de especiación de hierro en muestras de agua de mar por el sistema propuesto

Muestra	Fracción de Fe	[Fe] (µg/L), (n=2)		% Error relativo
		AdCSV_1N2N	MLV+FAAS	
M1	Fe disuelto total	70,68 ± 1,39	69,34 ± 4,09	-1,90
	Fe lábil	30,58 ± 0,41	29,80 ± 0,14	-2,55
	Fe <sup>3+</sup> lábil	28,02 ± 0,35	27,35 ± 0,01	-2,39
	Fe <sup>2+</sup> lábil	2,56 ± 0,54	2,46 ± 0,14	-4,30
	Fe no lábil	40,10 ± 1,45	39,53 ± 4,09	-1,40
M2	Fe disuelto total	62,67 ± 1,62	63,00 ± 1,58	0,53
	Fe lábil	42,79 ± 0,40	42,53 ± 0,34	-0,61
	Fe <sup>3+</sup> lábil	39,89 ± 0,70	39,46 ± 0,02	-1,08
	Fe <sup>2+</sup> lábil	2,90 ± 0,80	3,06 ± 0,34	5,86
	Fe no lábil	19,88 ± 1,67	20,47 ± 1,62	2,97
M3	Fe disuelto total	54,61 ± 1,63	53,21 ± 1,13	-2,56
	Fe lábil	37,56 ± 0,17	38,46 ± 0,34	2,40
	Fe <sup>3+</sup> lábil	29,39 ± 0,31	29,92 ± 0,21	1,80
	Fe <sup>2+</sup> lábil	8,16 ± 0,35	8,53 ± 0,40	4,53
	Fe no lábil	17,05 ± 1,64	14,75 ± 1,18	-13,49

Las concentraciones de Fe<sup>2+</sup> lábil así como de Fe no lábil se obtuvieron por diferencia de concentraciones, para ambos métodos, por lo que la desviación estándar de cada uno de los valores obtenidos se determinó empleando la expresión siguiente:

$$\sigma = \sqrt{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}$$

donde  $\sigma_1$  y  $\sigma_2$  representan los valores de la desviación estándar de las concentraciones restadas.

## **II.6. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS**

En este capítulo se ha aplicado el sistema de preconcentración por membrana líquida de volumen, formada por el ligando 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH) disuelto en tolueno, de forma muy satisfactoria al análisis de hierro en aguas. Se ha demostrado que el agente transportador de la membrana tiene una capacidad ligante que le permite complejar el hierro en una relación metal-ligando de 1:2 y con una constante de complejación del orden de  $10^8$  (mol/L)<sup>-2</sup>. Este metal puede ser transportado con eficacia, con un factor de preconcentración en la celda empleada de 21,7. El método que se propone permite preconcentrar el metal en un rango muy amplio de concentraciones, habiéndose estudiado desde 0,02 hasta 0,5 mg/L de hierro con detección por espectroscopía de absorción atómica con llama, e inferiores con atomización electrotérmica. Se obtuvo una precisión del 2,02% en la determinación de hierro y un límite de detección de 0,053 µg/L de metal. La eficacia del proceso de preconcentración es del 100% en 5-7 h, dependiendo de la concentración de hierro en la muestra y de la temperatura empleada.

Entre las ventajas de la nueva metodología presentada, cabría destacar la posibilidad de aplicación en muestras de agua de naturaleza compleja como es el caso de agua de mar y la preconcentración selectiva de Fe<sup>3+</sup>, lo que ha permitido proponer un esquema de especiación de hierro, de gran importancia en Química Analítica Ambiental.



A partir de estos resultados se plantean las siguientes perspectivas de futuro:

- Puesta a punto de nuevos métodos de preconcentración de otros metales, tales como  $\text{Ni}^{2+}$  que ha demostrado formar complejo a pH 9 con el agente transportador del sistema desarrollado, y  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Co}^{2+}$  que dieron resultados en extracción-reextracción con el ligando orgánico o-vanillina fenilhidrazona (VPH), usando la misma configuración de celda de membrana líquida de volumen.
- Estudios de aplicabilidad de estos nuevos métodos en especiación metálica, al igual que se ha realizado con el hierro.
- Adaptación de los sistemas estudiados a membranas líquidas soportadas, en las que el gasto de reactivo y disolvente son considerablemente reducidos cumpliendo con algunos de los principios de la Química Verde.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

**Abdel-Aal** T. M., El-Sayed W. A. y El-Ashry E. S. H. Synthesis and antiviral evaluation of some sugar Arylglycinoylhydrazones and their oxadiazoline derivatives. *Archiv der Pharmazie Chemistry in Life Sciences* 339, 656-663 (2006).

**Achterberg** E. P., Holland T. W., Bowie A. R., Mantoura R. F. C. y Worsfold P. J. Determination of iron in seawater. *Analytica Chimica Acta* 442, 1-14 (2001).

**Aguilar** M. y Cortina J. L. Solvent Extraction and Liquid Membranes. Fundamentals and Applications in New Materials. Eds.; CRC Press, Taylor & Francis Group, London New York (2008).

**Ahmad** A. L., Kusumastuti A., Derek C. J. C. y Ooi B. S. Emulsion liquid membrane for heavy metal removal: An overview on emulsion stabilization and destabilization. *Chemical Engineering Journal* 171, 870-882 (2011).

**Ahmad** A. L., Kusumastuti A., Derek C. J. C. y Ooi B. S. Emulsion liquid membrane for cadmium removal: Studies on emulsion diameter and stability. *Desalination* 287, 30-34 (2012).

**Ainscough** E. W., Brodie A. M., Dobbs A. J., Ranford J. D. y Waters J. M. Antitumour copper(II) salicylaldehyde benzoylhydrazone (H<sub>2</sub>sb) complexes: physicochemical properties and the single-crystal X-ray structures of  $[\{\text{Cu}(\text{H}_2\text{sb})(\text{CCl}_3\text{CO}_2)_2\}_2]$  and  $[\{\text{Cu}(\text{Hsb})(\text{ClO}_4)(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})\}_2]$  and the related salicylaldehyde acetylhydrazone (H<sub>2</sub>sa) complex,  $[\text{Cu}(\text{Hsa})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ . *Inorganica Chimica Acta* 267, 27-38 (1998).

**Ainscough** E. W., Brodie A. M., Ranford J. D. y Waters J. M. Hexafluorosilicate coordination to the antitumour copper(II) salicylaldehyde benzoylhydrazone (H<sub>2</sub>L) system: single-crystal X-ray structure of  $[\{\text{Cu}(\text{HL})(\text{H}_2\text{O})_2\text{SiF}_6\}_2]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . *Inorganica Chimica Acta* 236, 83-88 (1995).

**Akiba** K., Ito M. y Nakamura S. Selective transport of yttrium(III) in the presence of iron(III) through liquid-membrane impregnating acidic organophosphonate mobile carrier. *Journal of Membrane Science* 129, 9-17 (1997).

**Akin** I., Erdemir S., Yilmaz M. y Ersoz M. Calix[4]arene derivative bearing imidazole groups as carrier for the transport of palladium by using bulk liquid membrane *Journal of Hazardous Materials* 223-224, 24-30 (2012).

**Akl** M. A. Preconcentration extractive separation, speciation and spectrometric determination of iron(III) in environmental samples. *Microchemical Journal* 75, 199-209 (2003).

**Al Marzouqi** M. H., Abdulkarim M. A., Marzouk S. A., El-Naas M. H. y Hasanain H. M. Facilitated transport of CO<sub>2</sub> through immobilized liquid membrane. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 44, 9273-9278 (2005).

**Al-Anber** M. y Al-Anber Z. A. Utilization of natural zeolite as ion-exchange and sorbent material in the removal of iron. *Desalination* 225, 70-81 (2008).

**Alguacil** F. J. y Alonso M. Description of Transport Mechanism during the Elimination of Copper(II) from Wastewaters Using Supported Liquid Membranes and Acorga M5640 as Carrier. *Environmental Science and Technology* 39, 2389-2393 (2005).

**Alguacil** F. J. y Alonso M. Iron(III) transport using a supported liquid membrane containing Cyanex 921. *Hydrometallurgy* 58, 81-88 (2000).

**Alguacil** F. J. y Martínez S. Permeation of iron(III) by an immobilised liquid membrane using Cyanex 923 as mobile carrier. *Journal of Membrane Science* 176, 249-255 (2000).

**Alguacil** F. J., Alonso M. y Sastre A. M. Modelling of mass transfer in facilitated supported liquid membrane transport of copper(II) using MOC-55 TD in Iberfluid. *Journal of Membrane Science* 184, 117-122 (2001).

**Alguacil** F. J., Alonso M., Lopez F. A. y Lopez-Delgado A. Active transport of cobalt (II) through a supported liquid membrane using the mixture DP8R and Acorga M5640 as extractant. *Desalination* 281, 221-225 (2011).

**Ali** I. y Aboul-Enein H. Y. Instrumental Methods in Metal Ions Speciation. Taylor & Francis Ltd., New York, USA (2006).

**Alizadeh** N., Salimi S. y Jabbari A. Transport study of palladium through a bulk liquid membrane using hexadecylpyridinium as carrier. *Separation and Purification Technology* 28, 173-180 (2002).

**Altin** S., Yildirim Y. y Altin A. Transport of silver ions through a flat-sheet supported liquid membrane. *Hydrometallurgy* 103, 144-149 (2010).

**Annibaldi** A., Illuminati S., Truzzi C. y Scarponi G. WASV speciation of Cd, Pb and Cu for the determination of seawater contamination in the area of the *Nicol* shipwreck (Ancona coast, Central Adriatic Sea). *Marine Pollution Bulletin* 62, 2813-2821 (2011).

**Aouarram** A., Galindo-Riano M. D., Garcia-Vargas M., Stitou M. y El Yousfi F., A permeation liquid membrane system for determination of nickel in seawater. *Talanta* 71, 165-170 (2007).

**Aouarram** A., Galindo-Riaño M. D., García-Vargas M., Stitou M., El Yousfi F. y Espada-Bellido E. An efficient approach to designing and optimizing the analysis of Ni(II) by AdCSV in seawater. *Talanta* 82, 1749-1756 (2010).

**Araki** T. y Tsukube H. Liquid Membranes: Chemical Applications, CRC Press, Florida (1990).

**Araujo** P. W. y Brereton R. G. Experimental design I. Screening. *TrAC-Trends in Analytical Chemistry* 15, 26-31 (1996).

**Aruffo** A. A., Murphy T. B., Johnson D. K., Rose N. J. y Schomaker V. Structural Studies of Fe(III) and Cu(II) Complexes of Salicylaldehyde Benzoyl Hydrazone, a Synthetic Chelating Agent Exhibiting Diverse Biological Properties. *Inorganica Chimica Acta* 67, L25-L27 (1982).

**Aruffo** A. A., Murphy T. B.; Johnson D. K., Rose N. J. y Schomaker V. Structures of cis-dichloro(methanol)(salicylaldehyde benzoylhydrazonato)iron(III),  $[\text{FeCl}_2(\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2)(\text{CH}_3\text{O})]$ , and chloro(salicylaldehyde benzoylhydrazonato)copper(II) monohydrate,  $[\text{CuCl}(\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2)]\cdot\text{H}_2\text{O}$ . *Acta Crystallographica Section C* 40, 1164-1169 (1984).

**Ashraf** M. W. y Mian A. Selective separation and preconcentration studies of chromium(VI) with Alamine 336 supported liquid membrane. *Environmental Toxicology and Chemistry* 88, 187-196 (2006).

**Ata** O. N. Modelling of copper ion transport through supported liquid membrane containing LIX 984. *Hydrometallurgy* 77, 269-277 (2005).

**Avino** P., Capanesi G. y Rosada A. Heavy metal determination in atmospheric particulate matter by Instrumental Neutron Activation Analysis. *Microchemical Journal* 88, 97-106 (2008).

**Avramovici-Grisaru** S., Sarel S., Link G. y Hershko C. Syntheses of iron bis(pyridoxal isonicotinoylhydrazones) and the in vivo iron-removal properties of some pyridoxal derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry* 26, 298-302 (1983).

**Bagheri** H., Gholami A. y Najafi A. Simultaneous preconcentration and speciation of iron(II) and iron(III) in water samples by 2-mercaptobenzimidazole-silica gel sorbent and flow injection analysis system. *Analytica Chimica Acta* 424, 233-242 (2000).

**Bakker** D. C. E., Bozec Y., Nightingale P. D., Goldson L., Messias M. -J., de Baar H. J. W., Liddicoat M., Skjelvan I., Strass V. y Watson A. J. Iron and mixing affect biological carbon uptake in SOIREE and EisenEx, two Southern Ocean ironfertilisation experiments. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 52, 1001-1019 (2005).

**Bale** M. N. y Sawant A. D. Solvent extraction and spectrophotometric determination of uranium(VI) with pyridine-2-carboxaldehyde 2-hydroxy benzoyl hydrazone. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 247, 531-534 (2001).

**Bartsch** R. y Way J. D. Chemical Separations with Liquid Membranes, ACS, Washington (1996).

**Bayen** S., Gunkel-Grillon P., Worms I., Martin M. y Buffle J. Influence of inorganic complexes on the transport of trace metals through permeation liquid membrane. *Analytica Chimica Acta* 646, 104-110 (2009).

**Bayen** S., Worms I., Parthasarathy N., Wilkinson K. y Buffle J. Cadmium bioavailability and speciation using the permeation liquid membrane. *Analytica Chimica Acta* 575, 267-273 (2006).

**Bayne** C. K. y Ruben I. B. Practical Experimental Designs and optimization Methods for Chemists. VCH Publishers, Inc., Deerfield Beach, Florida, USA (1986).

**Berhe** H. G., Bourne S. A., Bredenkamp M. W., Esterhuysen C., Habtu M. M., Koch K. R. y Luckay R. C. High and selective Ag(I) bulk liquid membrane transport with N,N-diethyl-N'-camphanyl thiourea and structure of the complex. *Inorganic Chemistry Communications* 9, 99-102 (2006).

**Bernhardt** P. V., Caldwell L. M., Chaston T. B., Chin P. y Richardson D. R. Cytotoxic iron chelators: characterization of the structure, solution chemistry and redox activity of ligands and iron complexes of the

di-2-pyridyl ketone isonicotinoylhydrazone analogues. *Journal of Inorganic Biological Chemistry* 8, 866-880 (2003).

**Bhattacharyya** A., Mohapatra P. K., Gady T., Raut D. R., Ghosh S. K. y Manchanda V. K. Liquid-liquid extraction and flat sheet supported liquid membrane studies on Am(III) and Eu(III) separation using 2,6-bis(5,6-dipropyl-1,2,4-triazin-3-yl)pyridine as the extractant. *Journal of Hazardous Materials* 195, 238-244 (2011).

**Biller** D. V. y Bruland K. W. Analysis of Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, and Pb in seawater using the Nobias-chelate PA1 resin and magnetic sector inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). *Marine Chemistry* 130-131, 12-20 (2012).

**Blain** S. y Tréguer P. Iron (II) and iron(III) determination in sea water at the nanomolar level with selective on-line preconcentration and spectrophotometric determination. *Analytica Chimica Acta* 308, 425-432 (1995).

**Blatný** P., Kvasnička F. y Kenndler E. Trace determination of iron in water on the ppb level by on-line coupling of capillary isotachopheresis and capillary zone electrophoresis with UV detection of the Fe(III)-EDTA complex. *Journal of Chromatography A* 757, 297-302 (1997).

**Bowie** A. R., Achterberg E. P., Blain S., Boye M., Croot P. L., Hein J.W. de Baar H. J. W., Laan P., Sarthou G. y Worsfold P. J. Shipboard analytical intercomparison of dissolved iron in surface waters along a north-south transect of the Atlantic Ocean. *Marine Chemistry* 84, 19-34 (2003).

**Bowie** A. R., Achterberg E. P., Mantoura R. F. C. y Worsfold P. J. Determination of sub-nanomolar levels of iron in seawater using flow-injection with chemiluminescence detection. *Analytica Chimica Acta* 361, 189-200 (1998).

**Bukhari** N., Chaundry M. A. y Mazhar M. Cobalt(II) transport through triethanolamine cyclohexanone supported liquid membranes. *Journal of Membrane Science* 234, 157-165 (2004).

**Buonomenna** M. G., Molinarib R. y Driolia E. Selective mass transfer of iron(III) in supported liquid membrane using highly acidic extractants, 3-phenyl-4-acyl-5isoxazolones. *Desalination* 148, 257-262 (2002).

**Byrne** R. H., Kump L. R. y Cantrell K. J. The influence of temperature and pH on trace metal speciation in seawater. *Marine Chemistry* 25, 163-181 (1988).

**Calza** P., Massolino C., Pelizzetti E. y Minero C. Role of iron species in the photo-transformation of phenol in artificial and natural seawater. *Science of the Total Environment* 426, 281-288 (2012).

**Carletto** J. S., Luciano R. M., Bedendo G. C. y Carasek E. Simple hollow fiber renewal liquid membrane extraction method for preconcentration of Cd(II) in environmental samples and detection by Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 638, 45-50 (2009).

**Chakravarti** A. K., Chowdhury S. B. y Mukherjee D. C. Liquid membrane multiple emulsion process of separation of copper(II) from waste waters. *Colloids and surface. A: Physicochemical and Engineering Aspects* 166, 7-25 (2000).

**Chakravarti** A. K., Chowdhury S. B., Chakrabarty S., Chakrabarty T. y Mukherjee D. C. Liquid membrane multiple emulsion process of chromium (VI) separation from waste waters. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 103, 59-71 (1995).

**Chalapathi** P. V., Prathima B., Subba R. Y., Janardhan R. K., Ramesh G. N. , Venkata R. R. D. y Varada R. A. A chelating reagent 2,3,4-Trihydroxy acetophenone phenylhydrazone (THAPPH) used for selective and sensitive kinetic spectrophotometric determination of Thorium(IV) from ores. *Research Journal of Chemistry and Environment* 15, 579-585 (2011).

**Chaston** T. B. y Richardson D. R. Interactions of the pyridine-2-carboxal -dehyde isonicotinoylhydrazone class of chelators with iron and DNA: implications for toxicity in the treatment of iron overload disease. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* 8, 427-438 (2003).

**Chaturvedi** S. y Dave P. N. Removal of iron for safe drink water. *Desalination* 303, 1-11 (2012).

**Chaudry** M. A., Ahmad S. y Malik M. T., Supported liquid membrane technique applicability for removal of chromium from tannery wastes. *Waste Management* 17, 211-218 (1997).

**Cheize** M., Sarthou G., Croot P. L., Bucciarelli E., Baudoux A. C. y Baker A. R. Iron organic speciation determination in rainwater using cathodic stripping Voltammetry. *Analytica Chimica Acta* 736, 45-54 (2012).

**Chiha** M., Hamdaoui O., Ahmedchekkat F. y Pétrier C. Study on ultrasonically assisted emulsification and recovery of copper(II) from wastewater using an emulsion liquid membrane process. *Ultrasonics Sonochemistry* 17, 318-325 (2010).

**Cho** B. Y. Iron removal using an aerated granular filter. *Process Biochemistry* 40, 3314-3320 (2005).

**Cocco** M. T., Congiu C., Lilliu V. y Onnis V. Synthesis and in vitro antitumoral activity of new hydrazinopyrimidine-5-carbonitrile derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 14, 366-372 (2006).

**Colonna C.**, Cossé-Barbi A., Massat A., Abdelmoumene R. y Doucet J. P. Étude Infrarouge du Pyridoxal. Isonicotinoyl Hydrazone Et de Composés Analogues. *Bulletin des Sociétés Chimiques Belges* 102, 411-430 (1993).

**Colvin P.**, Filipova V. y Masic A. Iron removal. VVAN01 Decentralized water and wastewater treatment. [www.chemeng.lth.se/vvan01/Arkiv/ExerciseB\\_Ironremoval.pdf](http://www.chemeng.lth.se/vvan01/Arkiv/ExerciseB_Ironremoval.pdf) (2011).

**Cordier C.**, Vauthier E., Adenier A., Lu Y., Massat A. y Cossé-Barbi A. Salicylaldehyde Benzoyl Hydrazone: Isomerization due to Water. A Structural Analysis Using a Combination of NMR, IR, and Theoretical Investigations. *Structural Chemistry* 15, 295-307 (2004).

**Crompton T. R.** Toxicants in aqueous ecosystems. A Guide for the Analytical and Environmental Chemist. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg (2007).

**Croot P. L.** y Hunter K. A. Determination of Fe(II) and total iron in natural waters with 3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine (PDT). *Analytica Chimica Acta* 406, 289-302 (2000).

**Cunha Areias M. C.**, Avila-Terra L. H. S, Gaubeur I. y Suarez-Iba M. E. V. A new simultaneous spectrophotometric determination method for determination of iron(II) and iron(III) in natural waters. *Spectroscopy Letters* 34, 289-300 (2001).

**Cussler E. L.**, Schiffer D. K., Hochhauser A. y Evans D. F. Concentrating solutes with membranes containing carriers. *Nature* 250, 484-486 (1974).

**Dabrowsky A.**, Hubicki Z., Podkosierny P. y Robens E. Selective Removal of the Heavy Metals from Waters and Industrial Wastewaters by Ion Exchange Resins. *Chemosphere* 56, 91-106 (2004).

**Dalali N.**, Yavarizadeh H. y Agrawal Y. K. Separation of zinc and cadmium from nickel and cobalt by facilitated transport through bulk liquid membrane using trioctyl methyl ammonium chloride as carrier. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 18, 1001-1005 (2012).

**Danesi P. R.** Separation of metal species by supported liquid membranes. *Separation Science and Technology* 19, 857-894 (1985).

**de Baar H. J. W.** y de Jong J. T. M. Distributions, sources and sinks of iron in seawater, in: D. R. Turner, K. A. Hunter (Eds.), *The Biogeochemistry of Iron in Seawater*. IUPAC Series on Analytical and Physical Chemistry of Environmental Systems, Vol. 7, 123-253. John Wiley & Sons Ltd., Chichester (2001).

**de Benito J. M.** Desarrollo de nuevas membranas compuestas para la separación de iones metálicos y aplicaciones electroquímicas. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona (2006).

**de Gyves J.** y Rodríguez-de San Miguel E. Metal ion separations by supported liquid membranas. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 38, 2182-2203 (1999).

**de Jong J. T. M.,** den Das J., Bathmann U., Stoll M. H. C., Kattner G., Nolting R. F. y de Baar H. J. W. Dissolved iron at subnanomolar levels in the Southern Ocean as determined by ship-board analysis. *Analytica Chimica Acta* 377, 113-124 (1998).

**de la Guardia M.** y Armenta S. Green Analytical Chemistry: Theory and Practice. *Comprehensive Analytical Chemistry* 57. Edited by Barceló, B. Elsevier, Oxford (2011).

**Demirbas A.** Heavy metal adsorption onto agro-based waste materials: A review. *Journal of Hazardous Materials* 157, 220-229 (2008).

**Di Luccio M.,** Smith B. D., Kida T., Alves T. L. M. y Borges C. P. Evaluation of flat sheet and hollow fiber supported liquid membranes for fructose pertraction from a mixture of sugars. *Desalination* 148, 213-20 (2002).

**Díaz-de Alba M.,** Galindo-Riaño M. D. y García-Vargas M. Solid phase extraction of copper traces using poly(styrene-divinylbenzene) membrane disks modified with pyridoxal salicyloylhydrazone in water samples. *Talanta* 100, 432-438 (2012).

**Dimmock J. R.,** Baker G. B. y Taylor W. G. Aroylhydrazones. II. Ultraviolet spectroscopy and antimicrobial evaluation of some substituted aroylhydrazones. *Canadian Journal of Pharmaceutical Sciences* 7, 100-103 (1972).

**Djane N. K.,** Ndung'u K., Johnsson C., Sartz H., Tornstrom T. y Mathiasson L. Chromium speciation in natural waters using serially connected supported liquid membranes. *Talanta* 48, 1121-1132 (1999).

**Djane N. K.,** Ndungú K., Malcus F., Johansson G. y Mathiasson L. Supported liquid membrane enrichment using an organophosphorus extractant for analytical trace metal determinations in river waters. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 358, 822-827 (1997).

**Domínguez-Lledó F. C.,** Galindo-Riaño M. D., Díaz-López I. C., García-Vargas M. y Granado-Castro M. D., Applicability of a liquid membrane in enrichment and determination of nickel traces from natural waters. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 389, 653-659 (2007).

**Dozol J. F.,** Casas J. y Sastre A. M. Influence of the Extractant on Strontium Transport from Reprocessing Concentrate Solutions through Flat-Sheet Supported Liquid Membranes. *Separation Science and Technology* 29, 1999-2018 (1994).



**Dutta S.**, Manivannan V., Babu L. G. y Pal S. A Mononuclear Manganese(III) Schiff Base Complex, [Mn(C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)(C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>O<sub>3</sub>)(CH<sub>4</sub>O)]. *Acta Crystallographica* C51, 813-815 (1995).

**El Amrani F. Z.**, Kumar A. y Sastre A. M. Kinetic modelling of the active transport of copper(II) across liquid membranes using thiourea derivatives immobilized on microporous hydrophobic supports. *New Journal of Chemistry* 23, 517-523 (1999b).

**El Amrani F. Z.**, Kumar A., Beyer L., Florido A. y Sastre A. M. Mechanistic study of active transport of silver(I) using sulfur containing novel carriers across a liquid membrane. *Journal of Membrane Science* 152, 263-275 (1999a).

**El-Taher A.** Determination of chromium and trace elements in El-Rubshi chromite from Eastern Desert, Egypt by neutron activation analysis. *Applied Radiation and Isotopes* 68, 1864-1868 (2010).

**EPA U.S.** National Primary and Secondary Drinking Water Regulations. U.S. Environmental Protection Agency. 816-F-09-004 (2009).

**Es'haghi Z.** y Azmoodeh R. Hollow fiber supported liquid membrane microextraction of Cu<sup>2+</sup> followed by flame atomic absorption spectroscopy determination. *Arabian Journal of Chemistry* 3, 21-26 (2010).

**Espada-Bellido E.**, Galindo Riaño M. D., García-Vargas M. y Narayanaswamy R. Selective Chemosensor for Copper Ions Based on Fluorescence Quenching of a Schiff-Base Fluorophore. *Applied Spectroscopy* 64, 727-732 (2010).

**Espada-Bellido E.**, Galindo-Riaño M. D. y García-Vargas M. Sensitive adsorptive stripping voltammetric method for determination of lead in water using multivariate analysis for optimization. *Journal of Hazardous Materials* 166, 1326-1331 (2009a).

**Espada-Bellido E.**, Galindo-Riaño M. D., Aouarram A. y García-Vargas M. Applicability of 2-Hydroxybenzaldehyde Benzoylhydrazone in the Determination of Trace Metals by Adsorptive Cathodic Stripping Voltammetry: Relevancy of Simultaneous Determinations. *Analytical Sciences* 25, 903-909 (2009b).

**Eyal A.** y Kislik V. S. Aqueous hybrid liquid membrane a novel system for separation of solutes using water-soluble polymers as carriers. *Journal of Membrane Science* 161, 207-221 (1999).

**Fakhari A. R.**, Khorrami A. R. y Shamsipur M. Selective uphill Zn<sup>2+</sup> transport via a bulk liquid membrane using an azacrown ether carrier. *Separation and Purification Technology* 50, 77-81 (2006).

**Ferreirós N.**, Iriarte G., Alonso R. M. y Jiménez R. M. MultiSimplex and experimental design as chemometric tools to optimize a SPE-HPLC-UV method for the determination of eprosartan in human plasma samples. *Talanta* 69, 747-756 (2006).

**Fischer A. C.**, Wolterbeek H. Th., Kroon J. J., Gerringa L. J. A., Timmermans K. R., van Elteren J. T. y Teunissen T. On the use of iron radio-isotopes to study iron speciation kinetics in seawater: A column separation and off-line counting approach. *Science of the Total Environment* 362, 242-258 (2006).

**Fontàs C.**, Hidalgo M., Salvadó V. y Anticó E. Selective recovery and preconcentration of Mercury with a benzoylthiourea-solid supported liquid membrane system. *Analytica Chimica Acta* 547, 255-261 (2005).

**Fortin D.**, Leppard G. G. y Tessier A. Characteristics of lacustrine diagenetic iron oxyhydroxides. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 57, 4391-4404 (1993).

**Fouad E. A.** y Bart H. J. Emulsion liquid membrane extraction of zinc by a hollow-fiber contactor. *Journal of Membrane Science* 307, 156-168 (2008).

**Fujii M.**, Ito H., Rose A. L., Waite T. D. y Omura T. Transformation dynamics and reactivity of dissolved and colloidal iron in coastal waters. *Marine Chemistry* 110, 165-175 (2008).

**Gaikwad A. G.** y Rajput A. M. Transport of yttrium metal ions through fibers supported liquid membrane solvent extraction. *Journal of Rare Earths* 28, 1-6 (2010).

**Gallego M.**, García-Vargas M. y Valcarcel M. Analytical applications of picolinealdehyde salicyloylhydrazone. 2. Extraction and spectrophotometric determination of vanadium(V). *Microchemical Journal* 24, 143-149 (1979a).

**Gallego M.**, García-Vargas M. y Valcarcel M. Pyridine-2-carbaldehyde 2-hydroxybenzoylhydrazone as a selective reagent for the extraction and spectrophotometric determination of iron(II). *Analyst* 104, 613-619 (1979b).

**Gallego M.**, García-Vargas M., Pino F. y Valcarcel M. Analytical applications of picolinealdehyde salicyloylhydrazone-spectrophotometric determination of nickel and zinc. *Microchemical Journal* 23, 353-359 (1978).

**Gameiro M. L. F.**, Ismael M. R. C., Reis M. T. A. y Carvalho J. M. R. Recovery of copper from ammoniacal medium using liquid membranes with LIX 54. *Separation and Purification Technology* 63, 287-296 (2008).

**García-Valls R.**, Munoz M. y Valiente M. Selective separation of lanthanides by supported liquid membranes containing Cyanex 925 as a carrier. *Analytica Chimica Acta* 387, 77-84 (1999).

**García-Vargas M.**, Bautista J. M. y de Toro P. Analytical possibilities of pyridine-2-acetaldehyde benzoylhydrazone as a chromogenic reagent. *Microchemical Journal* 26, 557-568 (1981).

**García-Vargas M.**, Gallego M. y de la Guardia M. Pyridine-2-acetaldehyde salicyloylhydrazone as an analytical reagent and its application to the determination of vanadium. *Analyst* 105, 965-973 (1980).

**García-Vargas M.**, Hernandez-Artiga M. P. y Pérez-Bustamente J. A. Liquid-liquid extraction with 2-acetylpyridinebenzoylhydrazone in the determination of traces of copper, nickel, cobalt and zinc by atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 157, 363-367 (1984).

**Gawroński R.** y Religa P. Transport mechanism of chromium(III) through the unmixed bulk liquid membrane containing dinonylnaphthalenesulfonic acid as a carrier. *Journal of Membrane Science* 289, 187-190 (2007).

**Gholivand M. B.** y Khorsandipoor S. Selective and efficient uphill transport of Cu(II) through bulk liquid membrane using N-ethyl-2-aminocyclopentene-1-dithiocarboxylic acid as carrier. *Journal of Membrane Science* 180, 115-120 (2000).

**Gill J. S.**, Singh H. y Gupta C. K. Studies on supported liquid membrane for simultaneous separation of Fe(III), Cu(II) and Ni(II) from dilute feed. *Hydrometallurgy*, 55, 113-116 (2000).

**Gledhill M.** y van den Berg C. M. G. Measurement of the redox speciation of iron in seawater by catalytic cathodic stripping voltammetry. *Marine Chemistry* 50, 51-61 (1995).

**Goyal R. K.**, Jayakumar N. S. y Hashim M. A. Chromium removal by emulsion liquid membrane using [BMIM]<sup>+</sup>[NTf<sub>2</sub>]<sup>-</sup> as stabilizer and TOMAC as extractant. *Desalination* 278, 50-56 (2011).

**Grammaticakis P.** Contribution à l'étude spectrale des dérivés azotés de quelques aldéhydes et cétones aromatiques. VII. Hydrazones et acyldihydrazones. *Bulletin de la Société Chimique de France*, pp. 690-698 (1950).

**Granado-Castro M. D.**, Galindo-Riaño M. D. y García-Vargas M. Model Experiments to Test the Use of a Liquid Membrane for Separation and Preconcentration of Copper from Natural Water. *Analytica Chimica Acta* 506, 81-86 (2004a).

**Granado-Castro M. D.**, Galindo-Riaño M. D. y García-Vargas M. Separation and Preconcentration of Cadmium Ions in Natural Water using a Liquid Membrane System with 2-Acetylpyridine Benzoylhydrazone as Carrier by Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B* 59, 577-583 (2004b).

- Grasshoff K.**, Ehrhardt M. y Kremling K. *Methods of Seawater Analysis*, 2<sup>nd</sup> Ed, Verlag Chemie, Weinheim, p. 491. (1983).
- Güell R.**, Antico E., Salvadó V. y Fontàs C. Efficient hollow fiber supported liquid membrane system for the removal and preconcentration of Cr(VI) at trace levels. *Separation and Purification Technology* 62, 389-393 (2008).
- Gulbaev Ya. I.**, Azizov T. A., Khudoyarov A. B. y Sharipov Kh. T. *Uzbekskii Khimicheskii Zhurnal*, p. 28 (1997).
- Gumi T.**, Oleinikova M., Palet C., Valiente M. y Muñoz M. Facilitated transport of lead(II) and cadmium (II) through novel activated composite membranes containing di-(2-ethyl-hexyl)phosphoric acid as carrier. *Analytica Chimica Acta* 408, 65-74 (2000).
- Güssow K.**, Proelss A., Oschlies A., Rehdanz K. y Rickels W. Ocean iron fertilization: Why further research is needed. *Marine Policy* 34, 911-918 (2010).
- Hewitt C. N.** y Harrison R. M. *Understanding our Environment*, Cap 1, Royal Society of London (1986).
- Huang T. C.** y Juang R. S. Rate and mechanism of divalent metal transport through supported liquid membrane containing di(2-ethylhexyl) phosphoric acid as a mobile carrier. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 42, 3-17 (1988).
- Huang Y.**, Yuan D., Dai M. y Liu Y. Reverse flow injection analysis method for catalytic spectrophotometric determination of iron in estuarine and coastal waters: A comparison with normal flow injection analysis. *Talanta*, 93, 86-93.(2012).
- Hudson R. J. M.** y Morel F. M. Iron transport in marine phytoplankton: Kinetics of cellular and medium coordination reactions. *Limnology and Oceanography* 35, 1002-1020 (1990).
- Ibisanmi E.**, Sander S., Boyd P., Bowie A. y Hunter K. Vertical distributions of iron(III) complexing ligands in the Southern Ocean. *Deep-Sea Research II* 58, 2113-2125 (2011).
- Inés M.**, Almeida G. S., Catrall R. W., Kolev S. D. Recent trends in extraction and transport of metal ions using polymer inclusion membranes (PIMs). *Journal of Membrane Science* 415-416, 9-23 (2012).
- Irigoyen L.**, Moreno C., Mendiguchía C. y García-Vargas M. spectrometric determination of cadmium in seawater. *Journal of Membrane Science* 274, 169-172 (2006).
- IUPAC.** Compendium of Chemical Terminology, 2<sup>nd</sup> ed. (the"Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford.XML on-line corrected version:

<http://goldbook.iupac.org> (2006-) created by M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins. ISBN 0-9678550-9-8. doi:10.1351/goldbook (1997).

**Jafari S.**, Yaftian M. R. y Parinejad M. Facilitated transport of cadmium as anionic iodo-complexes through bulk liquid membrane containing hexadecyltrimethyl-ammonium bromide. *Separation and Purification Technology* 70, 118-122 (2009).

**Jha M. K.**, Kumar V., Jeong J. y Lee J. C. Review on solvent extraction of cadmium from various solutions. *Hydrometallurgy* 111-112, 1-9 (2012).

**Jiann K. -T.** y Wen L. -S. Distribution and lability of dissolved iron in surface waters of marginal seas in southeastern Asia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 100, 142-149 (2012).

**Johnson D. K.**, Murphy T. B., Rose N. J., Goodwin W. H. y Pickart L. Cytotoxic chelators and chelates 1. Inhibition of DNA synthesis in cultured rodent and human cells by aroylhydrazones and by a copper(II) complex of salicylaldehyde benzoyl hydrazone. *Inorganica Chimica Acta* 67, 159-165 (1982).

**Johnson D. K.**, Pippard M. J., Murphy T. B. y Rose N. J. An in vivo evaluation of iron-chelating drugs derived from pyridoxal and its analogs. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 221, 399-403 (1982).

**Jönsson J. A.** y Mathiasson L. Supported liquid membrane techniques for sample preparation and enrichment in environmental and biological analysis. *TrAC-Trends in Analytical Chemistry* 11, 106-114 (1992).

**Jurado-González J. A.**, Galindo-Riaño M. D. y García-Vargas M. Experimental designs in the development of a new method for the sensitive determination of cadmium in seawater by adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta* 487, 229-241 (2003).

**Kakoi T.**, Horinouchi N., Goto M. y Nakashio F. Selective recovery of palladium from a simulated industrial waste water by liquid surfactant membrane process. *Journal of Membrane Science* 118, 63-71 (1996).

**Kandwal P.**, Ansari S. A. y Mohapatra P. K. A highly efficient supported liquid membrane system for near quantitative recovery of radio-strontium from acidic feeds. Part II: Scale up and mass transfer modeling in hollow fiber configuration. *Journal of Membrane Science* 405-406, 85-91 (2012).

**Kandwal P.**, Ansari S. A. y Mohapatra P. K. Transport of cesium using hollow fiber supported liquid membrane containing calix[4]arene-bis(2,3-naphtho)crown-6 as the carrier extractant: Part II. Recovery from simulated high level waste and mass transfer modeling. *Journal of Membrane Science* 384, 37-43 (2011).

- Kandwal P.**, Dixit S., Mukhopadhyay S., Mohapatra P. K. y Manchanda V. K. Mathematical modeling of Cs(I) transport through flat sheet supported liquid membrane using calix-[4]-bis(2,3-naphtho)-18-crown-6 as the mobile carrier. *Desalination* 78, 405-411 (2011).
- Karlskrona**, Sweden, MultiSimplex, version 2.0.4, MultiSimplex AB (publ) (1998).
- Katyal M.** y Dutt Y. Analytical applications of hydrazones. *Talanta* 22, 151-166 (1975).
- Kawashima T.**, Kozuma Y. y Nakano S. A new catalytic determination of ultratrace amounts. of iron with *p*-anisidine and *n*, *n*-dimethylaniline. *Analytica Chimica Acta* 106, 355-360 (1979).
- Kaymakçioğlu B. K.** y Rollas S. Synthesis, characterization and evaluation of antituberculosis activity of some hydrazones. *Il Farmaco* 57, 595-599 (2002).
- Kebiche-Senhadji O.**, Mansouri L., Tingry S., Seta P. y Benamor M. Facilitated Cd(II) transport across CTA polymer inclusion membrane using anion (Aliquat 336) and cation (D2EHPA) metal carriers. *Journal of Membrane Science* 310, 438-445 (2008).
- Kedari C. S.**, Pandit S. S. y Ramanujam A. Selective permeation of plutonium(IV) through supported liquid membrane containing 2-ethylhexyl 2-ethylhexyl phosphonic acid as ion carrier. *Journal of Membrane Science* 156, 187-196 (1999).
- Kedari C. S.**, Pandit S. S., Misra S. K. y Ramanuja A. Mass transfer mechanism of the carrier-facilitated transport of uranium(VI) across 2-ethylhexyl phosphonic acid mono-2-ethylhexyl ester immobilised liquid membranes. *Hydrometallurgy* 62, 47-56 (2001).
- Kentish S. E.** y Stevens G. W. Innovations in Separations Technology for the Recycling and Reuse of Liquid Waste Stream. *Chemical Engineering Journal* 84, 149-159 (2001).
- Khudoyarov A. B.** y Sharipov Kh. T. *Uzbekskii Khimicheskii Zhurnal*, p. 3 (1991).
- Kimbrough D. E.**, Cohen Y., Winer A. M., Creelman L. y Mabuni C. A. Critical Assessment of Chromium in the Environment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 29, 1-46 (1999).
- King D. W.**, Lin J. y Kester D. R. Spectrophotometric determination of iron(II) in seawater at nanomolar concentrations. *Analytica Chimica Acta* 247, 125-132 (1991).
- Kirkbright G. F.**, West T. S. y Woodward C. Spectrofluorometric determination of submicrogram amounts of aluminium and beryllium with 2-hydroxy-3-naphthoic acid. *Analytical Chemistry* 37, 137-143 (1965).

**Kislik V. S.** Liquid Membranes. Principles and Applications in Chemical Separations and Wastewater Treatment. 1<sup>st</sup> ed. Elsevier B.V (2010).

**Kislik V. S.** y Eyal A. Aqueous hybrid liquid membrane process for metal separation. Part I. A model for transport kinetics and its experimental verification. *Journal of Membrane Science* 169, 119-132 (2000a).

**Kislik V. S.** y Eyal A. Aqueous hybrid liquid membrane process for metal separation. Part II. Selectivity of metals separation from wet-process phosphoric acid. *Journal of Membrane Science* 169, 133-146 (2000b).

**Kislik V. S.** y Eyal A. M. Hybrid liquid membrane (HLM) and supported liquid membrane (SLM) based transport of titanium(IV). *Journal of Membrane Science* 111, 273-281 (1996).

**Kitaev Y. P.**, Buzykin B. L. y Troepol'skaya T. V. The Structure of Hydrazones. *Russian Chemical Review* 39, 441-456 (1970).

**Kocherginsky N. M.** y Grishchenko A. Method for metal recovery from aqueous solutions. US Patent 6,521,117 (2003).

**Kocherginsky N. M.** y Yang Q. Big Carrousel mechanism of copper removal from ammoniacal wastewater through supported liquid membrane. *Separation and Purification Technology* 54, 104-116 (2007).

**Kondo Y.**, Takeda S. y Furuya K. Distinct trends in dissolved Fe speciation between shallow and deep waters in the Pacific Ocean. *Marine Chemistry* 134-135, 18-28 (2012).

**Kreingold S.** y Sosenkova L. I. *Zhurnal Analyticheskoi Khimii* 26, 332-337 (1971).

**Krishna D. G.**, Devanna N. y Devi Ch. K. Simultaneous determination of Nickel (II) and Copper (II) using 4-Hydroxy-3, 5-dimethoxy benzaldehyde-4-hydroxybenzoylhydrazone by first order derivative spectrophotometric technique. *International Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry*. ISSN-2231-5012. <http://www.urpjournals.com> (2012).

**Kucukguzel S. G.**, Rollas S., Erdeniz H. y Kiraz M. Synthesis, characterization and anti microbial evaluation of ethyl 2-arylhydrazono-3-oxobutyrate. *European Journal of Medicinal Chemistry* 34, 153-160 (1999).

**Kulkarni P. S.**, Mukhopadhyay S., Bellary M. P. y Ghosh S. K. Studies on membrane stability and recovery of uranium (VI) from aqueous solutions using a liquid emulsion membrane process. *Hydrometallurgy* 64, 49-58 (2002).

**Kumbasar R. A.** Cobalt-nickel separation from acidic thiocyanate leach solutions by emulsion liquid membranes (ELMs) using TOPO as carrier. *Separation and Purification Technology* 68, 208-215 (2009a).

**Kumbasar** R. A. Extraction and concentration study of cadmium from zinc plant leach solutions by emulsion liquid membrane using trioctylamine as extractant. *Hydrometallurgy* 95, 290-296 (2009b).

**Kumbasar** R. A. Extraction of chromium (VI) from multicomponent acidic solutions by emulsion liquid membranes using TOPO as extractant. *Journal of Hazardous Materials* 167, 1141-1147 (2009c).

**Kumbasar** R. A. Selective extraction and concentration of chromium(VI) from acidic solutions containing various metal ions through emulsion liquid membranes using Amberlite LA-2. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 16, 829-836 (2010a).

**Kumbasar** R. A. Selective extraction of chromium (VI) from multicomponent acidic solutions by emulsion liquid membranes using tributylphosphate as carrier. *Journal of Hazardous Materials* 178, 875-882 (2010b).

**Kumbasar** R. A. Selective extraction of cobalt from strong acidic solutions containing cobalt and nickel through emulsion liquid membrane using TIOA as carrier. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 18, 2076-2082 (2012a).

**Kumbasar** R. A. Selective transport of cobalt (II) from ammoniacal solutions containing cobalt (II) and nickel (II) by emulsion liquid membranes using 8-hydroxyquinoline. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 18, 145-151 (2012b).

**Kumbasar** R. A. Studies on extraction of chromium (VI) from acidic solutions containing various metal ions by emulsion liquid membrane using Alamine 336 as extractant. *Journal of Membrane Science* 325, 460-466 (2008a).

**Kumbasar** R. A. Transport of cadmium ions from zinc plant leach solutions through emulsion liquid membrane-containing Aliquat 336 as carrier. *Separation and Purification Technology* 63, 592-599 (2008b).

**Kumbasar** R. A. y Sahin I. Separation and concentration of cobalt from ammoniacal solutions containing cobalt and nickel by emulsion liquid membranes using 5,7-dibromo-8-hydroxyquinoline (DBHQ). *Journal of Membrane Science* 325, 712-718 (2008).

**Kunungo** S. B. y Mohapatra R. Coupled transport of Zn(II) through a supported liquid membrane containing bis(2,4,4-trimethylpentyl) phosphinic acid in kerosene. II Experimental evaluation of model equations for rate process under different limiting conditions. *Journal of Membrane Science* 105, 227-235 (1995).

**Laës** A., Vuillemin R., Leilde B., Sarthou G., Bournot-Marec C. y Blain S. Impact of environmental factors on in situ determination of iron in seawater by flow injection analysis. *Marine Chemistry* 97, 347-356 (2005).



- Laglera L. M., Battaglia G. y van den Berg C. M. G.** Effect of humic substances on the iron speciation in natural waters by CLE/CSV. *Marine Chemistry* 127, 134-143 (2011).
- Lazarova Z., Syska B. y Schügerl K.** Application of large-scale hollow fiber contactors for simultaneous extractive removal and stripping of penicillin G. *Journal of Membrane Science* 202,151-164 (2002).
- Lee J. Y., Raju B., Kumar B. N., Kumar J. R., Park H. K. y Reddy B. R.** Solvent extraction separation and recovery of palladium and platinum from chloride leach liquors of spent automobile catalyst. *Separation and Purification Technology* 73, 213-218 (2010).
- Lee J., Lee H. K., Rasmussen K. E. y Pedersen-Bjergaard S.** Environmental and bioanalytical applications of hollow fiber membrane liquid-phase microextraction: A review. *Analytica Chimica Acta* 624, 253-268 (2008)
- León G. y Guzmán M. A.** Facilitated transport of cobalt through bulk liquid membranes containing diethylhexyl phosphoric acid. *Desalination* 162, 211-215 (2004).
- León G. y Guzmán M. A.** Kinetic study of the effect of carrier and stripping agent concentrations on the facilitated transport of cobalt through bulk liquid membranes. *Desalination* 184, 79-87 (2005).
- León G. y María A. G.** Facilitated transport of copper through bulk liquid membranes containing different carriers: compared kinetic study. *Desalination* 223, 330-336 (2007).
- Li N. N.** Separation of hydrocarbons by liquid membrane permeation. *Industrial and Engineering Chemistry Process Design and Development* 10, 215-221 (1971).
- Li Y., Van Loon J. C. y Barefoot R. R.** Preconcentration of trace elements in potable liquids by means of a liquid membrane emulsion for flame atomic absorption determination. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 345, 467-470 (1993).
- Lin H. y Twining B. S.** Chemical speciation of iron in Antarctic waters surrounding free-drifting icebergs. *Marine Chemistry* 128-129, 81-91 (2012).
- Lindegard B., Björk H., Jönsson J. A., Mathiasson L. y Olsson A. M.** Automated column liquid chromatographic determination of a basic drug in blood plasma using the supported liquid membrane technique for sample pretreatment. *Analytical Chemistry* 66, 4490-4497 (1994).
- López-López J. A., Mendiguchía C., Pinto J. J. y Moreno C.** Liquid membranes for quantification and speciation of trace metals in natural waters. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 29, 645-653 (2010).

- Lu Y. H.**, Lu Y. W., Wu C. L., Shao Q., Chen X. L. y Biboum Bimbong R. N. UV-visible spectroscopic study of the salicylaldehyde benzoylhydrazone and its cobalt complexes. *Spectrochimica Acta Part A* 65, 695-701 (2006).
- Lyubchova A.**, Cossé-Barbi A., Doucet J. P., Robert F., Souron J. P. y Quarton M. *Acta Crystallographica* C51, 1893-1895 (1995).
- Marchese J.** y Campderrós M. Mass transfer of cadmium ions in hollow-fiber module by pertraction. *Desalination* 164, 141-149 (2004).
- Martin J. H.** y Fitzwater S. E. Iron-deficiency limits phytoplankton growth in the Northeast Pacific Subarctic. *Nature* 331, 341-343 (1988).
- Martin J. H.**, Gordon R. M. y Fitzwater S. E. The Case For Iron. *Limnology and Oceanography* 36, 1793-1802 (1991).
- Measures C. I.** y Vink S. Seasonal variations in the distribution of Fe and Al in the surface waters of the Arabian Sea. *Deep-Sea Research. Part A* 46, 1597-1622 (1999).
- Measures C. I.**, Yang J. y Resing J. A. Determination of Iron in Seawater by Flow Injection Analysis using in-line Preconcentration and Spectrophotometric Detection. *Marine Chemistry* 50, 3-12 (1995).
- Mendez J.**, Guieu C. y Adkins J. Atmospheric input of manganese and iron to the ocean: Seawater dissolution experiments with Saharan and North American dusts. *Marine Chemistry* 120, 34-43 (2010).
- Mendiguchía C.**, Moreno C. y García-Vargas M. Determination of copper in seawater based on a liquid membrane preconcentration system. *Analytica Chimica Acta* 460, 35-40 (2002).
- Metrohm.** Determination of Zinc, Cadmium, Lead, Copper, Thallium, Nickel and Cobalt in water samples according to DIN 38406 E16, Application Bulletin No. 231/2e; B1,2,9,16, pp. 6 (1990).
- Meyer D.**, Prien R. D., Dellwig O., Connelly D. P. y Schulz-Bull D. E. In situ determination of iron(II) in the anoxic zone of the central Baltic Sea using ferene as spectrophotometric reagent. *Marine Chemistry* 130-131, 21-27 (2012)
- Miller J. N.** y Miller J. C. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. 4ª Edición. Madrid. Pearson Educación (2002).
- Min M.**, Shen L., Hong G., Zhu M., Zhang Y., Wang X., Chen Y. y Hsiao B. S. Micro-nano structure poly(ether sulfones)/poly(ethyleneimine) nanofibrous affinity membranes for adsorption of anionic dyes and heavy metal ions in aqueous solution. *Chemical Engineering Journal* 197, 88-100 (2012).

**Minhas** F. T., Memon S. y Bhangar M. I. Transport of Hg(II) through bulk liquid membrane containing calix[4]arene thioalkyl derivative as a carrier. *Desalination* 262, 215-220 (2010).

**Mohamad Ali** A. S., Abdul Razak N. y Ab Rahman I. Adsorption Study for the Extraction of Silver Ions by Hydrazone Compounds from Aqueous Solution. *The Scientific World Journal* (2012). doi:10.1100/2012/351967

**Mohan** M., Gupta M. P., Chandra L. y Jha N. K. Synthesis, characterization and antitumour properties of some metal(II) complexes of 2-pyridinecarboxaldehyde 2'-pyridylhydrazone and related compounds. *Inorganica Chimica Acta* 151, 61-68 (1988).

**Molinari** R., Poerio T., Cassano R., Picci N. y Argurio P. Copper(II) removal from wastewaters by a new synthesized selective extractant and SLM viability. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 43, 623-628 (2004).

**Montgomery** D. C. Diseño y análisis de experimentos. Ed. Grupo Editorial Iberoamericana, S. A., México (2001).

**Moreno** A., Silva M., Pérez-Bendito D. y Valcárcel M. Catalytic effect of iron(III) on the oxidation of 2-hydroxybenzaldehyde thiosemicarbazone by hydrogen peroxide: Kinetic Fluorimetric Determination of Iron. *Analytica Chimica Acta* 157, 333-342 (1984).

**Mortaheb** H. R., Kosuge H., Mokhtarani B., Amini M. H. y Banihashemi H. R. Study on removal of cadmium from wastewater by emulsion liquid membrane. *Journal of Hazardous Materials* 165, 630-636 (2009).

**MultiSimplex**, version 2.0.4, MultiSimplex AB (publ), Karlskrona, Sweden (1998).

**Murphy** T. B., Rose N. J., Schomaker V. y Aruffo A. A. Synthesis of iron(III) aroyl hydrazones containing pyridoxal and salicylaldehyde. The crystal and molecular structure of two iron(III)-pyridoxal isonicotinyl hydrazone complexes. *Inorganica Chimica Acta* 108, 183 (1985).

**Muthuraman** G., Teng T. T., Leh C. P. y Norli I. Use of bulk liquid membrane for the removal of chromium(VI) from aqueous acidic solution with tri-n-butyl phosphate as a carrier. *Desalination* 249, 884-890 (2009).

**Ndungù** K., Djane N. K. y Mathiasson L. Determination of trace metal ions by ion-pair chromatography after enrichment using supported liquid membrane. *Journal of Chromatography A* 826, 103-108 (1998).

- Ndungù K.**, Hurst M. P. y Bruland K. W. Comparison of copper speciation in estuarine water measured using analytical voltammetry and supported liquid membrane techniques. *Environmental Science and Technology* 39, 3166-3175 (2005).
- Nédélec F.**, Statham P. J. y Mowlem M. Reprint of "Processes influencing dissolved iron distributions below the surface at the Atlantic Ocean-Celtic Sea shelf edge". *Marine Chemistry* 106, 365-379 (2007).
- Nezhadali A.** y Rabani N. Competitive bulk liquid membrane transport of Co(II), Ni(II), Zn(II), Cd(II), Ag(I), Cu(II) and Mn(II), cations using 2,2'-dithio(bis)benzothiazole as carrier. *Chinese Chemical Letters* 22, 88-92 (2011).
- Nezhadali A.**, Hakimi M. y Heydari M. Competitive Bulk Liquid Membrane Transport and Extraction of Cu(II), Ni(II), Zn(II) and Mn(II) Cations Using 5-Methyle-4[thiophen-2-yl-methylen-amino]-3-thio-oxo-1, 2, 4-triazol-5-one and Phthalic Dicarboxaldehyde. *E-Journal of Chemistry* 5, 52-57 (2008).
- Nielsdóttir M. C.**, Bibby T. S., Moore C. M., Hinz D. J., Sanders R., Whitehouse M., Korb R. y Achterberg E. P. Seasonal and spatial dynamics of iron availability in the Scotia Sea. *Marine Chemistry* 130-131, 62-72 (2012).
- Nosrati S.**, Jayakumar N. S. y Hashim M. A. Extraction performance of chromium (VI) with emulsion liquid membrane by Cyanex 923 as carrier using response surface methodology. *Desalination* 266, 286-290 (2011).
- Nowier H. G.**, El-said N. y Aly H. F. Carrier-mediate transport of toxic elements through liquid membranes. Transport of Cd(II) from high salinity chloride medium through supported liquid membrane containing TBP/cyclohexane. *Journal of Membrane Science* 177, 41-47 (2000).
- Nunes S. P.** y Peinemann K. V. Membrane Technology: in the Chemical Industry. Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 1st edition (2001).
- Oleinikova M.**, Gonzalez C., Valiente M. y Munoz M. Selective transport of zinc through activated composite membranes containing di(2-ethylhexyl)dithiophosphoric acid as a carrier. *Polyhedron* 18, 3353-3359 (1999).
- Oleinikova M.**, Munoz M., Benavente J. y Valiente M. Evaluation of structural properties of novel activated composite membranes containing organophosphorus extractants as carriers. *Langmuir* 16, 716-721 (2000).
- Palmarsdóttir S.**, Mathiasson L., Jönsson J. A. y Edholm L. E. Determination of basic drug, bambuterol, in human plasma by capillary electrophoresis using double stack for large volume injection and supported liquid membranes for sample pretreatment. *Journal of Chromatography B* 688, 127-134 (1997).

**Panayotova T.**, Dimova-Todorova M. y Dobrevsky I. Purification and Reuse of Heavy Metals Containing Wastewaters from Electroplating Plants. *Desalination* 206, 135-140 (2007).

**Pandeya S. N.**, Sriram D., Nath G. y DeClercq E. Synthesis, antibacterial, antifungal and anti-HIV activities of Schiff and Mannich bases derived from isatin derivatives and N-[4-(49-chlorophenyl)thiazol-2-yl] thiosemicarbazide. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 9, 25-31 (1999).

**Paris R.**, Desboeufs K. V. y Journet E. Variability of dust iron solubility in atmospheric waters: Investigation of the role of oxalate organic complexation. *Atmospheric Environment* 45, 6510-6517 (2011).

**Parthasarathy N.** y Buffle J. Capabilities of supported liquid membranes for metal speciation in natural waters: application to copper speciation. *Analytica Chimica Acta* 284, 649-659 (1994).

**Parthasarathy N.**, Buffle J., Gassama N. y Cuenod F. Speciation of trace metals in waters: direct selective separation and preconcentration of free metal ion by supported liquid membrane. *Chemia Analytyczna* 44, 455-470 (1999).

**Parthasarathy N.**, Pelletier M. y Buffle J. Hollow fiber based supported liquid membrana: a novel analytical system for trace metals análisis. *Analytica Chimica Acta* 350, 183-195 (1997).

**Parthasarathy N.**, Pelletier M. y Buffle J. Permeation liquid membrane for trace metal speciation in natural waters. Transport of liposoluble Cu(II) complexes. *Journal of Chromatography A* 1025, 33-40 (2004).

**Parthasarathy N.**, Pelletier M. y Buffle J. The use of Permeation Liquid Membrane (PLM) as an analytical tool for trace metal speciation studies in natural waters. *Journal de Physique IV: Proceedings*, 107 (XIIIth International Conference on Heavy Metals in the Environment 2, 1021-1024 (2003).

**Parthasarathy N.**, Pelletier M., Tercier-Waeber M. L. y Buffle J. On-line coupling of flow through voltammetric microcell to hollow fiber permeation liquid membrane device for subnanomolar trace metal speciation measurements. *Electroanalysis* 13, 1305-1314 (2001).

**Pei L.**, Wang L. y Yu G. Study on a novel flat renewal supported liquid membrane with D2EHPA and hydrogen nitrate for neodymium extraction. *Journal of Rare Earths* 30, 63-68 (2012).

**Peng J. F.**, Liu R., Liu J. F., He B., Hu X. L. y Jiang G. B. Ultrasensitive determination of cadmium in seawater by hollow fiber supported liquid membrane extraction coupled with graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B* 62, 499-503 (2007).

**Ponka P.**, Borova J., Neuwirt J. y Fuchs O. Mobilization of iron from reticulocytes. Identificación of pyridoxal isonicotinoyl hydrazone as a new chelating agent. *FEBS Letters* 97, 317-321 (1979a).

- Ponka P.**, Borova J., Neuwirt J., Fuchs O. y Necas E. A study of intracellular iron metabolism using pyridoxal isonicotinoyl hydrazone and other synthetic chelating agents. *Biochimica et Biophysica Acta* 586, 278-297 (1979b)
- Pons C.**, Forteza R. y Cerdà V. Optical fibre reflectance sensor for the determination and speciation analysis of iron in fresh and seawater samples coupled to a multisyringe flow injection system. *Analytica Chimica Acta* 528, 197-203 (2005).
- Powell R. T.**, King D. W. y Landing W. M. Iron distribution in surface waters of the south Atlantic. *Marine Chemistry* 50, 13-20 (1995).
- Prego R.** y Cobelo-García A. Cadmium, copper and lead contamination of the seawater column on the *Prestige* shipwreck (NE Atlantic Ocean). *Analytica Chimica Acta* 524, 23-26 (2004).
- Price N. M.**, Andersen L. F. y Morel F. M. M. Iron and nitrogen nutrition of equatorial Pacific plankton. *Deep-Sea Research* 38, 1361-1378 (1991).
- Ragavendran J. V.**, Sriram D., Patel S. K., Reddy I. V., Bharathwajan N., Stables J. y Yogeewari P. Design and synthesis of anticonvulsants from a combined phathali mide-GABA-anilide and hydrazone pharmacophore. *European Journal of Medicinal Chemistry* 42, 146-151 (2007).
- Rajasimman M.** y Karthic P. Application of response surface methodology for the extraction of chromium (VI) by emulsion liquid membrane. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 41, 105-110 (2010).
- Rajasimman M.** y Sangeetha R. Optimization of process parameters for the extraction of chromium (VI) by emulsion liquid membrane using response surface methodology. *Journal of Hazardous Materials* 168, 291-297 (2009).
- Ramkumar J.**, Nayak S. K. y Maiti B. Transport of uranyl ion across a bulk liquid membrane using calixarene and synergistic agents as carriers. *Journal of Membrane Science* 196, 203-210 (2002).
- Rathore N. S.**, Sonawane J. V., Gupta S. K., Pabby A. K., Venugopalan A. K., Changran R. D. y Dey P. K. Separation of uranium and plutonium from aqueous acidic wastes using a hollow fiber supported liquid membrane. *Separation Science and Technology* 39, 295-319 (2004).
- Rathore N. S.**, Sonawane J. V., Kumar A., Venugopalan A. K., Singh R. K., Bajpai D. D. y Shukla J. P. Hollow fiber supported liquid membrane: a novel technique for separation and recovery of plutonium from aqueous acidic wastes. *Journal of Membrane Science* 189, 119-128 (2001).

**Reddy T. R., Ramkumar J., Chandramouleeswaran S. y Reddy A. V. R.** Selective transport of copper across a bulk liquid membrane using 8-hydroxy quinoline as carrier. *Journal of Membrane Science* 351, 11-15 (2010).

**Rehman S. U., Akhtar G., Chaudry M. A., Ali K. y Ullah N.** Transport of Ag<sup>+</sup> through tri-n-dodecylamine supported liquid membranes. *Journal of Membrane Science* 389, 287-293 (2012).

**Reis M. T. A. y Carvalho J. M. R.** Modelling of zinc extraction from sulphate solutions with bis(2-ethylhexyl)thiophosphoric acid by emulsion liquid membranes. *Journal of Membrane Science* 237, 97-107 (2004).

**Reis M. T. A. y Carvalho J. M. R.** Recovery of zinc from an industrial effluent by emulsion liquid membranes. *Journal of Membrane Science* 84, 201-211 (1993).

**Richardson D. R. y Ponka P.** Pyridoxal isonicotinoyl hydrazone and its analogues: potential orally effective iron-chelating agents for the treatment of iron overload disease. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 131, 306-315 (1998).

**Riso R. D., Pernet-Coudrier B., Waeles M. y Le Corre P.** Dissolved iron analysis in estuarine and coastal waters by using a modified adsorptive stripping chronopotentiometric (SCP) method. *Analytica Chimica Acta* 598, 235-241 (2007).

**Riso R. D., Waeles M., Pernet-Coudrier B. y Le Corre P.** Determination of dissolved iron(III) in estuarine and coastal waters by adsorptive stripping chronopotentiometry (SCP). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 385, 76-82 (2006).

**Rivaro P., Abelloschi M. L., Grotti M., Ianni C., Magi E., Margiotta F., Massolo S. y Saggiomo V.** Combined effects of hydrographic structure and iron and copper availability on the phytoplankton growth in Terra Nova Bay Polynya (Ross Sea, Antarctica). *Deep-Sea Research I* 62, 97-110 (2012).

**Rodríguez-Argüelles M. C., Mosquera-Vázquez S., Tourón-Touceda P., Sanmartín-Matalobos J., García-Deibe A. M., Belicchi-Ferrari M., Pelosi G., Pelizzi C. y Zani F.** Complexes of 2-thiophenecarbonyl and isonicotinoyl hydrazones of 3-(N-methyl)isatin. A study of their antimicrobial activity. *Journal of Inorganic Biochemistry* 101, 138-147 (2007).

**Romero R. y Jönsson J. Á.** Determination of free copper concentrations in natural waters by using supported liquid membrane extraction under equilibrium conditions. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 381, 1452-1459 (2005).

**Rounaghi** G. H., Ghaemi A. y Chamsaz M. Separation study of some heavy metal cations through a bulk liquid membrane containing 1,13-bis(8-quinolyl)-1,4,7,10,13-pentaoxatridecane. *Arabian Journal of Chemistry* (2011). <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.06.013>

**Rovira** M. y Sastre A. M. Modelling of mass transfer in facilitated supported liquid-membrane transport of palladium(II) using di-(2-ethylhexyl) thiophosphoric acid. *Journal of Membrane Science* 149, 241-250 (1998).

**Rue** E. L. y Bruland K. W. Complexation of Fe(III) by natural organic ligands in the Central North Pacific as determined by a new competitive ligand equilibration/ adsorptive cathodic stripping voltammetric method. *Marine Chemistry* 50, 117-138 (1995).

**Rydberg** J., Cox M., Musikas C. y Choppin G. R. *Solvent Extraction Principles and Practice*, 2<sup>a</sup> Ed., Marcel Dekker, New York (2004).

**Sabry** R., Hafez A., Khedr M. y El-Hassanin A. Removal of lead by an emulsion liquid membrane Part I. *Desalination* 212, 165-175 (2007).

**Saçmacı** Ş. y Kartal Ş. Selective extraction, separation and speciation of iron in different samples using 4-acetyl-5-methyl-1-phenyl-1H-pyrazole-3-carboxylic acid. *Analytica Chimica Acta*, 623, 46-52 (2008).

**Safavi** A. y Shams E. Selective and efficient transport of Hg(II) through bulk liquid membrane using methyl red as carrier. *Journal of Membrane Science* 144, 37-43 (1998).

**Safavi** A. y Shams E. Selective transport of silver ions through bulk liquid membrane using Victoria blue as carrier. *Talanta* 48, 1167-1172 (1999).

**Safavi** A., Peiravian F. y Shams E. A selective uphill transport of copper through bulk liquid membrane using Janus Green as an anion carrier. *Separation and Purification Technology* 26, 221-226 (2002).

**Salaün** P., Bujard F., Berdondini L., Koudelka-Hep M. y Buffle J. Integrated microanalytical system coupling permeation liquid membrane and voltammetry for trace metal speciation. Technical description and optimization. *Electroanalysis* 16, 811-820 (2004).

**Salazar-Alvarez** G., Bautista-Flores A. N., de San Miguel E. R., Muhammed M. y de Gyves J. Transport characterisation of a PIM system used for the extraction of Pb(II) using D2EHPA as carrier. *Journal of Membrane Science* 250, 247-257 (2005).

**Samaniego** H., San Román M. F. y Ortiz I. Kinetics of Zinc Recovery from Spent Pickling Solutions. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 46, 907-912 (2007).



**San Román M. F.**, Bringas E., Ibañez R. y Ortiz I. Liquid membrane technology: fundamentals and review of its applications. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 85, 2-10 (2010).

**Sastre A.**, Madi A., Cortina J. L. y Miralles N. Modelling of mass transfer in facilitated supported liquid membrane transport of gold(III) using phospholene derivatives as carriers. *Journal of Membrane Science* 139, 57-65 (1998).

**Savini L.**, Chiasserini L., Travagli V., Pellerano C., Novellino E., Cosentino S. y Pisano M. B. New  $\alpha$ -(N)-heterocyclic hydrazones: evaluation of anticancer, anti-HIV and antimicrobial activity. *European Journal of Medicinal Chemistry* 39, 113-122 (2004).

**Sazanovich I. V.**, Balakumar A., Muthukumaran K., Hidin E., Kirmaier C., Diers J. R., Lindsey J. S., Bocian D. F. y Holten D. Excited-State Energy-Transfer Dynamics of Self-Assembled Imine-Linked Porphyrin Dyads. *Inorganic Chemistry* 42, 6616-6628 (2003).

**Schlosser S.**, COMETT, Advanced Course of Membrane Technology, Module 4, Arcavacata di Rende (Italy) (1993).

**Segura R.**, Toral M. I. y Arancibia V. Determination of iron in water samples by adsorptive stripping voltammetry with a bismuth film electrode in the presence of 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol. *Talanta* 75, 973-977 (2008).

**Sengupta B.**, Sengupta R. y Subrahmanyam N. Copper extraction into emulsion liquid membranes using LIX 984N-C. *Hydrometallurgy* 81, 67-73 (2006).

**Shaidan N. H.**, Eldemerdash U. y Awad S. Removal of Ni(II) ions from aqueous solutions using fixed-bed ion exchange column technique. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 43, 40-45 (2012).

**Shamsipur M.**, Davarkhah R. y Khanchi A. R. Facilitated transport of uranium(VI) across a bulk liquid membrane containing thenoyltrifluoroacetone in the presence of crown ethers as synergistic agents. *Separation and Purification Technology* 71, 63-69 (2010).

**Shamsipur M.**, Mashhadizadeh M. H. y Azimi G. Highly selective and efficient transport of mercury(II) ions across a bulk liquid membrane containing tetrathia-12-crown-4 as a specific ion carrier. *Separation and Purification Technology* 27, 155-161 (2002).

**Shen Y.**, Mathiasson L. y Jönsson J. A. Automated capillary GC determination of local anesthetics in plasma samples with supported liquid membranes for sample preparation. *Journal of Microcolumn Separations* 10, 107-113 (1998).

- Shukla J. P.**, Sonawane J. V. y Kumar A. Amine-facilitated up-hill transport of plutonium(IV) cations across an immobilized liquid membrane: Recent advances in membrane-based separation science and technology. *Indian journal of chemical technology* 3, 145-148 (1996).
- Shyam K.**, Cosby L. A. y Sartorelli A. C. Synthesis and evaluation of N,N'-bis(arylsulfonyl)hydrazides as antineoplastic agents. *Journal of Medicinal Chemistry* 28, 525-527 (1985).
- Silva J. E.**, Paiva A. P., Soares D., Labrincha A. y Castro F. Solvent Extraction Applied to the Recovery of Heavy Metals from Galvanic Sludge. *Journal of Hazardous Materials B* 120, 113-118 (2005).
- Silva M.** y Valcárcel M. Spectrophotometric determination of indium(III) traces with diphenyl bis(salicyloyl)hydrazone and dipyriddyglyoxal bis-salicyloylhydrazone. *Annales de Chimie* 76, 129-134 (1980b).
- Silva M.** y Valcárcel M. Spectrophotometric determination of microgram amounts of calcium in waters and foods using diphenylglyoxal bis-(2-hydroxybenzoyl hydrazone). *Analyst* 105, 193-202 (1980a).
- Singh B.**, Narang K. K. y Srivastava R. Studies of complexes of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Cd(II) with Acetophenone and 4-hydroxyacetophenone,4-aminobenzoyl hydrazones. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry* 33, 1025-1036 (2003).
- Singh R. B.**, Jain P. y Singh R. P. Hydrazones as analytical reagents: a review. *Talanta* 29, 77-84 (1982).
- Singh R.**, Mehta R. y Kumar V. Simultaneous removal of copper, nickel and zinc metal ions using bulk liquid membrane system. *Desalination* 272, 170-173 (2011).
- Sivaramaiah S.**, Raveendra R. P., Krishna R. V. y Sreenivasulu R. T. Direct and derivative spectrophotometric determination of thorium with 2,4-dihydroxybenzaldehyde isonicotinoylhydrazone. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 245, 367-370 (2000).
- Skoog D. A.**, West D. M., Holler F. J. y Crouch S. R. Fundamentos de Química Analítica (8.a). Editorial Thomson, ISBN(13) (2005).
- Slaveykova V. I.**, Parthasarathy N., Buffle J. y Wilkinson K. J. Permeation liquid membrane as a tool for monitoring bioavailable Pb in natural waters. *Science of the Total Environment* 328, 55-68 (2004).
- Soko L.**, Chimuka L., Cukrowska E. y Pole S. Extraction and preconcentration of manganese (II) from biological fluids (water, milk and blood serum) using supported liquid membrane and membrane probe methods. *Analytica Chimica Acta* 485, 25-35 (2003).

**Sreeja P. B.** y Prathapachandra-Kurup M. R. Synthesis and spectral characterization of ternary complexes of oxovanadium(IV) containing some acid hydrazones and 2,2'-bipyridine. *Spectrochimica Acta Part A* 61, 331-336 (2005).

**Stankovic V.**, Outarra L., Zonnevillje F. y Comninellis Ch. Solvent extraction of silver from nitric acid solutions by calix[4]arene amide derivatives. *Separation and Purification Technology* 61, 366-374 (2008).

**Stepniak L.**, Kegpa U. y Stanczyk-Mazanek E. The research on the possibility of ultrasound field application in iron removal of water. *Desalination* 223, 180-186 (2008).

**Stumm W.** y Morgan J. J. Aquatic Chemistry: Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters. John Wiley & Sons, Inc., 3ª edición, New York (1996).

**Suhas Carrot P. J. M.** y Ribeiro Carrot M. M. L. Lignin-from Natural Adsorbent to Activated Carbon: A Review. *Bioresource Technology* 98, 2301-2312. (2007).

**Sullivan P. J.**, Agardy F. J. y Clark J. J. J. Average Elemental Abundance in the Earth's Crust. In *The Environmental Science of Drin Water*. Butterworth-Heinemann, 1ª ed. 231-232 (2005).

**Surucu A.**, Eyupoglu V. y Tutkun O. Selective separation of cobalt and nickel by flat sheet supported liquid membrane using Alamine 300 as carrier. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 18, 629-634 (2012).

**Suvarapu L. N.**, Adi Narayana R. S., Subbarao Y., Hwang I. y Varada R. A. A simple and highly sensitive spectrophotometric determination of Cr(VI) in food samples by using 3,4-dihydroxy benzaldehyde isonicotinoyl hydrazone (3,4-DHBINH). *Food Chemistry* 121, 1269-1273 (2010).

**Suvarapu L. N.**, Janardhan R. K., Adi Narayana R. S, Sarala Y. y Varada R. A. A highly sensitive spectrophotometric determination of micro amounts of vanadium(V) in environmental and alloy samples by using 3,4-dihydroxybenzaldehydeisonicotinoylhydrazone. *Environmental Monitoring and Assessment* 144, 341-349 (2008).

**Suvarapu L. N.**, Ramachandraiah C., Varada R. A., Lee D. y Shim J. Determination of traces of Pd(II) in spiked samples by using 3,4-dihydroxy -benzaldehyde isonicotinoyl hydrazone as a chelating agent with UV visible spectro- photometer. *E- Journal of Chemistry* 8, 217-225 (2011).

**Suvarapu L. N.**, Seo Y. K., Baek S. O. y Ammireddy V. R. Review on Analytical and Biological applications of Hydrazones and their Metal Complexes. *E-Journal of Chemistry* 9, 1288-1304 (2012).

- Sznejer G.** y Marmur A. Cadmium removal from aqueous solutions by an emulsion liquid membrane. The effect of resistance to mass transfer at the outer oil-water interface. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 151, 77-83 (1999).
- Szpakowska M.** y Nagy O. B. Influence of physico-chemical control and of membrane composition on the coupled transport of copper(II) ions through bulk liquid membranes. *Journal of Membrane Science* 168, 183-186 (2000).
- Tabrizi A. B.** Development of a dispersive liquid-liquid microextraction method for iron speciation and determination in different water samples. *Journal of Hazardous Materials* 183, 688-693 (2010).
- Tandlich R.** Application of Liquid Membranes in Wastewater Treatment, p. 357-400. In: Kislik V. S. Liquid Membranes. Principles and Applications in Chemical Separations and Wastewater Treatment. 1<sup>st</sup> ed. Elsevier B.V (2010).
- Taylor S. R.** Abundance of chemical elements in the continental crust: a new table. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 28, 1273-1285 (1964).
- Themelis D. G.,** Tzanavaras P. D., Kika F. S. y Sofoniou M. C. Flow-injection manifold for the simultaneous spectrophotometric determination of Fe(II) and Fe(III) using 2,2'-dipyridyl-2-pyridylhydrazone and a single-line double injection approach. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 371, 364-368 (2001).
- Thuróczy C. E.,** Gerringa L. J. A., Klunder M. B., Laan P. y de Baar H. J. W. Observation of consistent trends in the organic complexation of dissolved iron in the Atlantic sector of the Southern Ocean. *Deep Sea Research Part II* 58, 2695-2706 (2011).
- Tofighy M. A.** y Mohammadi T. Adsorption of divalent heavy metal ions from water using carbon nanotube sheets. *Journal of Hazardous Materials* 185, 140-147 (2011).
- Trtic-Petrovic T.** y Jönsson J. A. Application of SLM extraction for investigation of metal-humic acid bindings. *Desalination* 148, 247-251 (2002).
- Turner D. R.** Whitfield M. y Dickson A. G. The equilibrium speciation of dissolved components in freshwater and sea water at 25 °C and 1 atm pressure. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 45, 855-881 (1981).
- Ussher S. J.,** Milne A., Landing W. M., Attiq-ur-Rehman K., Séguret M. J. M., Holland T., Achterberg E. P., Nabi A. y Worsfold P. J. Investigation of iron(III) reduction and trace metal interferences in the determination of dissolved iron in seawater using flow injection with luminol chemiluminescence detection. *Analytica Chimica Acta* 652, 259-265 (2009).

- VA Application Note No. V-125.** Determination of traces of iron in water (1-nitroso-2-naphthol method).
- Valcárcel M.** y Gómez A. *Técnicas Analíticas de Separación*, Ed. Reverté, S. A., Barcelona (1990).
- Valcárcel M.** y Silva M. *Teoría y práctica de la extracción líquido-líquido*, Ed. Alambra, S. A., Madrid (1984).
- Valenzuela F.,** Araneda C., Vargas F., Basualto C. y Sapag J. Liquid membrane emulsion process for recovering the copper content of a mine drainage. *Chemical engineering research and design* 87, 102-108 (2009).
- Valenzuela F.,** Cabrera J., Basualto C. y Sapag-Hagar J. Kinetics of copper removal from acidic mine drainage by a liquid emulsion membrane. *Minerals Engineering* 18, 1224-1232 (2005b).
- Valenzuela F.,** Fonseca C., Basualto C., Correa O., Tapia C. y Sapag J. Removal of copper ions from a waste mine water by a liquid emulsion membrane method. *Minerals Engineering* 18, 33-40 (2005a).
- Van Loon G. W.** y Duffy S. J. *Environmental Chemistry, a global perspective*. Oxford University Press, New York (2011).
- Vanloot P.,** Coulomb B., Brach-Papa C., Sergent M. y Boudenne J. L. Multivariate optimization of solid-phase extraction applied to iron determination in finished waters. *Chemosphere* 69, 1351-1360 (2007).
- Varghese A.** y Khadar A. M. A. Highly selective derivative spectrophotometric determination of Tin(II) in alloy samples in the presence of Cetylpyridinium chloride. *Acta Chimica Slovenica* 53, 374-380 (2006).
- Vauthier E.,** Maurel F. Couesnon T. y Cossé-Barbi A. IR study of complex between salicylalbenzoylhydrazone (SBH) and iron III: Normal mode assignment assisted by quantum mechanical calculation. *Spectroscopy Letters* 32, 505-517 (1999).
- Veguería S. F. J.,** Godoy J. M., de Campos R. C. y Gonçalves R. A. Trace element determination in seawater by ICP-MS using online, offline and bath procedures of preconcentration and matrix elimination. *Microchemical Journal* (2012). doi: Press10.1016/j.microc.2012.05.032
- Venkateswaran P.** y Palanivelu K. Recovery of phenol from aqueous solution by supported liquid membrane using vegetable oils as liquid membrane. *The Journal of Hazardous Materials* 131, 146-152 (2006).
- Vernekar P. V.,** Jagdale Y. D., Patwardhan A. W., Patwardhan A. V., Ansari S. A., Mohapatra P. K. y Manchanda V. K. Transport of cobalt(II) through a hollow fiber supported liquid membrane containing di-(2-ethylhexyl) phosphoric acid (D2EHPA) as the carrier. *Chemical Engineering Research and Design* (2012). <http://dx.doi.org/10.1016/j.cherd.2012.06.01>

- Vinodh R.**, Padmavathi R. y Sangeetha D. Separation of heavy metals from water samples using anion exchange polymers by adsorption process. *Desalination* 267, 267-276 (2011).
- Viollier E.**, Inglett P. W., Hunter K., Roychoudhury A. N. y Van Cappellen P. The ferrozine method revisited: Fe(II)/Fe(III) determination in natural waters. *Applied Geochemistry* 15, 785-790 (2000).
- Walcourt A.**, Loyevsky M., Lovejoy D. B., Gofdeuk V. R. y Richardson D. R. Novel aroyl hydrazone and thiosemicarbazone iron chelators with anti-malarial activity against chloroquine-resistant and -sensitive parasites. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 36, 401-407 (2004).
- Wang B. D.**, Yang Z. Y., Crewdson P. y Wang D. Q. Synthesis, crystal structure and DNA-binding studies of the Ln(III) complex with 6-hydroxychromone-3-carbaldehyde benzoyl hydrazone. *Journal of Inorganic Biochemistry* 101, 1492-1504 (2007).
- Wang J.**, Chen S. y Xia T. Environmental risk assessment of heavy metals in Bohai Sea, North China. *Procedia Environmental Sciences* 2, 1632-1642 (2010).
- Weeks D. A.** y Bruland K. W. Improved method for shipboard determination of iron in seawater by flow injection analysis. *Analytica Chimica Acta* 453, 21-32 (2002).
- Wells M. L.** y Bruland K. W. An improved method for rapid preconcentration and determination of bioactive trace metals in seawater using solid phase extraction and high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry. *Marine Chemistry* 63, 145-153 (1998).
- WHO** (World Health Organization), Guidelines drin water quality, Geneve (1993).
- Wojciechowski K.**, Kucharek M. y Buffle J. Mechanism of Cu(II) transport through permeation liquid membranes using azacrown ether and fatty acid as carrier. *Journal of membrane science* 314, 152-162 (2008).
- Wright J. B.**, Nilsen D. N., Hundley G. y Galvan G. J. Field test of liquid emulsion membrane technique for copper recovery from mine solutions. *Minerals Engineering* 8, 549-556 (1995).
- Wu J. F.** y Boyle E. A. Determination of iron in seawater by high-resolution isotope dilution by high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometry after Mg(OH)<sub>2</sub> coprecipitation. *Analytica Chimica Acta* 367, 183-191 (1998).
- Xia Y.**, Fan C. D., Zhao B. X., Zhao J., Shin D. S. y Miao J. Y. Synthesis and structure-activity relationships of novel 1-arylmethyl-3-aryl-1H-pyrazole-5-carbohydrazide hydrazone derivatives as potential agents against A549 lung cancer cells. *European Journal of Medicinal Chemistry* 43, 2347-2353 (2008).

**Yaftian** M. R., Zamani A. A. y Rostamnia S. Thorium (IV) ion-selective transport through a bulk liquid membrane containing 2-thenoyltrifluoroacetone as extractant-carrier. *Separation and Purification Technology* 49, 71-75 (2006).

**Yamini** Y., Chaloosi M. y Ebrahimzadeh H. Highly selective and efficient transport of bismuth in bulk liquid membranes containing Cyanex 301. *Separation and Purification Technology* 28, 43-51 (2002).

**Yi** Z., Zhuang G. S., Brown P. R. y Duce R. A. Determination of Fe(II) in the atmosphere and ocean by high performance liquid chromatography. *Analytical Chemistry* 64, 2826-2830 (1992).

**Yilmaz** A., Kaya A., Alpoguz H. K., Ersoz M. y Yilmaz M. Kinetic analysis of chromium(VI) ions transport through a bulk liquid membrane containing p-tert-butylcalix[4]arene dioxaoctylamide derivative. *Separation and Purification Technology* 59, 1-8 (2008).

**Yuan** Y., Cao Z., Fu N., Wang J., Weng L., de Carvalho A. B. y Peppe C. Preparation, characterization, electrochemical studies and crystal structure determination of salicylaldehyde- aroylhydrazone, ferrocenyl- aroylhydrazone and salicylaldehyde-ferrocenoylhydrazone complexes of indium. *Journal of Organometallic Chemistry* 637-639, 631-641 (2001).

**Zafriou** O. C. y True M. B. Interconversion of iron (III) hydroxy complexes in sea water. *Marine Chemistry* 8, 281-288 (1980).

**Zhang** B. y Gozzelino G. Facilitated transport of Fe(III) and Cu(II) ions through supporte liquid membranes. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 215, 67-76 (2003).

**Zhang** B., Gozzelino G. y Dai Y. A non-steady state model for the transport of iron(III) across n-decanol supported liquid membrane facilitated by D2EHPA. *Journal of Membrane Science* 210, 103-111 (2002).

**Zhang** L., Zhao Y. -H. y Bai R. Development of a multifunctional membrane for chromatic warning and enhanced adsorptive removal of heavy metal ions: Application to cadmium. *Journal of Membrane Science* 379, 69-79 (2011).

**Zhang** W., Cui C. y Hao Z. Transport Study of Cu(II) Through Hollow Fiber Supported Liquid Membrane. *Chinese Journal of Chemical Engineering* 18, 48-54 (2010).

**Zhang** W., Liu J., Ren Z., Wang S., Du C. y Ma J. Kinetic study of chromium(VI) facilitated transport through a bulk liquid membrane using tri-n-butyl phosphate as carrier. *Chemical Engineering Journal* 150, 83-89 (2009).

**Zhao** L., Fei D., Dang Y., Zhou X. y Xiao J. Studies on the extraction of chromium(III) by emulsion liquid membrane. *Journal of Hazardous Materials* 178, 130-135 (2010).

**Zidan** A. S. A. Synthesis and investigation of mixed-ligand transition metal complexes of alkyl dithiocarbonate and benzoylhydrazine or benzoylhydrazone derivatives. *Synthesis and reactivity in inorganic and metal-organic chemistry* 34, 743-762 (2004).





*CAPÍTULO III*

---

*TÉCNICAS VOLTAMPEROMÉTRICAS DE  
REDISOLUCIÓN*

---



## ***CAPÍTULO III. TÉCNICAS VOLTAMPEROMÉTRICAS DE REDISOLUCIÓN***

---

### **III.1. INTRODUCCIÓN**

Los métodos electroanalíticos constituyen un grupo de técnicas muy adecuadas para la determinación de iones de metales pesados, sobre todo en muestras de aguas naturales. De todas ellas, la voltamperometría ha sido muy utilizada como técnica auxiliar en química inorgánica, química física y en bioquímica, no con fines analíticos sino para la realización de estudios básicos de procesos de oxidación y reducción en diferentes medios, procesos de adsorción sobre superficies y estudios de mecanismos de transferencia de electrones en superficies de electrodos químicamente modificadas.

A mediados de los años sesenta, se desarrollaron diversas modificaciones importantes de las técnicas voltamperométricas clásicas, las técnicas voltamperométricas de redisolución, que constituían una herramienta importante en química analítica, aumentando significativamente su sensibilidad y selectividad con el interés de aplicarlas en la determinación de multitud de especies, en particular de aquellas de interés farmacéutico, ambiental y biológico. Además, esta técnica electroquímica puede ser acoplada a un amplio número de técnicas instrumentales.

En el desarrollo de una gran parte de la presente Tesis Doctoral se han empleado algunas técnicas voltamperométricas de redisolución, destacando especialmente las modalidades de voltamperometría de redisolución anódica (ASV) y catódica adsortiva (AdCSV). Estas técnicas presentan una serie de ventajas que las hacen muy útiles en el análisis de ciertos metales pesados a nivel de trazas. Entre ellas, cabe mencionar la rapidez de los análisis, sus excelentes niveles de sensibilidad, bajo coste instrumental y su capacidad para el análisis multielemental y la realización de estudios de especiación.

### III.2. PRINCIPIOS GENERALES

La voltamperometría engloba un grupo de métodos electroanalíticos en los que la información sobre el analito se obtiene a partir de medidas de la intensidad de corriente que fluye en una celda de electrólisis, tras la aplicación de una determinada diferencia de potencial variable con el tiempo a un sistema de electrodos adecuado.

Históricamente la voltamperometría se desarrolló a partir de la polarografía, que fue descubierta por el químico checoslovaco Jaroslav Heyrovsky a principios de 1920 [Heyrovsky, 1922], cuando estudiaba las propiedades que poseía el electrodo de gotas de mercurio. Actualmente, la polarografía es sólo una rama de la voltamperometría, a pesar de que ésta se desarrolló a partir de aquélla.

En polarografía y voltamperometría la intensidad de corriente se mide como una función del potencial aplicado. La polarografía se distingue de otros tipos importantes de voltamperometría por emplear un electrodo de mercurio cuya superficie se renueva en el transcurso de la medida.

Durante los años 60, la polarografía de corriente continua se convirtió en una técnica decadente en los laboratorios analíticos debido, fundamentalmente, a la baja velocidad del método, unos límites de detección insuficientes, al uso de aparatos inadecuados y a una presentación de los datos obtenidos poco habitual. Estas limitaciones se superaron con los métodos de impulsos, basados en la superposición de pulsos de corriente sobre la rampa de corriente continua de forma que la intensidad

de corriente se mide en los momentos en que la diferencia entre las corrientes faradaica y capacitiva es grande.

Así, en los métodos electroanalíticos voltamperométricos, la mínima corriente faradaica medible suele estar limitada por la magnitud de la corriente de carga de la doble capa iónica. Esta doble capa iónica se genera en la interfase electrodo-disolución al introducirse un electrodo en una disolución iónica, generando fenómenos de carga y descarga, que se traducen en una corriente capacitiva, que es una de las componentes de la corriente de fondo causante de la disminución de la sensibilidad en las técnicas electroanalíticas clásicas.

La introducción de diferentes formas de imponer el potencial a los electrodos, muy en particular, las denominadas técnicas de impulsos (o pulsos), permiten minimizar los efectos no deseados de los fenómenos capacitivos.

Las técnicas voltamperométricas de redisolución, conocidas por su elevada sensibilidad, son una de las herramientas más potentes que ofrece la química electroanalítica para el análisis de trazas [Pingarrón y Sánchez, 2003]. Estas técnicas están basadas en una primera etapa de preconcentración del analito disuelto en una disolución de volumen considerable sobre la superficie de un electrodo, el cual posee un volumen considerablemente menor, y posteriormente su redisolución desde ese electrodo mediante el empleo de una técnica voltamperométrica. Generalmente, la preconcentración tiene lugar como consecuencia de la capacidad de asociación entre las especies químicas en disolución y el electrodo, mediante procesos electroquímicos y/o físicos.

La voltamperometría de redisolución es especialmente adecuada para el análisis de trazas, consiguiéndose límites de detección de hasta  $10^{-10}$ - $10^{-11}$  mol/L [Pingarrón y Sánchez, 2003], en comparación con el análisis voltamperométrico directo, debido a que en el primer caso, la especie a analizar se preconcentra sobre el electrodo en factores que oscilan entre 100 y más de 1000. Los límites de detección alcanzados con esta técnica son mucho más bajos en comparación con otras técnicas analíticas. En la **Tabla III.1** se muestra un estudio comparativo de los límites de detección para algunos

metales de relevancia medioambiental, entre la voltamperometría de redisolución y otras técnicas analíticas [Pingarrón y Sánchez, 2003].

**Tabla III.1.** Límites de detección (en  $\mu\text{g/L}$ ) para metales a nivel de trazas de interés medioambiental [Pingarrón y Sánchez, 2003]

Metal	FAAS	GFAAS	ICP-MS	ASV
Al	45	0,15	0,16	0,03*
Cd	0,7	0,006	0,03	<0,0002
Co	9	0,15	0,01	<0,005*
Cr	3	0,06	0,01	0,02
Cu	1,5	1,5	0,02	0,002
Fe	7,5	0,06	0,2	<0,04
Hg	300	1,2	0,02	0,005
Mn	1,5	0,03	0,03	40
Ni	6	0,3	0,04	0,001*
Pb	15	0,15	0,01	0,001
Sn	30	0,6	0,06	<0,03*
Ti	75	1,2	0,32	100
V	60	0,6	0,03	100
Zn	1,5	0,03	0,01	0,02

*ASV: Voltamperometría de redisolución anódica; FAAS: espectroscopía de absorción atómica con llama; GFAAS: espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito; ICP-MS: espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo; \* Medido mediante voltamperometría de redisolución adsortiva*

### III.3. MODALIDADES DE VOLTAMPEROMETRÍA DE REDISOLUCIÓN

Las técnicas voltamperométricas de redisolución se pueden clasificar según la naturaleza de los procesos de acumulación y redisolución. La etapa de preconcentración se puede llevar a cabo por vía electrolítica (catódica o anódica) o por

vía adsorptiva y la determinación puede ser catódica o anódica. Además, como en otras técnicas, se puede incluir la derivatización del analito de interés para facilitar su análisis. Los procesos que ocurren en las etapas de medida son:

**a) Etapa de preconcentración o acumulación**

El primer paso es una preconcentración del analito mediante un proceso de oxidación, de reducción o de adsorción, sobre la superficie o en el interior del electrodo de trabajo en una disolución agitada para favorecer el transporte de la especie hacia las proximidades del electrodo. Para ello, se aplica un determinado potencial de preconcentración o deposición, cuyo valor está en función del potencial redox del analito y del procedimiento de deposición del mismo.

**b) Etapa de reposo**

Después del tiempo de acumulación, se para la electrolisis y la agitación durante unos segundos, pero se mantiene constante el potencial inicial. Durante este tiempo se consigue homogeneizar el analito sobre el electrodo y recuperar el régimen de difusión.

**c) Etapa de redisolución**

Durante esta fase se determina el analito depositado mediante un procedimiento voltamperométrico de redisolución, por aplicación de un barrido de potenciales en sentido contrario al inicial, que favorece la redisolución del analito desde el electrodo hacia el seno de la disolución, registrándose en ese momento la intensidad de corriente durante una variación secuencial del potencial. Este barrido puede realizarse por diversas técnicas, aunque las basadas en impulsos son las más generalizadas porque proporcionan mejores resultados. La respuesta electroquímica registrada es proporcional a la concentración de la especie metálica en el electrodo, y por lo tanto, en la muestra **[Kissinger y Heineman, 1996]**.



La interferencia más ampliamente encontrada en el análisis por voltamperometría de redisolución es el oxígeno disuelto que puede interferir bien oxidando al metal amalgamado o bien formando iones hidroxilo que precipitan en las proximidades del electrodo influyendo en la formación de sales poco solubles [Carvajal y col., 1991]. Además, una disolución acuosa saturada de aire presenta dos ondas inconfundibles en el voltamperograma. La primera debida a la reducción del  $O_2$  a  $H_2O_2$ , y la segunda debida a la posterior reducción del  $H_2O_2$  a  $H_2O$ . Por ello, la eliminación del oxígeno es generalmente la primera etapa a realizar en los procedimientos voltamperométricos, burbujeando la disolución con un gas inerte ( $N_2$  o Ar) [Skoog y col., 2001].

Dependiendo del método de acumulación y de la técnica utilizada para la redisolución, se puede clasificar las técnicas voltamperométricas de redisolución en tres modalidades: voltamperometría de redisolución anódica (ASV), de redisolución catódica (CSV) y de redisolución catódica adsortiva (AdCSV).

### III.3.1. Voltamperometría de redisolución anódica (ASV)

La voltamperometría de redisolución anódica (Anodic Stripping Voltammetry, ASV) es la más clásica. En ella la preconcentración se lleva a cabo mediante una electrodeposición catódica (reducción) aplicando un potencial más negativo que el de la especie redox de interés; los iones metálicos son reducidos y se concentran en el electrodo de mercurio que actúa de cátodo. Los metales así electrodepositados se redissuelven aplicando un barrido anódico de potencial hacia valores más positivos que el de deposición. Cuando el barrido de potencial aplicado alcanza el valor característico del potencial estándar de oxidación del metal, se origina la redisolución de la especie en forma oxidada pasando de la forma metálica en la que se encontraba en el electrodo a una forma iónica en disolución, lo que provoca una corriente anódica que se registra en forma de voltamperograma. Para esto, se pueden usar tanto electrodos sólidos como de mercurio.

La voltamperometría de redisolución anódica con electrodo de gota colgante de mercurio (HMDE) es la técnica más usada en análisis de muestras ambientales de agua, sobre todo para el análisis simultáneo de Cd, Pb, Cu y Zn [Van den Berg, 1991], permitiendo analizar el ión en su forma libre. Sin embargo, metales como Fe, Si, Ni, Mo, Ti y Te, no pueden ser determinados por esta técnica debido a su baja solubilidad en mercurio y tampoco pueden ser determinados los metales que son reducidos al estado metálico a potenciales muy negativos, fuera del intervalo de potenciales de trabajo del mercurio.

### **III.3.2. Voltamperometría de redisolución catódica (CSV)**

La segunda modalidad es la voltamperometría de redisolución catódica (Cathodic Stripping Voltammetry, CSV) en la que se utiliza una etapa de oxidación para llevar a cabo la preconcentración del analito en forma de una película insoluble sobre el electrodo. En esta modalidad, el electrodo se comporta como un ánodo en la etapa de deposición y como cátodo en la redisolución. El analito se acumula en su superficie formando una capa de sal poco soluble, compuesta por la sustancia a determinar y los iones procedentes del electrodo de trabajo; esto tiene interés para el análisis tanto de sustancias orgánicas como inorgánicas; posteriormente se aplica al electrodo un barrido de potencial negativo, de forma que se redisuelve la sal originándose una corriente catódica.

La sensibilidad de este método depende de la velocidad de disociación del compuesto insoluble desde el electrodo. Para obtener resultados reproducibles es recomendable utilizar electrolitos de fondo de elevada pureza, electrodo de trabajo de mercurio y eliminar de forma efectiva el oxígeno de la disolución a analizar.

La aplicación de la voltamperometría de redisolución catódica está mucho más limitada siendo aplicable a compuestos orgánicos e inorgánicos (usualmente aniones y complejos de cationes) que formen sales poco solubles con el electrodo.

### III.3.3. Voltamperometría de redisolución catódica adsortiva (AdCSV)

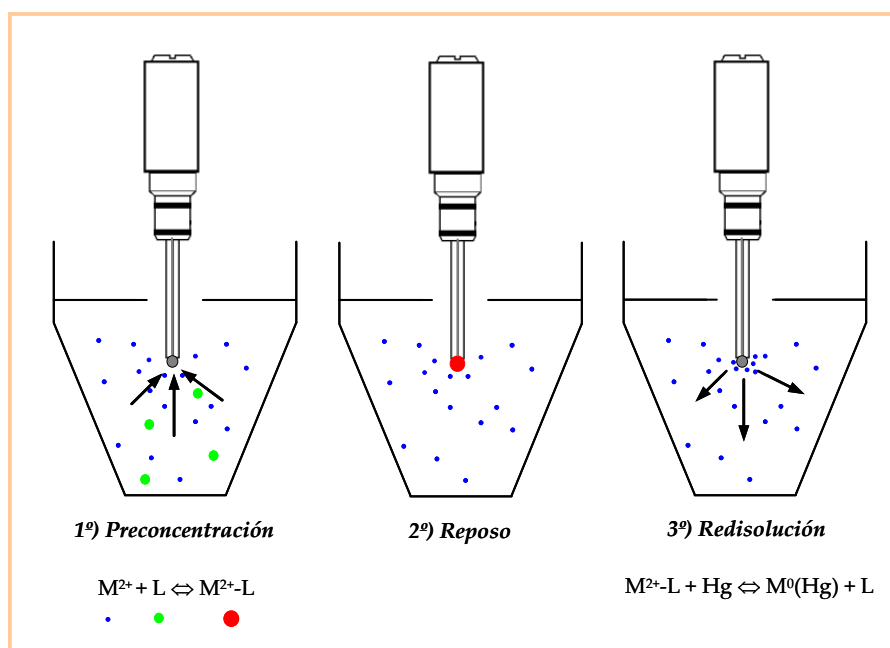
Esta modalidad se diferencia de las anteriores en que no se lleva a cabo una deposición electrolítica, sino que se produce una deposición por adsorción física del analito sobre el electrodo de trabajo, aunque el proceso de adsorción se puede favorecer aplicando al electrodo un determinado potencial.

En este caso, la etapa de deposición está basada en la formación de un complejo metálico entre un ligando normalmente de naturaleza orgánica, que se adiciona a la disolución de muestra conteniendo el metal que se pretende determinar. Estos ligandos deben cumplir dos requisitos principales:

- Tener capacidad para formar complejos con el elemento que se pretende preconcentrar. Estos ligandos suelen caracterizarse por la presencia en su molécula de grupos donadores (O, N, S) y anillos aromáticos.
- El complejo producido debe poder adsorberse sobre la superficie del electrodo de trabajo.

Durante la etapa de deposición, el complejo metálico se acumula mediante adsorción en la superficie del electrodo, aplicando para ello un potencial de deposición, cuyo valor suele ser ligeramente mayor (aproximadamente 0,1 V) que el potencial de redisolución del complejo metal-ligando. La adsorción de los complejos podría explicarse por la existencia de interacciones electrostáticas, así como interacciones de electrones  $\pi$ . Una vez transcurrido el tiempo estimado de adsorción, en la etapa de redisolución se aplica un barrido de potencial hacia valores más negativos. Esto puede provocar la reducción de un grupo oxidante del ligando o bien del propio metal en el complejo adsorbido, generando una corriente cuya intensidad se registra proporcionalmente a la concentración del analito. La determinación de metal puede ser directa o indirecta por la reducción bien del metal o del ligando, respectivamente. Así, en la etapa de redisolución, el complejo metal-ligando se destruye, permitiendo que el ligando vuelva a la disolución y el metal se libere quedando retenido en el electrodo o en sus proximidades, dependiendo del metal y del electrodo empleado. La **Figura III.1** muestra como ocurre el proceso. En ocasiones esta

modalidad se ha englobado dentro de la CSV, pues la etapa de redisolución es la misma. En cualquiera de estos procesos de redisolución, la sensibilidad alcanzada depende de la concentración de la especie a determinar en el electrodo y, por lo tanto, de la geometría de éste, así como de la duración y rendimiento de la etapa de preconcentración.



**Figura III.1.** Etapas de análisis por Voltamperometría de Redisolución Catódica Adsorptiva (AdCSV)

El procedimiento de acumulación adsorptiva da lugar a una preconcentración muy efectiva, que permite la realización de medidas ultrasensibles por debajo de  $10^{-10}$  mol/L, empleando tiempos de preconcentración cortos. Sin embargo, para alcanzar altas sensibilidades es esencial optimizar las variables operacionales (pH, potencial de acumulación, ...) que favorecen la adsorción.

La voltamperometría de redisolución catódica adsortiva es un método que se ha utilizado para la determinación de ciertos metales traza, cuya cuantificación mediante otros métodos de redisolución es complicada o no es posible bien por su falta de reversibilidad en procesos de ASV, porque presenten potenciales redox muy extremos, porque forman compuestos intermetálicos con el Hg o son poco solubles en este electrodo [Van den berg, 1988; Wang, 1989; Van den Berg, 1991; Schwedt y de Carvalho, 2001].

En la **Tabla III.2** están esquematizadas las reacciones que ocurren en la etapa de acumulación y de redisolución para cada una de las modalidades de redisolución voltamperométrica anteriormente descritas.

**Tabla III.2.** Principales técnicas de voltamperometría de redisolución

Técnica	Acumulación	Redisolución	Determinación
ASV	<i>Catódica</i> $\text{Hg} + \text{M}^{n+} + n\text{e}^- \rightarrow \text{M}(\text{Hg})$	<i>Anódica</i> $\text{M}(\text{Hg}) \rightarrow \text{Hg} + \text{M}^{n+} + n\text{e}^-$	Directa para $\text{M}^{n+}$
CSV	<i>Anódica</i> $\text{Hg} + 2\text{HX} \rightarrow \text{HgX}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$	<i>Catódica</i> $\text{HgX}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Hg} + 2\text{HX}$	Indirecta para HX
AdCSV	<i>Adsorción</i> $\text{M}^{n+} + \text{L} \rightarrow \text{ML}^{n+} (\text{ads})$	<i>Catódica</i> $\text{ML}^{n+} (\text{ads}) + n\text{e}^- \rightarrow \text{M} + \text{L}$	Directa para $\text{M}^{n+}$ Indirecta para L
		<i>Catódica</i> $\text{ML}^{n+} (\text{ads}) + z\text{e}^- \rightarrow \text{M}^{n+} + \text{L}(\text{Red})$	Indirecta para $\text{M}^{n+}$ Directa para L

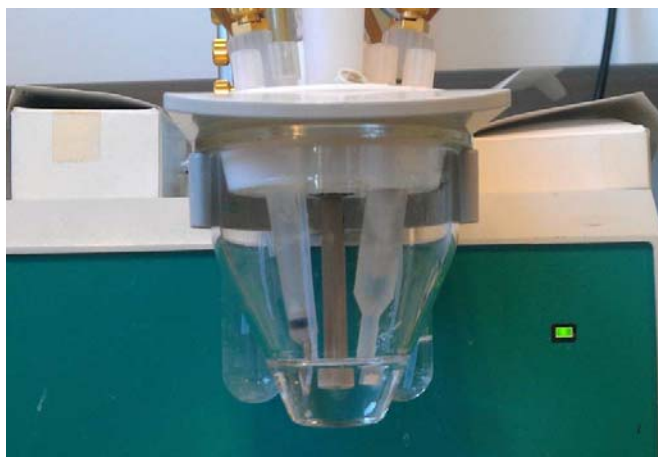
Además de estas tres modalidades de voltamperometría, hay que destacar la existencia de otras variantes obtenidas por las diferentes combinaciones de las etapas de preconcentración y redisolución. Se pueden citar algunas modalidades, como por ejemplo, aquellas en las que se produce una oxidación tras la adsorción del complejo, otras en las que tanto la etapa de acumulación como la de redisolución se basan en

reducciones o bien en oxidaciones. Existen también métodos que incluyen una etapa intermedia entre la de acumulación y la de redisolución, o incluyen procesos catalíticos los cuales presentan interesantes perspectivas debido a la amplificación de la señal y la disminución de los límites de detección [Fogg, 1994; Van den Berg, 1991].

#### III.4. ASPECTOS INSTRUMENTALES

Una de las ventajas más importantes que tienen las técnicas electroanalíticas sobre otros tipos de procedimientos es que la instrumentación es relativamente barata, asequible a todos los laboratorios, y caracterizada por el reducido tamaño y la relativa simplicidad de los equipos instrumentales, en comparación con otras técnicas de análisis de metales, como es el caso de las técnicas de espectroscopía atómica.

Las técnicas voltamperométricas utilizan frecuentemente un sistema de tres electrodos situados en una celda que contiene el analito a analizar. La celda puede ser fabricada en distintos materiales siendo los más frecuentes: vidrio borosilicato, teflón (PTFE), o cuarzo. Además del sistema trielectródico, estas celdas constan de un sistema de agitación y otro de burbujeo de nitrógeno (**Figura III.2**).



*Figura III.2. Sistema trielectródico del equipo de electroanálisis Metrohm 757 VA Computrace*

Las técnicas voltamperométricas se basan en la medida de la intensidad de corriente (I) que circula entre un electrodo de trabajo y un electrodo auxiliar, debido a la reducción o la oxidación de una especie dada en función del potencial (E) aplicado en el electrodo de trabajo, en condiciones tales que favorezcan la polarización del electrodo, respecto a un electrodo de referencia [Buffle y Tercier-Waeber, 2005].

El electrodo de trabajo debe tener superficie y área reproducibles, mostrando baja corriente residual. Se pueden utilizar con diferente configuración, encontrándose electrodos *macro-* o *micro-* ( $\leq 10\mu\text{m}$ ), aunque para análisis medioambiental parecen más adecuados éstos últimos, ya que al reducir la corriente capacitiva e incrementar la velocidad de transporte de masa, se obtienen excelentes características señal-ruido, permitiendo la determinación del analito a muy bajas concentraciones ( $<10^{-9}$  mol/L). Pueden ser sólidos o líquidos, de diversos materiales, principalmente de Hg, Au, Pt o C, dependiendo del rango de polarización deseado [Buffle y Tercier-Waeber, 2000].

El electrodo de trabajo más utilizado históricamente ha sido el electrodo de Hg, aunque actualmente es muy discutido su uso debido al riesgo que implica para la salud la manipulación de este metal. Entre las ventajas que presenta se encuentra su alto sobrepotencial para la reacción del hidrógeno, lo que amplía considerablemente el intervalo de potencial de aplicación hacia valores más negativos que los que ofrecen otros electrodos. Igualmente, es única la facilidad de producir un nuevo electrodo con cada gota sin interferencias de medidas previas o de contaminantes de análisis anteriores, lo que permite obviar procedimientos de limpieza o activación de la superficie del electrodo [Mikkelsen y Schröder, 2003]. Puede utilizarse con diversas configuraciones, tales como: electrodo de gota colgante (HMDE), electrodo de gota estática (SMDE) o microelectrodo de película (MFE) [Skoog y col., 2001; Wang, 2006].

El electrodo de gota colgante (*hanging mercury drop electrode*, HMDE) es el diseño más clásico, permite la renovación reproducible y sencilla de la gota de mercurio y el uso de periodos largos de acumulación. Tras la etapa de redisolución, la gota se hace caer y se forma una nueva gota y, por tanto, un nuevo electrodo. El tamaño de las gotas formadas puede ser ajustado con ayuda de un calibrado micrométrico. Este tipo se caracteriza por una baja relación superficie/volumen, lo que reduce la eficacia de la

etapa de electrodeposición. Para la voltamperometría de redisolución adsorptiva, la renovación de la superficie del electrodo HMDE, mediante la formación de una nueva gota, es muy importante, ya que el electrodo empieza a saturarse con el ligando libre o con el complejo que puede permanecer adsorbido o difundir hacia el mercurio [Van den Berg, 1991].

Una forma de minimizar el gasto de mercurio es utilizando el microelectrodo de película (*mercury film electrode, MFE*), cuyo uso está restringido prácticamente al trabajo en redisolución. Consiste en una película muy fina de mercurio que recubre un soporte electródico de alta conductividad eléctrica, inerte electroquímicamente e inerte químicamente con el mercurio y con la muestra. El sustrato más utilizado es el carbono en forma de carbono vitrificado, grafito pirolítico, polvo de grafito impregnado en ceras o materiales poliméricos. El más utilizado es el electrodo de disco rotatorio de carbono vitrificado. En general, dada la forma de creación del electrodo, éste suele ser más irreproducible que el de gota de mercurio.

La utilización de carbono pulverizado permite fabricar un material que puede ser empleado como electrodo de pasta de carbono (*carbon paste electrode, CPE*) y que, al ser elaborado según convenga, admite la incorporación de cualquier modificante de interés. Es posible incorporar adsorbentes que potencien la sensibilidad del electrodo ante sistemas en los que la adsorción juega un papel importante: complejantes para metales, intercambiadores de iones y, por supuesto, enzimas y anticuerpos para la fabricación de bio e inmunosensores.

El intervalo de potenciales en el que cada uno de estos electrodos, anteriormente citados, puede ser utilizado en disoluciones acuosas varía y depende del material del electrodo y también de la composición de la disolución en la que vaya a estar sumergido el electrodo. El potencial de reducción del metal debe encontrarse dentro del intervalo de potenciales en el que el electrodo puede ser empleado. En la **Figura III.3** se muestra el intervalo de potencial de trabajo de algunos tipos de electrodos.

La celda contiene un segundo elemento, el electrodo de referencia, cuyo potencial no varía mientras se realiza la medición. Los electrodos de referencia más



usados son de Ag/AgCl, KCl (3 mol/L) y Calomelanos Saturado (SCE). En tercer lugar está el electrodo auxiliar, también denominado contraelectrodo, que suele ser de platino y cuya función es permitir que ocurra el proceso de electrólisis entre él y el electrodo de trabajo.

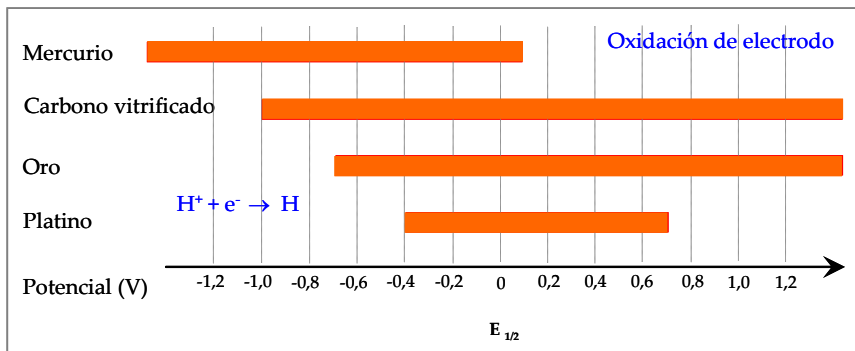


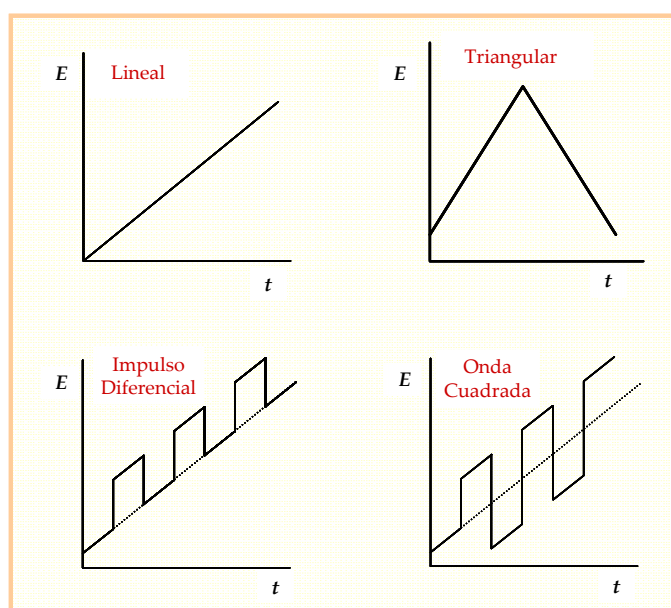
Figura III.3. Intervalos máximos de trabajo para algunos tipos de electrodos

#### III.4.1. Señales de excitación en voltamperometría de redisolución

La voltamperometría se basa en aplicar una señal de excitación a un electrodo de trabajo que se encuentra en una celda electroquímica. Esta señal es, simplemente, un potencial variable que provoca una respuesta de intensidad de corriente característica en la que se basa el método. Existe una amplia gama de formas de generar las señales a las que se puede someter el electrodo de trabajo, lo que da lugar a la variedad de técnicas voltamperométricas existentes. En la **Figura III.4** se representan las formas más comunes de las señales de excitación utilizadas en voltamperometría.

La señal de excitación clásica en voltamperometría es el barrido lineal (LS). Otras señales de excitación han surgido como modificación de la variación lineal del potencial y que también se utilizan comúnmente, como es el caso de las técnicas de impulsos (DP) y de onda cuadrada (SW). El registro de la intensidad en función del potencial aplicado recibe el nombre genérico de voltamperograma y su perfil varía significativamente con el mecanismo electroquímico y las condiciones experimentales,

en particular la velocidad de barrido. La voltamperometría cíclica (CV) permite realizar estudios de reversibilidad. Los modos DP y SW presentan como ventaja frente al barrido lineal la compensación de la contribución de la corriente de capacitancia, una reducción de la interferencia por el oxígeno disuelto y una mayor velocidad de análisis [Achterberg y Braungardt, 1999]. El barrido lineal suele realizarse cuando se deposita el analito sobre un electrodo MFE, mientras que los modos DP y SW se aplican mayoritariamente con el electrodo HMDE.



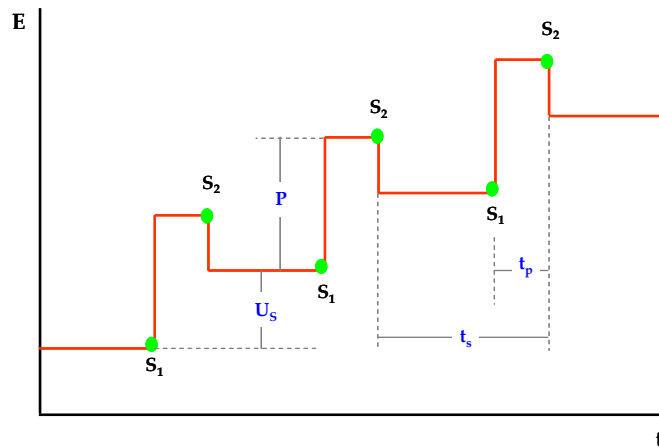
**Figura III.4.** Formas de las señales de potencial de excitación lineal, impulso diferencial, onda triangular o cíclica y onda cuadrada, utilizadas en Voltamperometría

En esta tesis se han aplicado principalmente las siguientes modalidades:

**a) Voltamperometría de impulso diferencial (DPV)**

Las técnicas voltamperométricas de impulso fueron desarrolladas inicialmente para el electrodo de gota de mercurio con el objeto de sincronizar los pulsos con el

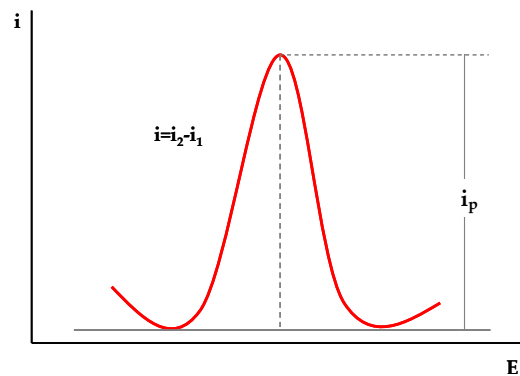
crecimiento de la gota y reducir la contribución de la corriente capacitiva mediante medidas de la corriente hacia el final de la vida de la gota. Luego de aplicar un pulso de potencial, la corriente capacitiva decae más rápidamente que la faradaica, por ello, las medidas de corriente se realizan al final del pulso. Este tipo de medida aumenta la sensibilidad, por lo que posee excelentes características para aplicaciones analíticas, y en electrodos sólidos permite evaluar el bloqueo de la reacción electroquímica debido a procesos de adsorción. Es una técnica que consiste en aplicar un potencial que se varía en forma de escalera en pequeños incrementos. Se aplica un impulso de potencial constante  $P$  de duración  $t_p$  al final de cada escalón de altura  $U_s$  y duración  $t_s$  de una escalera de potencial (**Figura III.5**).



**Figura III.5.** Señal de excitación en voltamperometría de impulso diferencial

En general, en la voltamperometría de impulso diferencial se procede superponiendo un impulso de potencial constante a cada paso de una escalera de potencial, concretamente, al final de cada escalón. Las concentraciones de las especies en la superficie del electrodo vienen determinadas por la escalera de potencial. La forma de registrar las muestras de corriente es tomando una de ellas justo antes de aplicar el impulso ( $S_1$ ) y la segunda justo al final de éste ( $S_2$ ) como se puede observar en

la **Figura III.5**. De esta manera, al registrar la diferencia de corrientes obtenidas ( $i_2 - i_1$ ) en función del potencial aplicado se obtienen respuestas típicas en forma de pico como el que aparece en la **Figura III.6**, donde la intensidad máxima de corriente es directamente proporcional a la concentración de las especies reactantes. Se puede aumentar la intensidad de pico incrementando la amplitud del impulso, pero también originan pérdidas de resolución y aumento de la corriente de carga.



**Figura III.6.** Voltamperograma característico de la voltamperometría de impulso diferencial

Normalmente, se prefiere aplicar valores en el intervalo de 50-100 mV ya que se consigue un buen compromiso entre tales efectos [Kissinger y Heineman, 1984]. En la práctica, el tiempo que dura el impulso de potencial suele ser de 50 ms y, cuando se persiguen fines analíticos los impulsos suelen ser del orden de 100 mV. Con esta diferencia se logra un aumento en la respuesta al potencial que debe compensar la pérdida de resolución y el incremento de corriente de carga, factores que, en última instancia, limitaban el mínimo de concentración detectable.

La discriminación entre las corrientes de carga y las faradaicas logra incrementar la sensibilidad y dando lugar a límites de detección entre  $10^{-7}$  y  $10^{-8}$  mol/L dependiendo del tipo de la superficie electrodo. Normalmente, los límites de detección con esta técnica son dos o tres órdenes de magnitud más bajos que los de la

polarografía clásica. Generalmente, las aplicaciones cuantitativas de la voltamperometría diferencial de impulsos se basan en la obtención de curvas de calibrado, en las que se representan las alturas de los picos en función de la concentración del analito. En algunos casos se puede utilizar el método de la adición estándar en vez de curvas de calibrado. En ambos casos es esencial que la composición de los estándares sea lo más parecida posible a la composición de la muestra, tanto en las concentraciones de analito como en el pH. Así, se pueden obtener precisiones y exactitudes relativas en el intervalo del 1 al 3% para concentraciones  $10^{-7}$  mol/L y mayores.

En la **Tabla III.3** se muestran los parámetros instrumentales más característicos de esta modalidad cuando se aplica en voltamperometría de redisolución.

**Tabla III.3.** Parámetros instrumentales característicos en Voltamperometría de Redisolución de Impulso Diferencial con el electrodo HMDE

Parámetro	Definición	
$t_d$	<i>Tiempo de deposición:</i> Tiempo de la etapa de preconcentración o deposición	
$E_d$	<i>Potencial de deposición:</i> Potencial al cual se realiza la deposición	
$d_s$	<i>Tamaño de gota:</i> Tamaño de la gota del electrodo HMDE	
$v_{ag}$	<i>Velocidad de agitación:</i> Velocidad de rotación del cilindro de agitación durante la etapa de preconcentración	
DP	<b>P</b>	<i>Amplitud de impulso:</i> Amplitud del impulso de potencial superpuesto
	$U_s$	<i>Salto de potencial:</i> Incremento de potencial en la rampa
	$t_s$	<i>Tiempo de salto de potencial:</i> Intervalo de tiempo tras el cual el potencial del barrido se incrementa en la cantidad $U_s$
	$t_m$	<i>Tiempo de medida:</i> Tiempo en el cual se mide la intensidad de corriente
	$t_p$	<i>Tiempo de impulso:</i> Intervalo de tiempo en el que el impulso se superpone al voltaje directo

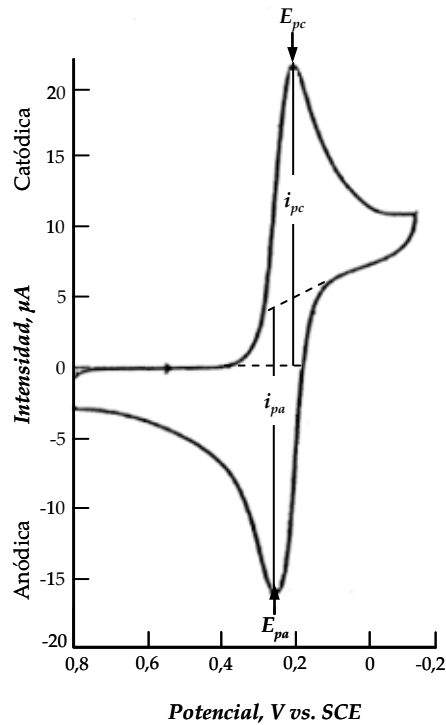
## b) Voltamperometría Cíclica (CV)

La voltamperometría cíclica es una técnica muy útil y versátil para suministrar información analítica del compuesto electroactivo en disolución. Esta técnica se caracteriza por la aplicación de una señal de potencial triangular al electrodo de trabajo, en condiciones estacionarias y sin agitación de la disolución (**Figura III.4**). El potencial aplicado va desde un potencial inicial ( $E_i$ ) hasta un potencial final ( $E_f$ ), en el cual se produce una inversión en el sentido del barrido, volviendo a su valor original de  $E_i$ . Este ciclo suele darse varias veces, y el potencial en el que se da esta inversión de la dirección recibe el nombre de potencial de inversión [**Pingarrón y Sánchez, 2003**].

Los intervalos de potencial de inversión impuesto en cada experimento se escogen teniendo en cuenta los valores en los que tiene lugar la oxidación o la reducción controladas por difusión de uno o varios analitos, y la dirección en la que se produce el barrido va a depender de la composición que presente la muestra. El barrido puede ser negativo o positivo: un barrido en la dirección de potenciales más positivos se denomina un barrido directo o positivo, mientras que uno en la dirección opuesta se le llama un barrido inverso o negativo. Generalmente, los tiempos del ciclo oscilan desde 1 ms o menos hasta 100 s o más.

El perfil de barrido suele definirse en función del par redox de interés en el experimento. Las medidas de intensidad de corriente se realizan durante todo el ciclo y su representación frente al potencial aplicado da lugar a un gráfico llamado voltamperograma cíclico. Las medidas de intensidad de pico anódico y catódico suelen realizarse extrapolando la línea base de cada semiciclo justo antes de que comience a surgir cada pico, por lo que constituye el principal inconveniente de la voltamperometría cíclica porque no siempre se consiguen valores fiables de intensidad. En la **Figura III.7** se representa un voltamperograma típico de la voltamperometría cíclica. Como puede observarse, los parámetros principales que permiten la identificación del analito son: el potencial de pico anódico ( $E_{pa}$ ), el potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ), la corriente de pico anódica ( $I_{pa}$ ) y la corriente de pico catódica ( $I_{pc}$ ). Para una reacción de electrodo reversible, las corrientes de pico anódica y catódica son aproximadamente iguales, pero de signo opuesto, y la diferencia entre

los potenciales de pico es de  $0,0592/n$ , donde  $n$  es el número de electrones implicados en la semireacción.



**Figura III.7.** Voltamperograma característico de la voltamperometría cíclica (6 mmol/L de  $K_3Fe(CN)_6$  en 1 mol/L de  $KNO_3$ ) [Skoog y col., 2001]

Con respecto a las aplicaciones, la voltamperometría cíclica suele ser la primera técnica que se emplea cuando se pretende realizar un estudio electroquímico. Permite efectuar un barrido de potencial y localizar rápidamente la presencia de algún par redox en el medio electrolítico. Una vez encontrado, se puede caracterizar este par redox mediante los potenciales de pico del voltamperograma y también el análisis de los posibles cambios originados al variar la velocidad de barrido del potencial. Es una técnica útil a la hora de estudiar sistemas electroquímicos reversibles, es decir, aquellos

en los que ambas especies del par redox intercambian electrones con el electrodo rápidamente.

La voltamperometría cíclica, aunque no se utilice para análisis cuantitativos de rutina, es una herramienta importante para el estudio de los mecanismos y de las velocidades de los procesos de oxidación/reducción, en particular para sistemas orgánicos y organometálicos. Como se ha comentado anteriormente, este método es generalmente la primera técnica seleccionada para la investigación de un sistema potencialmente electroquímico. Las medidas voltamperométricas son particularmente sensibles a la presencia de reacciones químicas acopladas a los procesos de transferencia electrónica, así como a efectos de superficie, incluyendo fenómenos de adsorción y efectos capacitivos. A menudo, los voltamperogramas cíclicos revelan la presencia de intermedios en las reacciones de oxidación/reducción.

### **III.5. APLICACIONES DE LA VOLTAMPEROMETRÍA DE REDISOLUCIÓN**

La elevada sensibilidad, la sencillez y el bajo coste del análisis hacen que las técnicas voltamperométricas de redisolución se apliquen a la determinación de multitud de metales, así como compuestos no metálicos (tioles, sulfuros, haluros,...) tanto en muestras ambientales y clínicas, como en el análisis de alimentos, fármacos y residuos industriales.

La voltamperometría de redisolución se suele aplicar al análisis de metales residuales en muestras ambientales, como partículas aerotransportadas, cenizas de incineradoras, rocas, minerales y sedimentos. La principal aplicación es, sin embargo, el análisis de aguas naturales (subterráneas, lagos, ríos, torrentes, mar, lluvia, nieve...). En la **Tabla III.4** se recogen algunas aplicaciones de la voltamperometría de redisolución en la determinación de metales en aguas, aplicando diversos tipos de electrodos y técnicas.



**Tabla III.4.** Aplicaciones recientes de la voltamperometría de redisolución en el análisis de metales pesados en aguas

Metales	Tipo de muestra	Tipo de electrodo	Técnica de redisolución	Referencia
Fe <sup>3+</sup>	Agua de mar	BiFE	SWAdCSV	Segura y col., 2008
Pb <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	Agua de río contaminada	BiBE	SWASV	Armstrong y col., 2010
Cu <sup>2+</sup>	Agua de mar	SMDE	DPASV	Omanović y col., 2010
Se <sup>4+</sup>	Agua natural	MFE	AdCSV	Ashournia y Aliakbar, 2010
As <sup>3+</sup>	Agua subterránea	GE	LSCSV	Gibbon-Walsh y col., 2010
Mn <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup>	Agua subterránea, agua de grifo, agua natural	CPE	SWAdCSV	Ghoneim, 2010
Cr <sup>3+</sup> /Cr <sup>6+</sup>	Agua de río	BiFE	SWAdCSV	Jorge y col., 2010
Cd <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup>	Agua de grifo	MCPE	SWASV	Tesarova y col., 2011
Ga <sup>3+</sup>	Agua subterránea industrial	BiFE	SWASV	Kamat y col., 2011
Ni <sup>2+</sup>	Agua de lago	BiFE	SWAdCSV	Segura y col., 2011
Cd <sup>2+</sup>	Agua de río	MCPE	SWASV	Li y col., 2012
Cd <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup>	Agua natural	MGCE	SWASV	Chen y col., 2012
Cd <sup>2+</sup>	Agua de grifo	Bi-SbFE	SWASV	Yi y col., 2012
Ni <sup>2+</sup>	-	SbFE	SWAdCSV	Sopha y col., 2012

*AdCSV*: Voltamperometría de redisolución catódica adsortiva; *ASV*: Voltamperometría de redisolución anódica; *BiBE*: Electrodo de volumen de bismuto; *BiFE*: Electrodo de película de bismuto; *Bi-SbFE*: Electrodo de película de antimonio-bismuto; *CPE*: Electrodo de pasta de carbono; *CSV*: Voltamperometría de redisolución catódica; *DP*: Impulso diferencial; *GE*: Electrodo de oro; *LS*: Barrido lineal; *MCPE*: Electrodo de pasta de carbono modificado; *MFE*: Electrodo de película de mercurio; *MGCE*: Electrodo de carbono vitrificado modificado; *SbFE*: Electrodo de película de antimonio; *SMDE*: Electrodo de gota estática de mercurio; *SW*: Onda cuadrada.

Tras una revisión bibliográfica sobre la voltamperometría aplicada al análisis de metales en aguas, se ha constatado que se realiza principalmente mediante AdCSV. Así, se ha descrito el empleo de diversos reactivos orgánicos quelatantes utilizando diversos tipos de electrodos, especialmente el electrodo de gota colgante de mercurio (**Tabla III.5**). Estos ligandos se adicionan a la muestra para formar complejos con los metales trazas presentes permitiendo su determinación.

La mayoría de los ligandos orgánicos utilizados en AdCSV tienen átomos de N, O y/o S donadores de electrones que facilitan la formación del complejo con el metal de interés. En estos casos podrá ser tanto el metal como el ligando la especie electroactiva que permita la determinación directa o indirecta del metal por AdCSV [**Van den Berg, 1989**].

**Tabla III.5.** Aplicaciones de la voltamperometría de redisolución catódica adsorptiva (AdCSV) con electrodo HMDE a la determinación de metales traza en aguas

Tipo de muestra	Ligando Complejante	Metal	L.D. (nmol/L)	Referencia
Agua de mar	Catecol	Fe <sup>3+</sup>	0,6	Van den Berg y Huang, 1984a
Agua de mar	Pirrolidin ditiocarbamato de amonio	Zn <sup>2+</sup>	0,03	Van den Berg, 1984b
Agua de mar	Dimetilglioxima	Ni <sup>2+</sup>	-	Van den Berg y Nimmo, 1987a
Agua de mar	8-Hidroxiquinoleína en presencia de EDTA	U <sup>6+</sup>	0,2	Van den Berg y Nimmo, 1987b
Agua de mar	Catecol	Sb <sup>3+</sup>	0,2	Capodaglio y col., 1987
Agua de mar	Hidrazona del formaldehído	Pt <sup>2+</sup>	0,0004	Van den Berg, 1988
Agua de mar	Tropolona	Sn <sup>2+</sup>	0,05	Van den Berg, 1989
Agua mineral	Difenilcarbazida	Cr <sup>6+</sup>	0,38	Elleouet y col., 1992
Agua de lago	Ácido mandélico	Ti <sup>4+</sup> , Mo <sup>6+</sup>	0,014	Yokoi y Van den Berg, 1992
Agua de mar	Dimetilglioxima	Co <sup>2+</sup>	0,0059	Herrera-Melián y col., 1994

**Cont. Tabla III.5.** Aplicaciones de la voltamperometría de redisolución catódica adsorbtiva (AdCSV) con electrodo HMDE a la determinación de metales traza en aguas

Tipo de muestra	Ligando Complejante	Metal	L.D. (nmol/L)	Referencia
Agua de mar	Violeta de pirocatecol	V <sup>5+</sup>	0,1	Vukomanovic y Vanloon, 1994
Agua de mar	Pirrolidin ditiocarbamato de amonio	As <sup>3+</sup>	3	Zima y Van den Berg, 1994
Agua de mar	Catecol	V <sup>5+</sup>	0,6	Vega y Van den Berg, 1994
Agua de mar	Naranja de xilenol	Pb <sup>2+</sup>	0,029	Wu y Batley, 1995
Agua de mar	1) 8-Hidroxiquinoleína 2) 1-Nitroso-2-naftol 3) Dimetilglioxima 4) Pirrolidin ditiocarbamato de amonio	1) Cu <sup>2+</sup> 2) Cd <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> 3) Mn <sup>2+</sup> 4) Ni <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	1) 0,19 2) 0,08; 1,88 3)-- 4) 0,41; 1,47	Abollino y col., 1995
Agua de lago	Dihidroxinaftaleno	V <sup>5+</sup>	0,015	Li y Smart, 1996
Agua de río y lago	Dihidroxinaftaleno	Mo <sup>6+</sup>	0,006	Li y Smart, 1997
Agua de mar	1) 8-Hidroxiquinoleína 2) Dimetilglioxima	1) Cu <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> 2) Ni <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup>	1) 0,3; 0,2; 0,1; 0,6 2) 0,4; 0,02	Colombo y Van den Berg, 1997
Agua de río	$\alpha$ -bencilmonoxima	Cu <sup>2+</sup>	4,72	Ensafi y Abbasi, 2000a
Aguas subterráneas, de río y de grifo	2-Aminociclopenten ditiocarboxilato de amonio	Cd <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup>	11,5; 8,5; 0,34	Ensafi y Zarei, 2000b
Aguas de río y de grifo	Dimetilglioxima	Ni <sup>2+</sup>	0,2	Korolczuk, 2000
Agua de río	Cupferrón	Cu <sup>2+</sup> , Mo <sup>6+</sup>	3,25; 0,63	Ensafi y col., 2002
Agua mineral comercial, agua de grifo y agua residual	Violeta de pirocatecol + ácido N-(2-hidroxietil)etilenediamina-N,N',N'-triacético	Cr <sup>6+</sup> , Cr <sup>3+</sup>	-	Domínguez y Arcos, 2002
Agua de río con adición de metal	$\alpha$ -(2-benzimidazolil)- $\alpha'$ , $\alpha''$ -(N-5-nitro-2-piridilhidrazona)-tolueno	Pd <sup>2+</sup>	18,8	Kim y Cha, 2002
Agua de mar	Salicililhidrazona de la 2-acetilpiridina	Cd <sup>2+</sup>	0,06	Jurado-González y col., 2003
Agua de río y agua de grifo	Rojo de pirogalol	Pb <sup>2+</sup>	0,29	Ensafi y col., 2003
Agua de río y agua potable	Rojo de pirogalol	Cu <sup>2+</sup> , Mo <sup>6+</sup>	4,72; 1	Ensafi y col., 2004

**Cont. Tabla III.5.** Aplicaciones de la voltamperometría de redisolución catódica adsorptiva (AdCSV) con electrodo HMDE a la determinación de metales traza en aguas

Tipo de muestra	Ligando Complejante	Metal	L.D. (nmol/L)	Referencia
Agua potable	Morina	Cu <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup>	0,95; 0,92; 0,39	Shams y col., 2004
Agua de mar	1) Dimetilglioxima 2) Catecol	1) Ni <sup>2+</sup> 2) Cu <sup>2+</sup> , V <sup>5+</sup>	1) 0,4 2) 0,5; 0,3	Cobelo-García y col., 2004
Agua de grifo, agua de río y agua de mar	Pirrolidin ditiocarbamato de amonio	In <sup>3+</sup>	1,3	Paolicchi y col., 2004
Agua de grifo con metal añadido	1) Pirrolidin ditiocarbamato de amonio 2) Violeta de pirocatecol 3) Dietilditiocarbamato	Ga <sup>3+</sup>	1) 50 2) 9,9 3) 1,3	González y col., 2004
Agua de grifo y agua mineral	Ácido 2,6-piridindicarboxílico	U <sup>6+</sup>	0,004	Gholivand y col., 2005
Agua residual	Ácido 3,4-dihidroxibenzoico	Sn <sup>4+</sup>	421	Li y col., 2005
Agua de río y agua potable	Naranja de xilenol	Cu <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup>	10,5 (Cd <sup>2+</sup> ); 4,73 (Pb <sup>2+</sup> )	Ensafi y col., 2006
Agua de grifo y agua residual	Adenina	Cr <sup>6+</sup>	38,5	Safavi y col., 2006
Agua de grifo	Cupferrón	Al <sup>3+</sup>	29,6	Qion y col., 2006
Agua mineral	Violeta de pirocatecol	Mo <sup>6+</sup>	0,002	Zarei y col., 2006
Agua de mar	Rojo de pirogalol	Al <sup>3+</sup>	37	Arancibia y Muñoz, 2007
Agua de grifo con adición de metal	Pirogalol	Sb <sup>3+</sup> , Sb <sup>5+</sup>	0,1; 9,48	González y col., 2007
Aguas superficiales de lago	1) Dimetilglioxima 2) Ácido cloranílico 3) Formaldehído	1) Ni <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup> 2) U <sup>6+</sup> 3) Rh <sup>2+</sup>	1) 0,46; 0,15 2) 0,55 3) 0,003	Monticelli y col., 2007
Agua de mar	Saliciloilhidrazona de la 2-acetilpiridina	Pb <sup>2+</sup>	0,17	Espada-Bellido y col., 2009a
Agua de mar	2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona	Cu <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Bi <sup>2+</sup>	0,8; 0,125; 2,49; 1,37	Espada-Bellido y col., 2009b
Agua de mar	Saliciloilhidrazona del piridoxal	Ni <sup>2+</sup>	0,04	Aouarram y col., 2010
Agua de mar, agua de río, agua de grifo y agua mineral	Luminol	Cu <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup>	0,63; 0,18	Abbasi y col., 2011

**Cont. Tabla III.5.** Aplicaciones de la voltamperometría de redisolución catódica adsorptiva (AdCSV) con electrodo HMDE a la determinación de metales traza en aguas

Tipo de muestra	Ligando Complejante	Metal	L.D. (nmol/L)	Referencia
Aguas intersticiales de sedimentos	Dimetilglioxima + Catecol	Co <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , V <sup>5+</sup>	0,04; 0,09; 1,29; 0,46; 2,52	Santos-Echeandía, 2011
Agua de mar y agua residual	Ácido rubeánico	Cr <sup>6+</sup>	0,04	Abbasi y Bahiraei, 2012
Agua de río y agua de lago con adición de metal	Cupferrón	Bi <sup>3+</sup> , Cd <sup>2+</sup>	0,98; 1,0	Koper y Grabarczyk, 2012
Aguas pluviales	Salicilaldoxima	Cu <sup>2+</sup>	-	Nason y col., 2012

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**Abbasi S.** y Bahiraei A. Ultra trace quantification of chromium(VI) in food and water samples by highly sensitive catalytic adsorptive stripping voltammetry with rubeanic acid. *Food Chemistry* 133, 1075-1080 (2012).

**Abbasi S.,** Bahiraei A. y Abbasai F. A highly sensitive method for simultaneous determination of ultra trace levels of copper and cadmium in food and water samples with luminol as a chelating agent by adsorptive stripping voltammetry. *Food Chemistry* 129, 1274-1280 (2011).

**Abollino O.,** Aceto M., Sacchero G., Sarzanini C. y Mentasti E. Determination of copper, cadmium, iron, manganese, nickel and zinc in Antarctic sea water. Comparison of electrochemical and spectroscopic procedures Determination. *Analytica Chimica Acta* 305, 200-206 (1995).

**Achterberg E. P.** y Braungardt C. Stripping voltammetry for the determination of trace metal speciation and in-situ measurements of trace metal distributions in marine waters. *Analytica Chimica Acta* 400, 381-397 (1999).

**Aouarram A.,** Galindo-Riaño M. D., García-Vargas M., Stitou M., El Yousfi F., Espada-Bellido E. An efficient approach to designing and optimizing the analysis of Ni(II) by AdCSV in seawater. *Talanta* 82, 1749-1756 (2010).

- Arancibia V.** y Muñoz C. Determination of aluminium in water samples by adsorptive cathodic stripping voltammetry in the presence of pyrogallol red and a quaternary ammonium salt. *Talanta* 73, 546-552 (2007).
- Armstrong K. C.,** Tatum C. E., Dansby-Sparks R. N., Chambers J. Q. y Xue Z. -L. Individual and simultaneous determination of lead, cadmium, and zinc by anodic stripping voltammetry at a bismuth bulk electrode. *Talanta* 82, 675-680 (2010).
- Ashournia M.** y Aliakbar A. Determination of Se(IV) in natural waters by adsorptive stripping voltammetry of 5-nitropiazselenol. *Journal of Hazardous Materials* 174, 788-794 (2010).
- Buffle J.** y Tercier-Waeber M. L. Voltammetric environmental trace metal analysis and speciation: from laboratory to in situ measurements. *Trends in Analytical Chemistry* 24, 172-191 (2005).
- Buffle J.** y Tercier-Waeber M. L., en: Buffle J., Hoarvai G. (Eds). In situ Monitoring of Aquatic Systems; Chemical Analysis and Speciation. *IUPAC Series on Analytical and Physical Chemistry of Environmental Systems*, vol. 6, Wiley, Chichester, West Sussex, UK, pp.642 (2000).
- Capodaglio G.,** Van den Berg C. M. G y Scarponi G. Determination of Antimony In seawater by cathodic stripping voltammetry. *Journal Electroanalytical Chemistry* 235, 275-286 (1987).
- Carvajal A.,** Úbeda V. y Maestre M. A. Polarografía: Voltamperometría de Redisolución, Fundamentos y Aplicaciones, Monografía, Editorial Metrohm (1991).
- Chen L.,** Su Z., He X., Liu Y., Qin C., Zhou Y., Li Z., Wang L., Xie Q., Yao S. Square wave anodic stripping voltammetric determination of Cd and Pb ions at a Bi/ Nafion/ thiolated polyaniline/ glassy carbon electrode. *Electrochemistry Communications* 15, 34-37 (2012).
- Cobelo-García A.,** Santos-Echeand J., Prego R. y Nieto O. Direct Simultaneous Determination of Cu, Ni and V in Seawater Using Adsorptive Cathodic Stripping Voltammetry with Mixed Ligands. *Electroanalysis* 17, 906-911 (2004).
- Colombo C.** y Van den Berg C. M. G. Simultaneous determination of several trace metals in seawater using cathodic stripping voltammetry with mixed ligands. *Analytica Chimica Acta* 337, 29-40 (1997).
- Domínguez O.** y Arcos M. J. Simultaneous determination of chromium(VI) and chromium(III) at trace levels by adsorptive stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta* 470, 241-252 (2002).
- Elleouet C.,** Quentel F. y Madec C. Determination of trace amounts of chromium(VI) in water by electrochemical methods. *Analytica Chimica Acta* 257, 301-308 (1992).

**Ensafi** A. A. y Abbasi S. Highly selective-cathodic stripping voltammetric determination of copper with  $\alpha$ -benzylmonooxime. *Microchemical Journal* 64, 195-200 (2000a).

**Ensafi** A. A. y Zarei K. Simultaneous determination of trace amounts of cadmium, nickel and cobalt in water samples by adsorptive voltammetry using ammonium 2-amino-cyclopentene dithiocarboxylate as a chelating agent. *Talanta* 52, 435-440 (2000b).

**Ensafi** A. A., Khayamian T. y Atabati M. Differential pulse cathodic stripping adsorption voltammetric determination of trace amounts of lead using factorial design for optimization. *Talanta* 59, 727-733 (2003).

**Ensafi** A. A., Khayamian T. y Atabati M. Simultaneous voltammetric determination of molybdenum and copper by adsorption cathodic differential pulse stripping method using a principal component artificial neural network. *Talanta* 57, 785-793 (2002).

**Ensafi** A. A., Khayamian T. y Khaloo S. S. Application of adsorptive cathodic differential pulse stripping method for simultaneous determination of copper and molybdenum using pyrogallol red. *Analytica Chimica Acta* 505, 201-207 (2004).

**Ensafi** A. A., Khayamian T., Benvidi A. y Mirmomtaz E. Simultaneous determination of copper, lead and cadmium by cathodic voltammetry using artificial neural network. *Analytica Chimica Acta* 561, 225-232 (2006).

**Espada-Bellido** E., Galindo-Riaño M. D. Aouarram A. y García-Vargas M. Applicability of 2-hydroxybenzaldehyde benzoylhydrazone in the determination of trace metals by adsorptive cathodic stripping voltammetry: relevancy of simultaneous determinations. *Analytical Sciences* 25, 903-909 (2009b).

**Espada-Bellido** E., Galindo-Riaño M. D. y García-Vargas M. Sensitive adsorptive stripping voltammetric method for determination of lead in water using multivariate analysis for optimization. *Journal of Hazardous Materials* 166, 1326-1331 (2009a).

**Fogg** A. G. Adsorptive stripping voltammetry or Cathodic Stripping Voltammetry? Methods of accumulation and determination in stripping voltammetry. *Analytical Proceedings including Analytical Communications* 31, 313-317 (1994).

**Gholivand** M. B., Rashidi Nassab H. y Fazeli H. Cathodic adsorptive stripping voltammetric determination of uranium (VI) complexed with 2, 6-pyridinedicarboxylic acid. *Talanta* 65, 62-66 (2005).

**Ghoneim** E. M. Simultaneous determination of Mn(II), Cu(II) and Fe(III) as 2-(5'-bromo-2'-pyridylazo)-5-diethylaminophenol complexes by adsorptive cathodic stripping voltammetry at a carbon paste electrode. *Talanta* 82, 646-652 (2010).

- Gibbon-Walsh** K., Salaün P. y van den Berg C. M. G. Arsenic speciation in natural waters by cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta* 662, 1-8 (2010).
- González** M. J. G., Renedo O. D. y Martínez M. J. A. Speciation of antimony by adsorptive stripping voltammetry using pyrogallol. *Talanta* 71, 691-698 (2007).
- González** M. J. G., Renedo O. D., Lomillo M. A. A. y Martínez M. J. A. Determination of gallium by adsorptive stripping voltammetry. *Talanta* 62, 457-462 (2004).
- Herrera-Melián** J. A., Hernández-Brito J., Gelado-Caballero M. D. y Pérez-Peña J. Direct determination of cobalt in unpurged oceanic seawater by high speed adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta* 299, 5-7 (1994).
- Heyrovsky** J. Electrolysis with the dropping mercury electrode. *Chemické Listy* 16, 256-304 (1922).
- Jorge** E. O., Rocha M. M., Fonseca I. T. E. y Neto M. M. M. Studies on the stripping voltammetric determination and speciation of chromium at a rotating-disc bismuth film electrode. *Talanta* 81, 556-564 (2010).
- Jurado-González** J. A., Galindo-Riaño M. D. y García-Vargas M. Experimental designs in the development of a new method for the sensitive determination of cadmium in seawater by adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta* 487, 229-241 (2003).
- Kamat** J. V., Guin S. K., Pillai J. S. y Aggarwal S. K. Scope of detection and determination of gallium(III) in industrial ground water by square wave anodic stripping voltammetry on bismuth film electrode. *Talanta* 86 256-265 (2011).
- Kim** S. I. y Cha K. W. Determination of palladium(II) with  $\alpha$ -(2-benzimidazolyl)- $\alpha'$ , $\alpha''$ -(N-5-nitro-2-pyridylhydrazone)-toluene by adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Talanta* 57, 675-679 (2002).
- Kissinger** P. T. y Heineman W. R. (Eds), Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry, *Marcel Dekker, New York*, (1984).
- Kissinger** P. T. y Heineman W. R. Laboratory techniques in electroanalytical chemistry. Second edition revised and expanded, *Marcel Dekker, New York, Inc.* 719 (1996).
- Koper** A. y Grabarczyk M. Simultaneous voltammetric determination of trace bismuth(III) and cadmium(II) in water samples by adsorptive stripping voltammetry in the presence of cupferron. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 681, 1-5 (2012).



**Korolczuk M.** Voltammetric method for direct determination of nickel in natural waters in the presence of surfactants. *Talanta* 53, 679-686 (2000).

**Li B. L., Wu Z. L., Xiong C. H., Luo H. Q. y Li N. B.** Anodic stripping voltammetric measurement of trace cadmium at tin-coated carbon paste electrode. *Talanta* 88, 707-710 (2012).

**Li H. y Smart R. B.** Catalytic stripping voltammetry of vanadium in the presence of dihydroxynaphthalene and bromate. *Analytica Chimica Acta* 333, 131-138 (1996).

**Li H. y Smart R. B.** Square wave catalytic stripping voltammetry of molybdenum complexed with dihydroxynaphthalene. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 429, 169-174 (1997).

**Li Y.-H., Hui L. y Zhou F. -Q.** Determination of trace tin by catalytic adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta* 554, 86-91(2005).

**Mikkelsen. y Schröder K. H.** Amalgam Electrodes for Electroanalysis. *Electroanalysis* 15, 679-687 (2003).

**Monticelli D., Ciceri E. y Dossi C.** Optimization and validation of an automated voltammetric stripping technique for ultratrace metal analysis. *Analytica Chimica Acta* 594, 192-198 (2007).

**Nason J. A., Sprick M. S. y Bloomquist D. J.** Determination of copper speciation in highway stormwater runoff using competitive ligand exchange e Adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Water Research* 46, 5788-5798 (2012).

**Omanović D., Garnier C., Louis Y., Lenoble V., Mounier S. y Pižeta I.** Significance of data treatment and experimental setup on the determination of copper complexing parameters by anodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta* 664, 136-143 (2010).

**Paolicchi I., Renedo O. D., Lomillo M. A. A. y Martínez M. J. A.** Application of an optimization procedure in adsorptive stripping voltammetry for the determination of trace contaminant metals in aqueous medium. *Analytica Chimica Acta* 511, 223-229 (2004).

**Pingarrón-Carrazón J. M. y Sánchez-Batanero P.** Química Electroanalítica. Fundamentos y aplicaciones. Editorial Síntesis, Madrid. (2003).

**Qiong L., Lirong W., Danli X. y Guanghan L.** Determination of trace aluminum in foods by stripping voltammetry. *Food Chemistry* 97, 176-180 (2006).

**Safavi A., Maleki N. y Shahbaazi H. R.** Indirect determination of hexavalent chromium ion in complex matrices by adsorptive stripping voltammetry at a mercury electrode. *Talanta* 68, 1113-1119 (2006).

**Santos-Echeandía J.** Direct simultaneous determination of Co, Cu, Fe, Ni and V in pore waters by means of adsorptive cathodic stripping voltammetry with mixed ligands. *Talanta* 85, 506-512 (2011).

**Schwedt G.** y de Carvalho L. M. Stellenwert der voltammetrie zur Spurenanalyse von metallionen in Wässern. *Chem. Labor. Biotech* 52, 139-143 (2001).

**Segura R., Pradena M., Pinto D., Godoy F., Nagles E. y Arancibia V.** Adsorptive stripping voltammetry of nickel with 1-nitroso-2-naphthol using a bismuth film electrode. *Talanta* 85, 2316-2319 (2011).

**Segura R., Toral M. I. y Arancibia V.** Determination of iron in water samples by adsorptive stripping voltammetry with a bismuth film electrode in the presence of 1-(2-piridylazo)-2-naphthol. *Talanta* 75, 973-977 (2008).

**Shams E., Babaei A. y Soltaninezhad M.** Simultaneous determination of copper, zinc and lead by adsorptive stripping voltammetry in the presence of Morin. *Analytica Chimica Acta* 501, 119-124 (2004).

**Skoog D. A., Holler F. J. y Nieman T. A.** Principios de Análisis Instrumental. 5ª Edición. Madrid. McGraw-Hill (2001).

**Sopha H., Jovanovski V., Hocevar S. B. y Ogorevc B.** In-situ plated antimony film electrode for adsorptive cathodic stripping voltammetric measurement of trace nickel. *Electrochemistry Communications* 20, 23-25 (2012).

**Tesarova E. S., Baldrianova L., Stoces M., Svancara I., Vytras K., Hocevar S. B. y Ogorevc B.** Antimony powder-modified carbon paste electrodes for electrochemical stripping determination of trace heavy metals. *Electrochimica Acta* 56, 6673-6677 (2011).

**Van den Berg C. M. G.** Adsorptive Cathodic Stripping Voltammetry and Chronopotentiometry of Trace Metals in Seawater. *Analytical Proceedings* 25, 265-266 (1988).

**Van den Berg C. M. G.** Determination of tin in sea water by adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta* 222, 43-54 (1989).

**Van den Berg C. M. G.** Direct levels determination of sub-nanomolar of zinc in sea-water by cathodic stripping voltammetry. *Talanta* 31, 1069-1073 (1984b).

**Van den Berg C. M. G.** Potentials and potentialities of cathodic stripping voltammetry of trace elements in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 250, 265-276 (1991).

**Van den Berg** C. M. G. y **Huang** Z. Q. Determination of iron in seawater using cathodic stripping voltammetry preceded by adsorptive collection with the hanging mercury drop electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 177, 269-280 (1984a).

**Van den Berg** C. M. G. y **Nimmo** M. Determination of interactions of nickel with dissolved organic material in seawater using cathodic stripping voltammetry. *The science of the total environmental* 60, 185-195 (1987a).

**Van den Berg** C. M. G. y **Nimmo** M. Direct determination of uranium in water by cathodic stripping voltammetry. *Analytical Chemistry* 59, 924-928. (1987b).

**Vega** M. y **Van den Berg** C. M. G. Determination of vanadium in sea water by catalytic adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta* 293, 19-28 (1994).

**Vukomanovic** D. V. y **Vanloon** G. W. Voltammetric Determination of vanadium with adsorptive preconcentration of the pyrocatechol violet complex. *Talanta* 41, 387-394 (1994).

**Wang** J. Analytical Electrochemistry 3th Edition. New Jersey. Wiley-VCH. A John Wiley & Sons, Inc., Publication (2006).

**Wang** J. Electroanalytical Chemistry. Ed. A. J. Bard New York: Marcel Dekker (1989).

**Wu** Q. y **Batley** G. E. Determination of sub-nanomolar concentrations of lead in sea water by adsorptive stripping voltammetry with xylenol orange. *Analytica Chimica Acta* 309, 95-101 (1995).

**Yi** W. J., **Li** Y., **Ran** G., **Luo** H. Q. y **Li** N. B. Determination of cadmium(II) by square wave anodic stripping voltammetry using bismuth-antimony film electrode. *Sensors and Actuators B* 166-167, 544-548 (2012).

**Yokoi** K. y **Van den Berg** C. M. G. Simultaneous determination of titanium and molybdenum in natural waters by catalytic cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta* 257, 293-299 (1992).

**Zarei** K., **Atabati** M. y **Ilkhani** H. Catalytic adsorptive stripping voltammetry determination of ultra trace amount of molybdenum using factorial design for optimization. *Talanta* 69, 816-821 (2006).

**Zima** J. y **Van den Berg** C. M. G. Determination of arsenic in sea water by cathodic stripping voltammetry in the presence of pyrrolidine dithiocarbamate. *Analytica Chimica Acta* 289, 291-298 (1994).

## *CAPÍTULO IV*

---

### *ANÁLISIS DE HIERRO EN AGUAS POR VOLTAMETRÍA DE REDISOLUCIÓN CATÓDICA ADSORTIVA EMPLEANDO LA 2-HBBH*

---



## ***CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE HIERRO EN AGUAS POR VOLTAMPEROMETRÍA DE REDISOLUCIÓN CATÓDICA ADSORTIVA EMPLEANDO LA 2-HBBH***

---

### **RESUMEN**

Las técnicas electroquímicas de análisis de metales en agua de mar, en concreto las técnicas voltamperométricas de redisolución tanto anódica como catódica adsortiva, han demostrado numerosas ventajas, tal como se ha comentado anteriormente, combinando la rapidez de los análisis con una buena sensibilidad, bajo coste instrumental, capacidad para el análisis multielemental y buen comportamiento en el análisis de muestras con matriz salina, como es el agua de mar. En especial, el método voltamperométrico de redisolución catódica adsortiva (AdCSV) tiene unas excelentes características, sobre todo en cuanto a sensibilidad, para la determinación de metales en agua de mar.

En este sentido, y debido a la gran importancia que tiene el hierro en los ecosistemas acuáticos (ver apartado II.2. sobre el hierro en el medio ambiente) se propone en esta Tesis un nuevo método de análisis de este metal por AdCSV, utilizando la 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH) como agente

quelatante, empleando el electrodo de gota colgante de mercurio (HMDE) debido a las propiedades favorables que ofrece para el análisis de metales traza en aguas.

El interés de la 2-HBBH como ligando orgánico para su aplicación en la determinación de metales mediante AdCSV está basado en su capacidad complejante de iones metálicos [Yuan y col., 2001; Sazanovich y col., 2003; Lu y col., 2006]. Cabe destacar que ya ha sido utilizado en esta tesis, en el capítulo II. No obstante y hasta el momento, hay pocos trabajos sobre su aplicación en análisis de iones metálicos por voltamperometría. Estrella y col. ya demostraron la eficacia de este reactivo en la determinación simultánea de  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Bi}^{3+}$  y  $\text{Pb}^{2+}$  por AdCSV [Espada-Bellido y col., 2009].

#### IV.1. LA VOLTAMPEROMETRÍA DE REDISOLUCIÓN CATÓDICA ADSORTIVA EN EL ANÁLISIS DE HIERRO EN AGUAS

En el capítulo II se han descrito los métodos de determinación de hierro más frecuentes en aguas naturales, con especial énfasis en muestras complejas o con matriz salina, como el agua de mar (Tabla II.9). En este capítulo, sin embargo, se ha ampliado esta revisión con dedicación expresa a la técnica AdCSV, destacando los ligandos más usuales empleados hasta la fecha (Tabla IV.1).

A partir de los datos de la bibliografía puede verse el gran interés de esta técnica en el análisis de hierro en aguas. Por ello, y dada la versatilidad de la técnica voltamperométrica de redisolución catódica adsortiva, la búsqueda de nuevos agentes complejantes que mejoren las prestaciones electroanalíticas de éstos se justifica, no sólo en relación con el desarrollo de nuevos métodos de mayor sensibilidad para su determinación a nivel de trazas en agua de mar, sino por sus potenciales aplicaciones en los estudios de especiación.

Entre estos ligandos destacan las hidrazonas por sus interesantes propiedades que las hacen apropiadas para su aplicación como ligandos complejantes en la determinación de metales mediante AdCSV.

**Tabla IV.1.** Determinación de Fe por voltamperometría de redisolución catódica adsortiva

Especie	Ligando complejante	Electrodo	L.D <sup>a</sup> (nmol/L)	Aplicación	Referencia
Fe <sup>3+</sup>	Ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfónico (ANSA), Catecol	HMDE	0,6 (180 s)	Agua de mar	Van den berg y Huang, 1984
Fe <sup>3+</sup>	Violeta de solocromo RS (SVRS)	HMDE	0,7 (60 s)	Agua de mar y agua potable	Wang y Mahmoud, 1987
Fe <sup>3+</sup>	Violeta de solocromo RS (SVRS)	Electrodo de fibra de carbono	18	Agua potable	Hua y col., 1988
Fe <sup>3+</sup>	1-nitroso-2-naftol (1N2N)	MDE	0,2 (600 s)	Agua de mar	Van den Berg y col., 1991
Fe	1-nitroso-2-naftol (1N2N)	MDE	0,16 (60 s) 0,03 (600 s)	Agua de lago	Yokoi y Van den Berg, 1992
Fe <sup>3+</sup>	2,2-tiazolilazo-4-metilfenol	MDE	1,8	Agua dulce	Farias y col, 1992
Fe <sup>3+</sup> , Fe <sup>2+</sup>	1-nitroso-2-naftol (1N2N)	HMDE	Fe <sup>3+</sup> : 0,077 Fe <sup>2+</sup> : 0,12 (60 s)	Agua de mar	Gledhill y Van den Berg, 1995
Fe <sup>3+</sup>	Salicilaldoxima (SA)	MDE	7·10 <sup>-5</sup> (600 s)	Agua de mar	Rue y Bruland, 1995
Fe <sup>3+</sup>	N-benzoil-N-fenilhidroxilamina	HMDE	0,18 (600 s)	Agua de mar	Lu y col., 1995
Fe <sup>3+</sup>	1-nitroso-2-naftol (1N2N)	HMDE	3,6	Agua de mar	Abollino y col., 1995
Fe <sup>3+</sup>	αα-bipiridina	MGC/Nafion	0,358 (120 s)	Agua de fuente	Shuxun y col., 1995
Fe <sup>2+</sup>	KSCN/NaNO <sub>2</sub>	HMDE	0,72 (30 s)	Agua natural y muestras biológicas	Gao y Siow, 1996
Fe <sup>3+</sup>	Cupferrón	HMDE	3,6	Agua subterránea y agua de río	Wang y col., 1997
Fe <sup>3+</sup>	1-nitroso-2-naftol (1N2N)	HMDE	0,08 (30 s)	Agua de mar	Aldrich y Van den Berg, 1998

<sup>a</sup> El límite de detección está definido para el tiempo de deposición indicado

**BiFE:** Electrodo de película de bismuto; **CPE:** Electrodo de pasta de carbono; **HMDE:** Electrodo de gota colgante de mercurio; **MDE:** Electrodo de gota de mercurio; **MGC:** Electrodo de carbono vitrificado modificado; **SMDE:** Electrodo de gota estacionaria de mercurio



**Cont. Tabla IV.1.** Determinación de Fe por voltamperometría de redisolución catódica adsortiva

Especie	Ligando complejante	Electrodo	L.D <sup>a</sup> (nmol/L)	Aplicación	Referencia
Fe <sup>3+</sup>	2-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC)	SMDE	0,10 (300 s)	Agua de mar	Croot y Johansson, 2000
Fe <sup>3+</sup>	2,3-dihidroxinaftaleno (DHN)	HMDE	0,013 (60 s)	Agua de mar	Obata y Van den Berg, 2001
Fe <sup>3+</sup>	1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN)	BiFE	1,8 (60 s)	Agua de mar	Segura y col., 2008
Fe <sup>3+</sup>	2-(5'-bromo-2'-piridilazo)-5-dietilaminofenol (5-Br-PADAP)	CPE	1,7 (240 s)	Agua subterránea, agua potable y agua natural embotellada	Ghoneim, 2010
Fe	Dimetilgloxima (DMG), Catecol	HMDE	1,3 (900 s)	Agua de estuario y agua intersticial	Santos-Echeandía, 2011
Fe orgánico	Salicilaldoxima (SA), Dihidroxinaftaleno (DHN)	HMDE	-	Agua de mar	Laglera y col., 2011
Fe orgánico	1-nitroso-2-naftol (1N2N)	SMDE	Fe lábil: 0,15	Agua de lluvia	Cheize y col., 2012

<sup>a</sup> El límite de detección está definido para el tiempo de deposición indicado

**BiFE:** Electrodo de película de bismuto; **CPE:** Electrodo de pasta de carbono; **HMDE:** Electrodo de gota colgante de mercurio; **MDE:** Electrodo de gota de mercurio; **MGC:** Electrodo de carbono vitrificado modificado; **SMDE:** Electrodo de gota estacionaria de mercurio

#### IV.2. ESTUDIOS DE APLICABILIDAD DE LA 2-HBBH EN AdCSV

En el capítulo II se han descrito muchas de las propiedades de la 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH) como reactivo analítico y ligando complejante de iones metálicos. Por tanto, en este capítulo sólo se han incluido los estudios realizados sobre sus propiedades electroquímicas.

Para comenzar estos estudios, se exploró la capacidad de producir señales electroquímicas por voltamperometría de redisolución adsortiva de impulso diferencial (DP-AdCSV) en presencia de este ligando y diversos iones metálicos, destacando la respuesta que se obtuvo con el ion  $\text{Fe}^{3+}$ . Debido a que el reactivo no es muy soluble en agua, se disolvió previamente en etanol, para posteriormente ser adicionado a la celda electroquímica conteniendo la muestra acuosa. Se estudió la influencia del pH y la concentración del ligando 2-HBBH en la señal voltamperométrica, así como su comportamiento frente a las variables electroquímicas más características en AdCSV, como son el tiempo y el potencial de deposición, entre otras.

#### **IV.2.1. Características voltamperométricas de la 2-HBBH**

Como se ha señalado anteriormente, la 2-HBBH es un ligando que pertenece a la familia de las aroilhidrazonas. Estos compuestos muestran señales voltamperométricas durante su reducción después de su adsorción en la superficie del electrodo, dando lugar a diversos picos que pueden ser utilizados incluso para su determinación cuantitativa. Puesto que el pH ejerce una influencia muy notable en los procesos redox de la molécula de 2-HBBH, se han llevado a cabo una serie de experimentos para la determinación de los potenciales a los que aparecen las señales voltamperométricas del compuesto en función del pH del medio mediante DP-AdCSV. En estos estudios se utilizó una concentración de 2-HBBH de  $5 \times 10^{-5}$  mol/L, ajustando el pH con disolución reguladora Britton-Robinson en un rango de pH de 2,7 a 10. Los restantes parámetros electroquímicos fueron:

- Barrido de potencial: de 0 a -1,8 V.
- Velocidad de barrido ( $V_{\text{scan}}$ ): 0,06 V/s
- Tamaño de la gota de mercurio ( $d_s$ ): 6 u.a.
- Tiempo de purga con nitrógeno ( $t_{\text{purga}}$ ): 100 s
- Tiempo de impulso ( $t_p$ ): 40 s
- Salto de potencial ( $U_s$ ): 0,006 V

- Tiempo de salto de potencial ( $t_s$ ): 0,1 s
- Potencial de deposición ( $E_d$ ): 0 V
- Tiempo de deposición ( $t_d$ ): 60 s
- Tiempo de equilibración ( $t_{eq}$ ): 10 s
- Amplitud de impulso (P): 0,09 V
- Velocidad de agitación ( $v_{ag}$ ): 2000 rpm

En la **Tabla IV.2** se muestran los valores de potencial de las dos señales de reducción que produce la 2-HBBH, junto con los valores de la intensidad de cada señal en función del pH.

**Tabla IV.2.** Variación del potencial y de la intensidad de la señal de la 2-HBBH ( $5 \cdot 10^{-5}$  mol/L) en función del pH mediante DP-AdCSV

pH	1 <sup>er</sup> pico		2 <sup>do</sup> pico	
	E (-V)	I (-nA)	E (-V)	I (-nA)
2,70	0,74	867	-	-
4,05	0,84	884	-	-
5,00	1,00	1463	0,77	98,44
5,98	1,04	1480	0,75	67,2
7,42	1,38	799	0,78	41,67
8,20	1,44	574	0,78	43,33
9,16	1,56	431	0,78	64,22
10,00	1,56	292	0,84	63,33

Se observa como el ligando presenta un pico catódico alrededor de -0,74 V, el cual se desplaza hacia valores más negativos a medida que el pH aumenta (-1,56 V a pH 10). A la vez se va incrementando el valor de la intensidad hasta pH 5,98, a partir del cual vuelve a disminuir para valores más básicos. También se observa como

aparece otro segundo pico más pequeño a partir de pH 5. El desplazamiento del pico catódico a potenciales más negativos indica que los protones están involucrados en el proceso de reducción. En disoluciones ácidas, se produce la reducción del grupo azometino (C=N) mediante una transferencia de 4 electrones, dando lugar al primer pico. A pH > 5, se produce la reducción del 2-hidroxibenzaldehído formado mediante la hidrólisis de la hidracida, en cuyo caso participan dos electrones en la reacción de reducción dando lugar al segundo pequeño pico. Se puede decir que en la primera reducción se consumen dos protones y uno sólo en la segunda reducción. El grupo C=O permanece inactivo durante la reducción [Temerk y col., 1979]. En el caso de que el potencial del pico principal de la 2-HBBH interfiriese en la señal del complejo metálico, podría evitarse o al menos minimizarse si se selecciona un intervalo de pH apropiado, el cual debe cumplir el requisito de ser adecuado para la formación del complejo entre el metal y el ligando.

#### **IV.2.2. Comportamiento electroquímico de diversos metales en presencia de 2-HBBH**

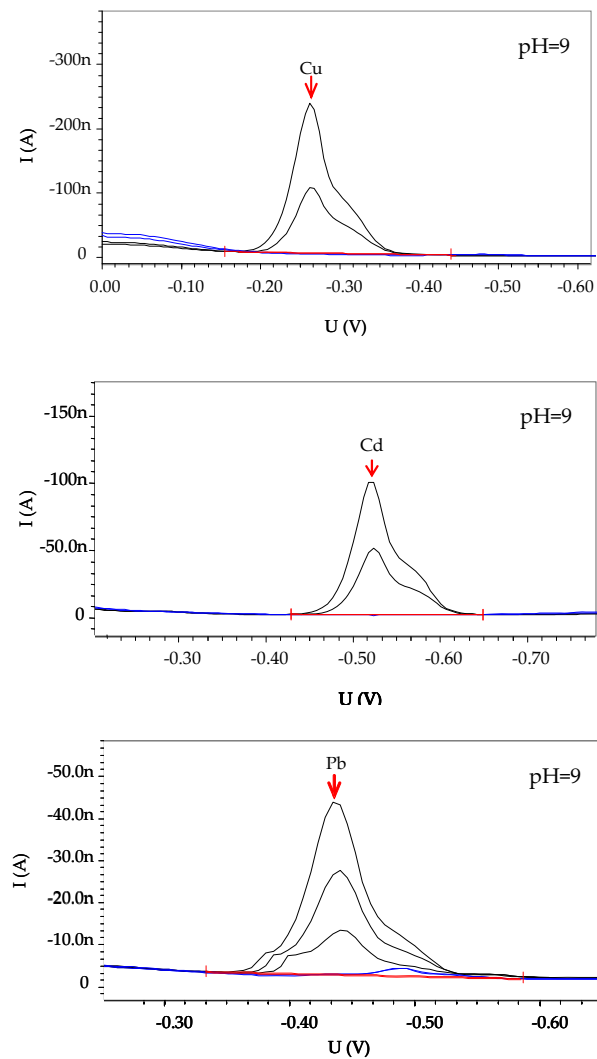
La capacidad de la 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona para la formación de complejos metálicos ha sido descrita con anterioridad. El ligando forma con facilidad complejos metálicos coloreados en disoluciones acuoetanólicas tamponadas, con V<sup>5+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Pd<sup>2+</sup>, Ga<sup>3+</sup>, Pb<sup>2+</sup> y Bi<sup>3+</sup> y en medio clorofórmico con Ni<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> y Cd<sup>2+</sup>. Partiendo de esta base se han efectuado diversos ensayos con varios metales mediante DP-AdCSV, teniendo en consideración que los niveles que presentan esos metales en el agua de mar natural son bastante pequeños, por lo que se pretende que la voltamperometría de redisolución catódica adsorptiva, usando HMDE, ofrezca sus mejores prestaciones en cuanto a sensibilidad y teniendo en cuenta que el interés biogeoquímico o toxicológico en agua de mar de esos metales sea importante. Los metales estudiados fueron Tl<sup>+</sup>, As<sup>5+</sup>, Ag<sup>+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Ti<sup>3+</sup>, V<sup>4+</sup>, V<sup>5+</sup> y Zn<sup>2+</sup>. Para ello se colocaron en la celda electroquímica 1 mL de disolución reguladora Britton-Robinson 1,5 mol/L y 45 µL de disolución etanólica de 2-HBBH de concentración 0,01 mol/L enrasando a 10 mL. Se aplicó un barrido de potencial hacia

valores negativos para registrar la línea base empleando las mismas condiciones instrumentales del apartado IV.2.1. Una vez obtenida la señal de fondo, se procedió a realizar adiciones de 100  $\mu\text{L}$  de disolución patrón de concentración 1 mg/L de metal a la disolución de reactivo en la celda. Se detectaron señales electroquímicas de una gran sensibilidad que crecían con las adiciones metálicas para los complejos de  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ti}^{3+}$ ,  $\text{V}^{4+}$  y  $\text{V}^{5+}$ , en presencia de 2-HBBH (**Tabla IV.3**), demostrando las excelentes características adsorptivas que presenta este reactivo para la determinación por AdCSV de estos iones metálicos. Durante la etapa de preconcentración los complejos metal-ligando eran acumulados sobre el electrodo de trabajo, debido a las características adsorptivas del complejo y durante el barrido, los iones metálicos de los complejos adsorbidos eran reducidos, produciendo la señal electroquímica.

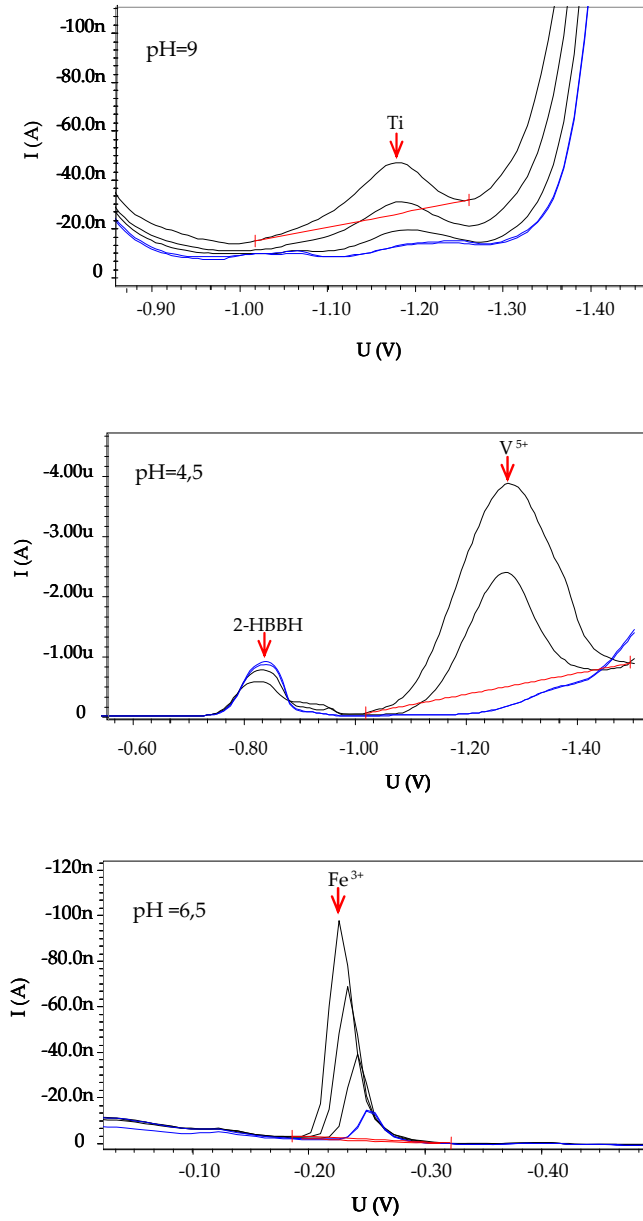
**Tabla IV.3.** Estudio cualitativo de la señal producida por DP-AdCSV con 2-HBBH y diversos metales

Metal	pH	Señal
$\text{Tl}^+$	1,7 - 10	No
$\text{As}^{5+}$	1,7 - 8,13	No
$\text{Ag}^+$	4 - 10	No
$\text{Fe}^{3+}$	2 - 4	No
	6,5	Si
$\text{Cu}^{2+}$	4 - 9	Si
$\text{Mn}^{2+}$	4	No
$\text{Cd}^{2+}$	4,5 - 9	Si
$\text{Pb}^{2+}$	4,5 - 9	Si
$\text{Cr}^{3+}$	4,88	No
$\text{Co}^{2+}$	4,88	No
$\text{Ni}^{2+}$	4,5	No
$\text{Ti}^{3+}$	4,5 - 9	Si
$\text{V}^{4+}$	4,88 - 9	Si
$\text{V}^{5+}$	4,88 - 9	Si
$\text{Zn}^{2+}$	4,88	No

En las **Figuras IV.1** y **IV.2** pueden verse los voltamperogramas obtenidos para cada uno de estos metales. Se observa que para todos los iones metálicos que han producido señal por AdCSV, ésta no solapa con la producida por la 2-HBBH, por lo que el ligando no interfiere en la señal del metal.



**Figura IV.1.** Voltamperogramas de disoluciones de 2-HBBH  $4,5 \cdot 10^{-5}$  mol/L (azul) y adiciones de metal (Cu, Cd y Pb) de 10  $\mu\text{g/L}$  (negro) (Condiciones instrumentales:  $E_a=0$  V;  $t_a=60$  s;  $d_s=6$  u.a.;  $P=90$  mV;  $U_s=6$  mV y  $v_{scan}=60$  mV/s)



**Figura IV.2.** Voltamperogramas de disoluciones de 2-HBBH  $4,5 \cdot 10^{-5}$  mol/L (azul) y adiciones de metal (Ti, V y Fe) de 10  $\mu\text{g/L}$  (negro) (Condiciones instrumentales:  $E_d=0$  V;  $t_d=60$  s;  $d_s=6$  u.a.;  $P=90$  mV;  $U_s=6$  mV y  $v_{scan}=60$  mV/s)

De entre estos metales, se optó por el desarrollo de un método voltamperométrico para determinar hierro, por su mencionada importancia medioambiental.

Antes de empezar estos estudios, se pudo comprobar como en ausencia de ligando en el medio electrolítico no aparecía la señal correspondiente a  $\text{Fe}^{3+}$ , y que la adición de la 2-HBBH a la disolución de  $\text{Fe}^{3+}$  daba lugar a un pico de reducción del complejo metálico formado entre  $\text{Fe}^{3+}$  en la muestra y 2-HBBH añadido.

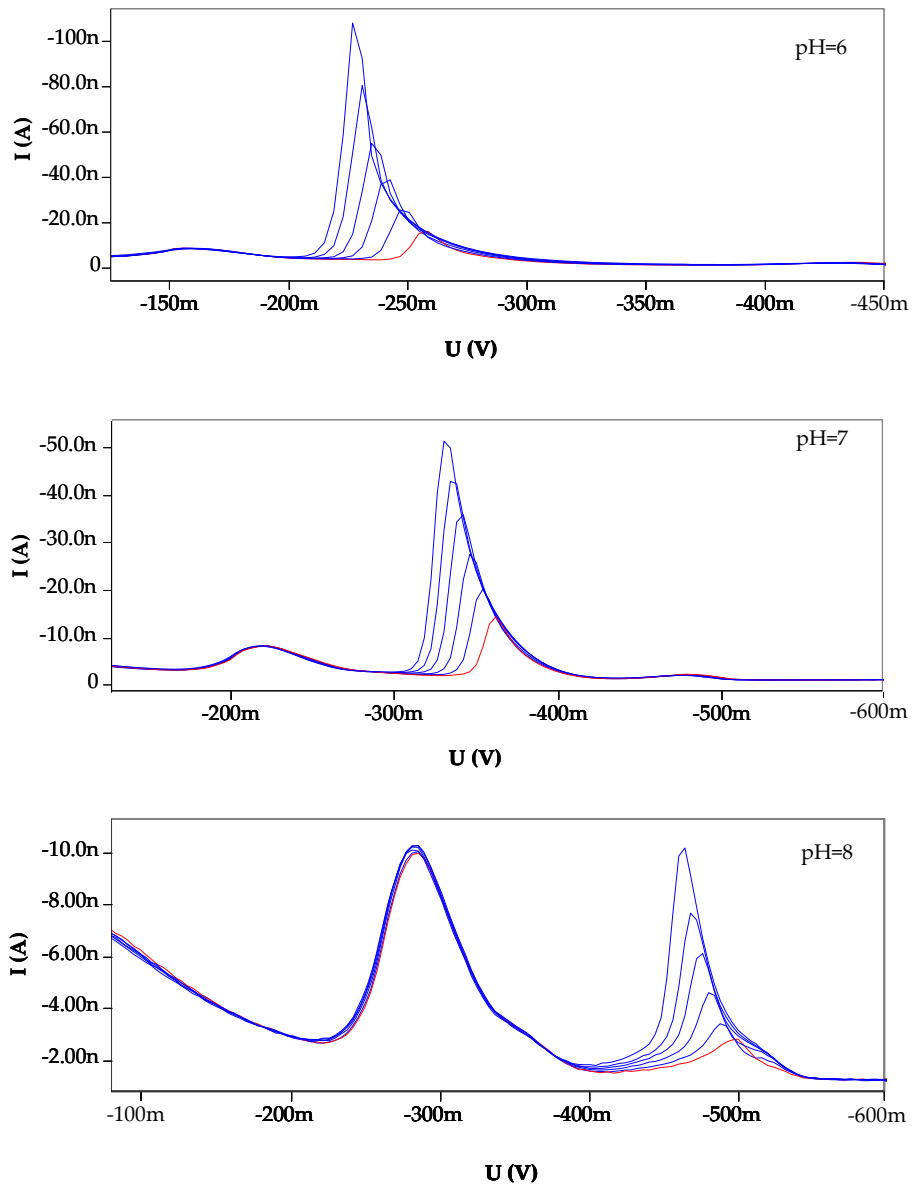
#### **IV.2.3. Influencia del electrolito en el comportamiento electroquímico del ión $\text{Fe}^{3+}$ en presencia de 2-HBBH**

Dado que el pH es una variable que influye notablemente en las propiedades ácido-base, complejantes y electroquímicas del reactivo 2-HBBH, se procedió a estudiar la influencia de este parámetro, modificando los valores de pH del electrolito con diferentes disoluciones reguladoras Britton-Robinson (B.R.), Pipes y Hepes, en el rango de 5 a 8, según el intervalo de aplicabilidad de cada reguladora.

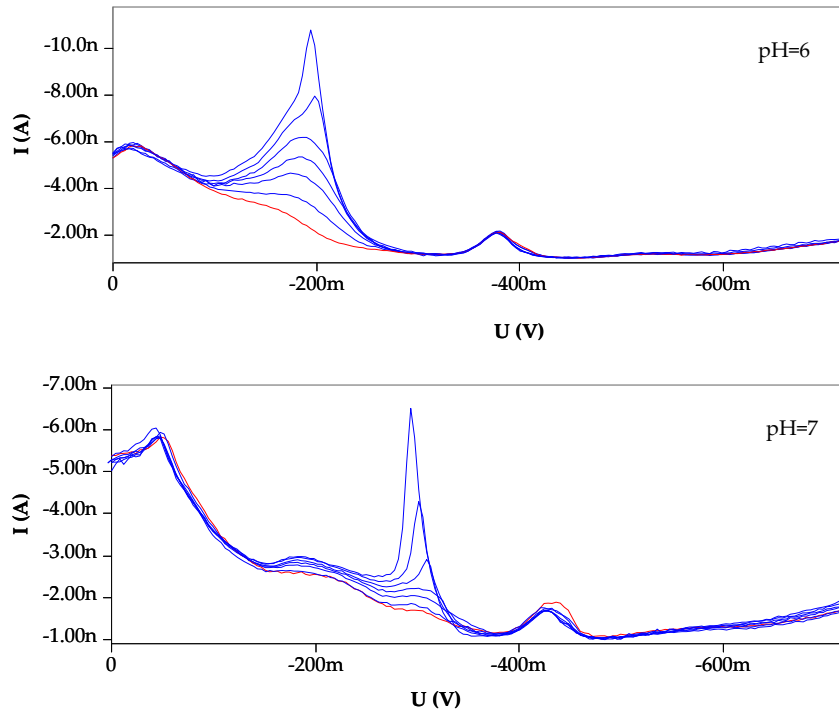
Para ello se prepararon disoluciones de reactivo 2-HBBH de concentración de  $4,5 \cdot 10^{-5}$  mol/L, conteniendo disolución reguladora, a las cuales se les fueron añadiendo adiciones de 5  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Fe}^{3+}$ . Para ello, se siguió el procedimiento descrito en el apartado IV.2.2, siendo la concentración de la disolución reguladora en las muestras de: 0,15 mol/L de Britton-Robinson, 0,05 mol/L de Pipes y 0,05 mol/L de Hepes. Las condiciones instrumentales para las medidas electroquímicas fueron las siguientes: potencial de deposición 0 V, tiempo de deposición 60 s, tamaño de gota 6 u.a., amplitud de impulsos 90 mV, salto de potencial 6 mV y velocidad de barrido 60 mV/s.

En las **Figuras IV.3, IV.4 y IV.5** se muestran los voltamperogramas de estas disoluciones para las tres reguladoras estudiadas, y en la **Figura IV.6** se ha representado la variación de la intensidad y el potencial de la señal de  $\text{Fe}^{3+}$  en función del pH utilizando la disolución reguladora Britton-Robinson pues proporcionaba mejor intensidad.

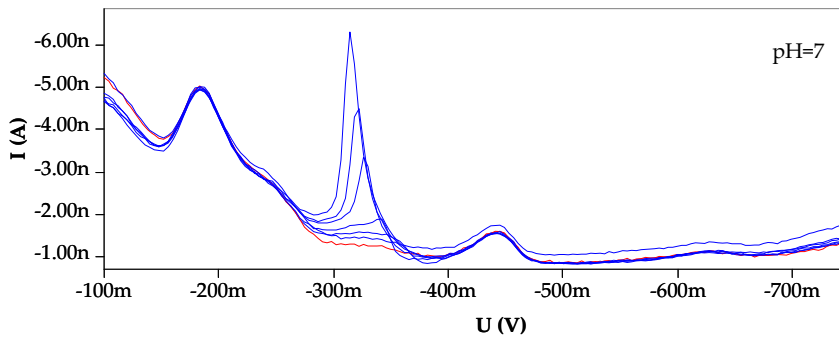




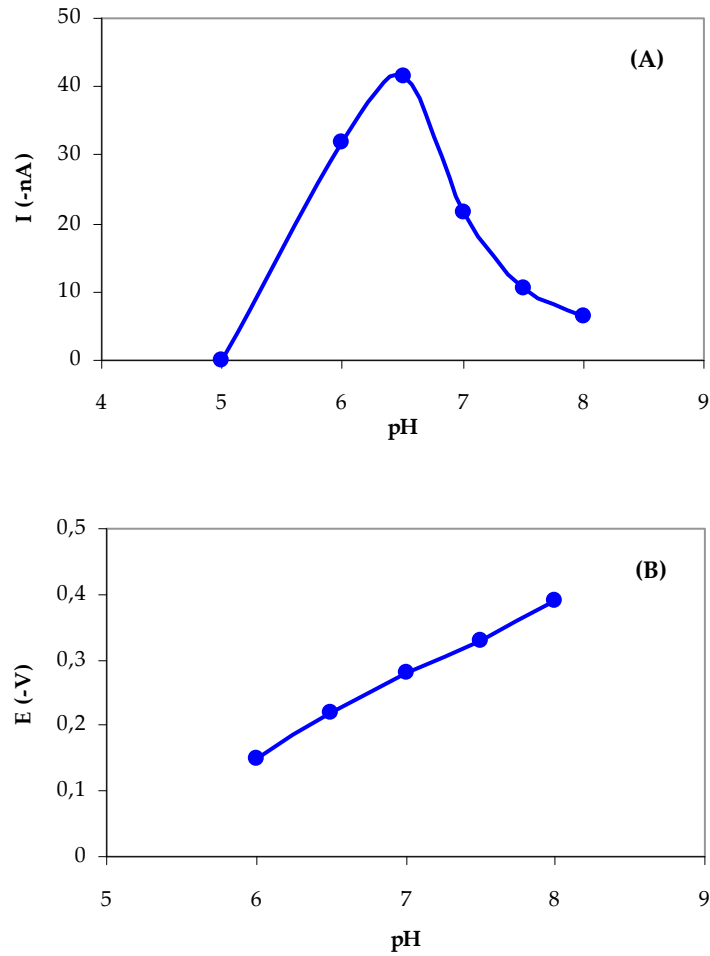
**Figura IV.3.** Señal voltamperométrica del complejo metálico  $Fe^{3+}$ -2-HBBH ajustado con disolución reguladora Britton-Robinson 0,15 mol/L a pH 6, 7 y 8 (2-HBBH  $4,5 \cdot 10^{-5}$  mol/L; adiciones de  $5 \mu\text{g/L}$  de  $Fe^{3+}$ )



**Figura IV.4.** Señal voltamperométrica del complejo metálico  $Fe^{3+}$ -2-HBBH ajustado con disolución reguladora PIPES 0,05 mol/L a pH 6 y 7 (2-HBBH  $4,5 \cdot 10^{-5}$  mol/L; adiciones de 5  $\mu\text{g/L}$  de  $Fe^{3+}$ )



**Figura IV.5.** Señal voltamperométrica del complejo metálico  $Fe^{3+}$ -2-HBBH ajustado con disolución reguladora HEPES 0,05 mol/L a pH 7 (2-HBBH  $4,5 \cdot 10^{-5}$  mol/L; adiciones de 5  $\mu\text{g/L}$  de  $Fe^{3+}$ )

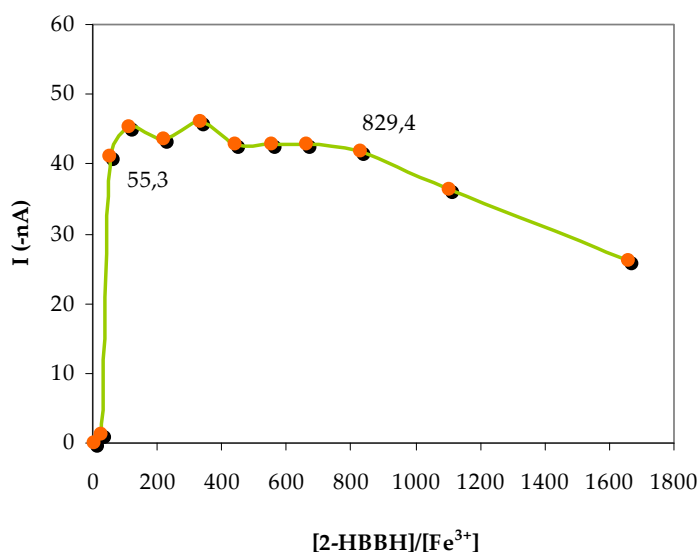


**Figura IV.6.** Efecto del pH sobre la intensidad (A) y el potencial (B) del pico de  $Fe^{3+}$ -2-HBBH ajustado el pH con disolución reguladora B.R. 0,15 mol/L ( $Fe^{3+}$  4,5  $\mu$ g/L; 2-HBBH  $4,5 \cdot 10^{-5}$  mol/L; Condiciones instrumentales:  $t_d=90$  s;  $E_d=-0,186$  V;  $P=50$  mV;  $U_s=6$  mV y  $d_s=4$  u.a.)

Como puede apreciarse, el pH ejerce una notable influencia sobre la intensidad y el potencial del pico correspondiente al complejo  $Fe^{3+}$ -2-HBBH, desplazándolo hacia potenciales más negativos a medida que el valor de pH de la disolución de electrolito

crece. Hay que destacar también que la señal se va desplazando ligeramente en las sucesivas adiciones de metal y que la intensidad parece tener un máximo en torno a un valor de pH de 6,5.

En estas condiciones, se estudió la influencia de la cantidad de reactivo en la señal electroquímica variando la relación molar reactivo/metal en la celda. De esta forma, y para una concentración fija de metal de 4,5 µg/L (0,08 µmol/L de Fe<sup>3+</sup>), se fue variando la del ligando en una disolución tamponada por la disolución B.R. a un pH de 6,5. La **Figura IV.7** muestra la representación de la intensidad del pico del complejo Fe<sup>3+</sup>-2-HBBH frente a la relación [2-HBBH]/[Fe<sup>3+</sup>]. En dicha figura se puede observar que a partir de una relación molar [2-HBBH]:[Fe<sup>3+</sup>] ≅ 55:1 se produce una estabilización de la intensidad de la señal del complejo, con unos valores de intensidad entre 41 y 46 nA, y que por encima de la relación molar [2-HBBH]:[Fe<sup>3+</sup>] ≅ 830:1, la intensidad del complejo vuelve a disminuir por el exceso de reactivo que se deposita en la gota de mercurio impidiendo la adsorción del complejo metálico.



**Figura IV.7.** Efecto de la variación de la concentración de 2-HBBH sobre la intensidad del pico de Fe<sup>3+</sup>-2-HBBH (Disolución reguladora B.R. 0,15 mol/L a pH 6,5; Fe<sup>3+</sup> 4,5 µg/L; Condiciones instrumentales:  $t_d=90$  s,  $E_d=-0,186$  V,  $P=50$  mV,  $U_s=6$  mV y  $d_s=4$  u.a.)

Conocido el valor de pH más adecuado para la medida de Fe<sup>3+</sup> por AdCSV, se estudiaron otras disoluciones reguladoras con capacidad tamponante a valores próximos a 6,5. Los tampones seleccionados para este estudio fueron: NH<sub>4</sub>Ac/HCl, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/NaCl y la reguladora MES (ácido 2-(N-Morfolino) etanosulfónico). Los resultados obtenidos fueron comparados con los obtenidos para la disolución B.R.

Los experimentos se realizaron a pH 6,5 para una disolución de 4,5·10<sup>-5</sup> mol/L del reactivo quelatante empleando un potencial de deposición de -0,186 V durante 90 s. Después de producir la línea base obtenida en ausencia de metal, se añadió a la celda electroquímica 4,5 µg/L de Fe<sup>3+</sup> para registrar la señal del complejo metálico formado.

Como se puede observar en la **Tabla IV.4**, las reguladoras NH<sub>4</sub>Ac/HCl y KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/NaCl presentaron unas sensibilidades aproximadamente iguales a la obtenida para la disolución Britton-Robinson. Por su parte, la disolución de MES produjo una señal pequeña.

**Tabla IV.4.** Influencia de la naturaleza de la disolución reguladora (pH 6,5) en la intensidad de la señal voltamperométrica de Fe<sup>3+</sup>-2-HBBH

Disolución reguladora empleada	I (-nA)
B.R.	42,35
NH <sub>4</sub> Ac/HCl	42,60
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /NaCl	40,93
MES	9,98

Por otro lado, las líneas base (rojo) se ven afectadas por la naturaleza del sistema tamponante utilizado, tal y como se observa en la **Figura IV.8**. Las disoluciones reguladoras NH<sub>4</sub>Ac/HCl, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/NaCl y MES producen registros voltamperométricos más limpios y libres de interferencias en los potenciales de interés. Hay que destacar que la presencia de metales como el hierro en la propia composición de la disolución

Britton-Robinson como impurezas, puede ser la causa de que se obtenga un pico en el voltamperograma en la zona de potenciales en la que aparece el complejo del metal en cuestión, lo que puede provocar un exceso de ruido de fondo. Por consiguiente, se optó por utilizar  $\text{NH}_4\text{Ac}/\text{HCl}$  como disolución reguladora del sistema propuesto.

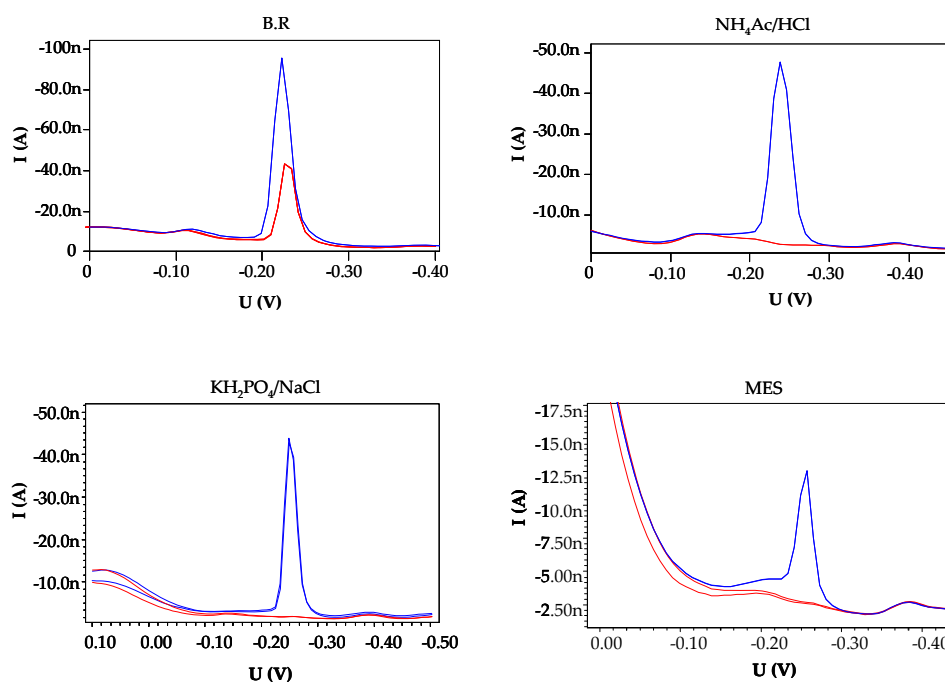


Figura IV.8. Efecto de la naturaleza de la disolución reguladora (pH 6,5) en la señal voltamperométrica del complejo metálico  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH

### IV.3. CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DE LA 2-HBBH Y DE SU COMPLEJO METÁLICO CON $\text{Fe}^{3+}$

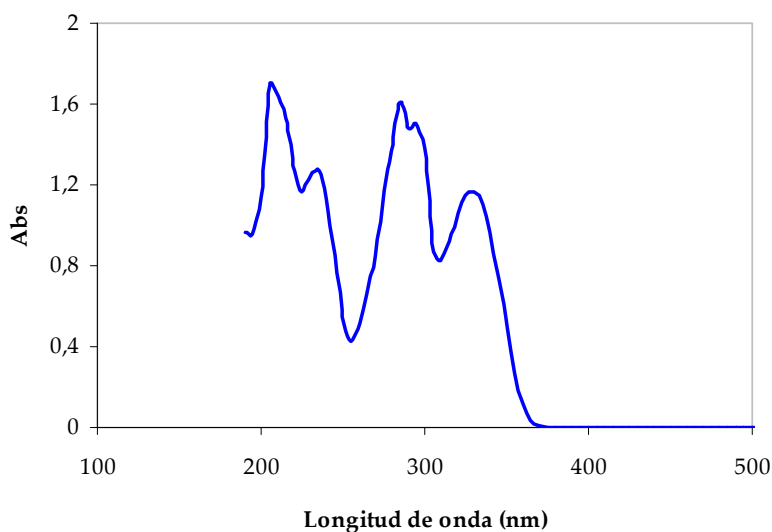
Previamente a la optimización del método de análisis de hierro por DP-AdCSV utilizando el ligando 2-HBBH, se estudiaron espectrofotométricamente algunas características analíticas de este reactivo y de su complejo con el hierro en disolución a

pH 6,5. En el capítulo II ya se describieron algunas de sus propiedades; aquí se completarán en otras condiciones químicas.

#### IV.3.1. Estabilidad de la disolución etanólica de la 2-HBBH

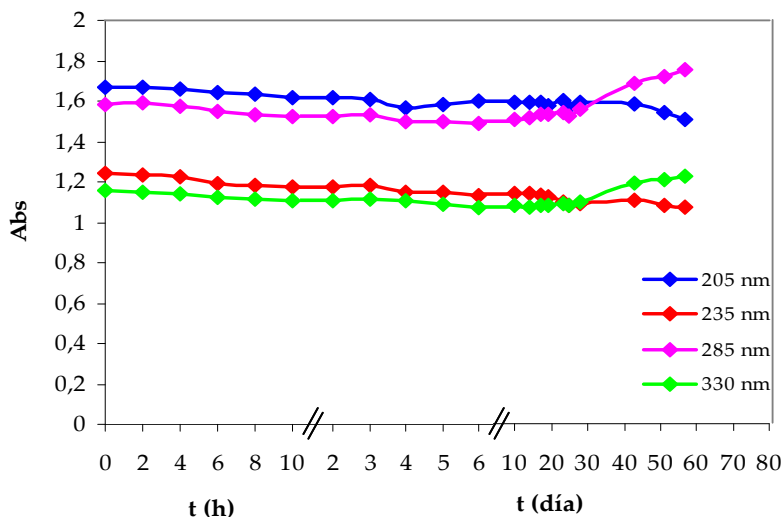
Con objeto de comprobar el tiempo que puede ser almacenada la disolución etanólica del reactivo 2-HBBH para su utilización en AdCSV como ligando complejante de iones metálicos, se estudió su estabilidad registrando el espectro de absorción de esta disolución a diferentes intervalos de tiempo.

Para ello, se preparó una disolución stock de  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L, disolviendo la cantidad adecuada de reactivo 2-HBBH en etanol con ayuda de ultrasonidos, y por dilución se obtuvo una disolución de concentración  $8 \cdot 10^{-6}$  mol/L, adecuada para registrar el espectro del reactivo estudiado frente a un blanco de etanol. Como puede verse en la **Figura IV.9**, se podían distinguir cuatros bandas de absorción a 205, 235, 285 y 330 nm respectivamente, que fueron utilizadas para evaluar la estabilidad del ligando 2-HBBH.



**Figura IV.9.** Espectro de absorción molecular UV-Vis de una disolución de 2-HBBH  $8 \cdot 10^{-6}$  mol/L en etanol

En la **Figura IV.10** se encuentran representados los valores de absorbancia frente al tiempo, donde se puede comprobar que la disolución etanólica de la 2-HBBH es estable al menos durante un mes.



**Figura IV.10.** Estabilidad de una disolución de 2-HBBH  $8 \cdot 10^{-6}$  mol/L en etanol

#### IV.3.2. Estabilidad del complejo $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH en disolución acuoetanólica

De la misma manera se evaluó la estabilidad del complejo metálico  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH en disolución acuoetanólica registrando el espectro de dicho complejo a diferentes intervalos de tiempo, en un rango de longitud de onda de 190 a 600 nm.

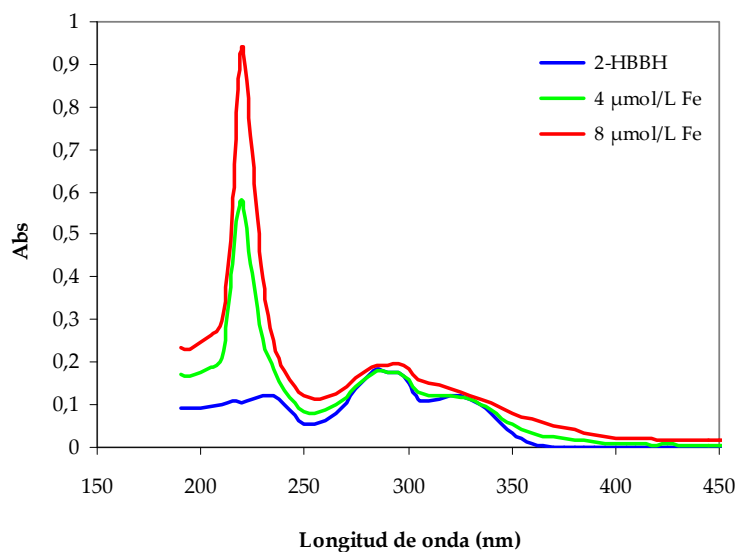
La disolución de reactivo se preparó adicionando en un matraz de 25 mL: 0,1 mL de una disolución stock de 2-HBBH  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L en etanol para tener una concentración de  $8 \cdot 10^{-6}$  mol/L de reactivo, y 2,5 mL de la disolución reguladora  $\text{NH}_4\text{Ac}/\text{HCl}$  1 mol/L para regular el pH de la muestra a 6,5. El contenido del matraz se enrasó a 25 mL con agua desionizada (Milli-Q).

La disolución del complejo se preparó adicionando en un matraz de 25 mL los siguientes reactivos: 0,1 mL de 2-HBBH  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L en etanol; 2,5 mL de la disolución



reguladora  $\text{NH}_4\text{Ac}/\text{HCl}$  1 mol/L a pH 6,5 y 0,05 mL de  $\text{Fe}^{3+}$   $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L para obtener una concentración de  $8 \cdot 10^{-6}$  mol/L de ligando y  $4 \cdot 10^{-6}$  mol/L de metal.

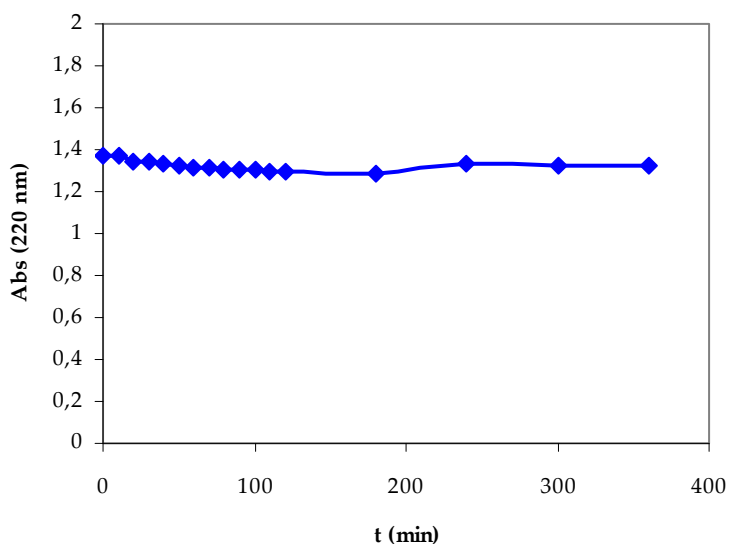
Ambas disoluciones se midieron frente a un blanco preparado con 0,1 mL de etanol y 2,5 mL de la disolución reguladora  $\text{NH}_4\text{Ac}/\text{HCl}$  1 mol/L a pH 6,5 en un volumen total de 25 mL enrasado con agua Milli-Q. En la **Figura IV.11** se recoge el espectro del reactivo 2-HBBH y del complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH, con un máximo de absorción a 220 nm, que crece con la adición de metal.



**Figura IV.11.** Espectro de absorción UV-Vis de la disolución de  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH (2-HBBH  $8 \cdot 10^{-6}$  mol/L)

Una vez determinada la longitud de onda donde el complejo presentaba una absorción máxima, se pasó a estudiar su estabilidad con el tiempo. En la **Figura IV.12** se muestra la evolución con el tiempo de la absorbancia del complejo metálico formado a partir de  $1,6 \cdot 10^{-5}$  mol/L de 2-HBBH y  $8 \cdot 10^{-6}$  mol/L de  $\text{Fe}^{3+}$  a pH 6,5. Como se puede

comprobar, este complejo se mantuvo estable durante al menos 6 horas después de su preparación.



**Figura IV.12.** Estabilidad del complejo  $Fe^{3+}$ -2-HBBH en disolución acuotánolica a pH 6,5 ( $NH_4Ac/HCl$  0,1 mol/L; 2-HBBH  $1,6 \cdot 10^{-5}$  mol/L;  $Fe^{3+}$   $8 \cdot 10^{-6}$  mol/L)

### IV.3.3. Estequiometría del complejo $Fe^{3+}$ -2-HBBH

Para determinar la estequiometría que presenta el complejo metálico  $Fe^{3+}$ -2-HBBH en disolución acuotánolica a pH 6,5 se aplicaron el método de la razón molar y el de las variaciones continuas de Job.

#### IV.3.3.1. Método de la razón molar

Este método, como se ha comentado anteriormente, consiste en la medición de la señal espectrofotométrica del complejo metal-ligando en una serie de disoluciones en las que se mantiene constante la concentración analítica de uno de los reactivos, mientras que se varía la del otro [Skoog y col., 2005].

**a) Metal constante**

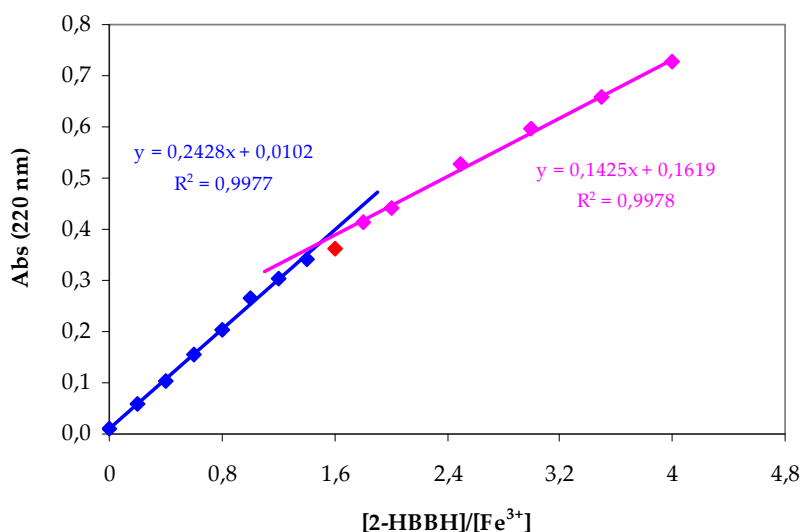
Se empezó por la aplicación del método de la razón molar manteniendo constante la concentración de metal y variando la concentración de reactivo. Las disoluciones se prepararon adicionando los volúmenes de reactivos que se indican en la **Tabla IV.5** en un volumen total de 10 mL, utilizando disolución reguladora  $\text{NH}_4\text{Ac}/\text{HCl}$  1 mol/L de pH 6,5; y disoluciones stock de  $\text{Fe}^{3+}$  y de 2-HBBH  $4 \cdot 10^{-4}$  mol/L. Para evitar diferencias de matriz, todas las disoluciones contenían un 20% de etanol (v/v). La absorbancia de todas estas disoluciones se midió a 220 nm frente a un blanco preparado de igual forma sin contener metal ni reactivo.

**Tabla IV.5.** Composición de las disoluciones utilizadas para la determinación de la estequiometría del complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH aplicando el método de la razón molar: Metal constante (volumen final = 10 mL)

Muestra	$V_T$	$V_{\text{Fe}}$	$V_{2\text{-HBBH}}$	$V_{\text{ET}}$	$R_{2\text{-HBBH}/\text{Fe}}$	Abs 220 nm
1	1	0,5	0	2	0	0,012
2	1	0,5	0,1	1,9	0,2	0,057
3	1	0,5	0,2	1,8	0,4	0,102
4	1	0,5	0,3	1,7	0,6	0,156
5	1	0,5	0,4	1,6	0,8	0,204
6	1	0,5	0,5	1,5	1	0,264
7	1	0,5	0,6	1,4	1,2	0,304
8	1	0,5	0,7	1,3	1,4	0,342
9	1	0,5	0,8	1,2	2,6	0,362
10	1	0,5	0,9	1,1	1,8	0,414
11	1	0,5	1	1	2	0,443
12	1	0,5	1,25	0,75	2,5	0,526
13	1	0,5	1,5	0,5	3	0,596
14	1	0,5	1,75	0,25	3,5	0,658
15	1	0,5	2	0	4	0,728

$V_T$ : Volumen de tampón  $\text{NH}_4\text{Ac}/\text{HCl}$  1 mol/L de pH 6,5;  $V_{\text{Fe}}$ : volumen de  $\text{Fe}^{3+}$   $4 \cdot 10^{-4}$  mol/L;  $V_{2\text{-HBBH}}$ : volumen de 2-HBBH  $4 \cdot 10^{-4}$  mol/L;  $V_{\text{ET}}$ : Volumen de etanol;  $R_{2\text{-HBBH}/\text{Fe}}$ : relación molar de 2-HBBH/ $\text{Fe}^{3+}$

La **Figura IV.13** recoge los resultados obtenidos tras aplicar el método de la razón molar con la concentración de metal constante. Como se puede apreciar, el cruce de las dos líneas que se obtienen por regresión lineal de los puntos experimentales delimita un punto de corte que corresponde a un valor de 1,5 para la relación molar 2-HBBH/ $\text{Fe}^{3+}$ , lo que quiere decir que la estequiometría más probable de este complejo es de 3:2 ligando:metal.



**Figura IV.13.** Aplicación del método de la razón molar (metal constante) en el cálculo de la estequiometría del complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH ( $\lambda=220$  nm)

**b) Reactivo constante**

En este caso se mantuvo constante la concentración de reactivo, la 2-HBBH, y se fue incrementando la concentración de  $\text{Fe}^{3+}$ . En la **Tabla IV.6** se recoge la composición de cada una de las disoluciones empleadas para la determinación de la estequiometría del complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH. En la **Tabla IV.7** se muestra la composición de las disoluciones de blancos correspondientes, realizando correcciones para las muestras en

las que el reactivo se encuentra en exceso, ya que a la longitud de onda de medida también absorbe el reactivo.

**Tabla IV.6.** Composición de las disoluciones utilizadas para la determinación de la estequiometría del complejo  $Fe^{3+}$ -2-HBBH aplicando el método de la razón molar: Reactivo constante (volumen final = 10 mL)

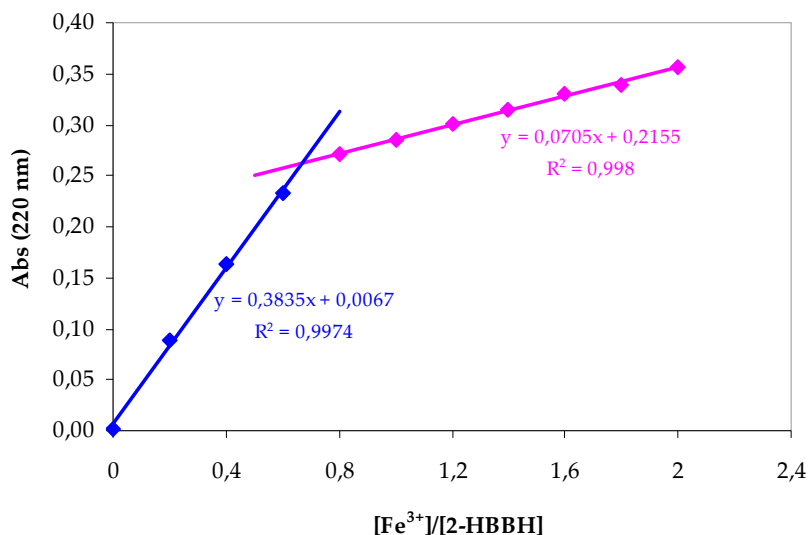
Muestra	V <sub>T</sub>	V <sub>Fe</sub>	V <sub>2-HBBH</sub>	R <sub>Fe/2-HBBH</sub>	Abs 220 nm
1	1	0	1	0	0,002
2	1	0,2	1	0,2	0,089
3	1	0,4	1	0,4	0,163
4	1	0,6	1	0,6	0,233
5	1	0,8	1	0,8	0,271
6	1	1	1	1	0,286
7	1	1,2	1	1,2	0,301
8	1	1,4	1	1,4	0,315
9	1	1,6	1	1,6	0,330
10	1	1,8	1	1,8	0,340
11	1	2	1	2	0,357

V<sub>T</sub>: Volumen de tampón NH<sub>4</sub>Ac/HCl: 1 mol/L de pH 6,5; V<sub>Fe</sub>: volumen de Fe<sup>3+</sup> 2·10<sup>-4</sup> mol/L; V<sub>2-HBBH</sub>: volumen de 2-HBBH 2·10<sup>-4</sup> mol/L; V<sub>Et</sub>: Volumen de etanol; R<sub>Fe/2-HBBH</sub>: relación molar de Fe<sup>3+</sup>/2-HBBH

**Tabla IV.7.** Composición de las disoluciones utilizadas como blancos para las muestras de la **Tabla IV.6**

Muestra	V <sub>T</sub>	V <sub>Fe</sub>	V <sub>2-HBBH</sub>	V <sub>Et</sub>
1	1	0	1	0
2	1	0	0,7	0,3
3	1	0	0,4	0,6
4	1	0	0,1	0,9
5-11	1	0	0	1

La representación de los resultados obtenidos (**Figura IV.14**) para el método de la razón molar con reactivo constante da lugar a dos rectas que se cortan en una relación  $\text{Fe}^{3+}/2\text{-HBBH}$  de 0,67, característica del complejo 2:3 metal:ligando. Por tanto, por ambos métodos se obtuvo la misma estequiometría para el complejo  $\text{Fe}^{3+}\text{-2-HBBH}$  de 3 moléculas de ligando por cada 2 iones de metal.



**Figura IV.14.** Aplicación del método de la razón molar (reactivo constante) en el cálculo de la estequiometría del complejo  $\text{Fe}^{3+}\text{-2-HBBH}$  ( $\lambda=220\text{ nm}$ )

#### IV.3.3.2. Método de las variaciones continuas de Job

Igualmente se aplicó el método de las variaciones continuas que consiste en la medición de la señal espectrofotométrica del complejo metal-ligando en una serie de disoluciones, en las que las proporciones de sus concentraciones respectivas se varían gradualmente desde una disolución que contiene únicamente ligando hasta una disolución que contiene sólo metal [Kirkbright y col., 1965] (Tabla IV.8). En este caso también se realizaron algunas correcciones a la hora de preparar las disoluciones de blancos para las muestras en las que el reactivo se adicionaba en exceso (Tabla IV.9).

**Tabla IV.8.** Composición de las disoluciones utilizadas para la determinación de la estequiometría del complejo  $Fe^{3+}$ -2-HBBH aplicando el método de las variaciones continuas. Concentración total (M+L):  $8 \cdot 10^{-5}$  mol/L (volumen final = 10 mL)

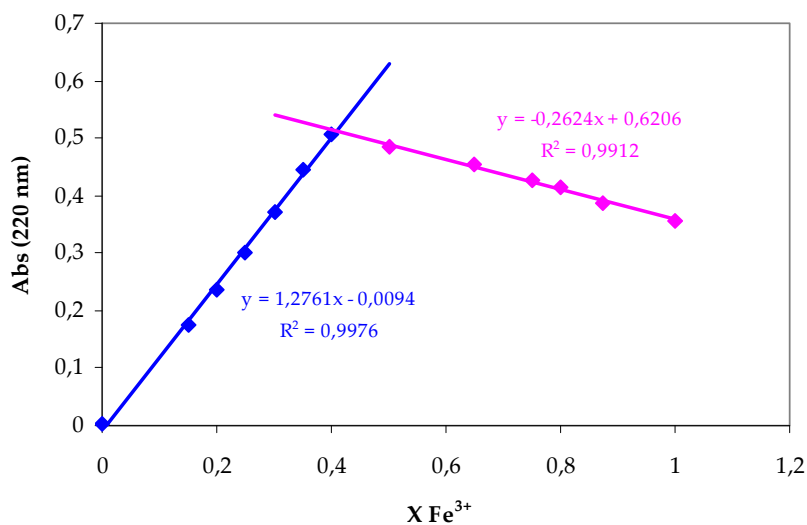
Muestra	V <sub>T</sub>	V <sub>Fe</sub>	V <sub>2-HBBH</sub>	V <sub>Et</sub>	X <sub>Fe</sub>	Abs <sub>220 nm</sub>
1	1	0	2	0	0	0,002
2	1	0,3	1,7	0,3	0,15	0,175
3	1	0,4	1,6	0,4	0,20	0,237
4	1	0,5	1,5	0,5	0,25	0,301
5	1	0,6	1,4	0,6	0,30	0,373
6	1	0,7	1,3	0,7	0,35	0,508
7	1	1	1	1	0,50	0,484
8	1	1,3	0,7	1,3	0,65	0,454
9	1	1,5	0,5	1,5	0,75	0,427
10	1	1,6	0,4	1,6	0,80	0,415
11	1	1,75	0,25	1,75	0,875	0,388
12	1	2	0	2	1	0,355

V<sub>T</sub>: Volumen de tampón NH<sub>4</sub>Ac/HCl 1 mol/L de pH 6,5; V<sub>Fe</sub>: volumen de Fe<sup>3+</sup> 4·10<sup>-4</sup> mol/L; V<sub>2-HBBH</sub>: volumen de 2-HBBH 4·10<sup>-4</sup> mol/L; V<sub>Et</sub>: Volumen de etanol; X<sub>Fe</sub>: fracción molar de Fe<sup>3+</sup>

**Tabla IV.9.** Composición de las disoluciones utilizadas como blancos para las muestras de la **Tabla IV.8**

Muestra	V <sub>T</sub>	V <sub>Fe</sub>	V <sub>2-HBBH</sub>	V <sub>Et</sub>
1	1	0	2	0
2	1	0	1,25	0,75
3	1	0	1	1
4	1	0	0,75	1,25
5	1	0	0,5	1,5
6	1	0	0,25	1,75
7-12	1	0	0	1

La **Figura IV.15** muestra los resultados de la aplicación del método de las variaciones continuas, midiendo los valores de absorbancia a 220 nm. Como se aprecia en dicha figura, las dos líneas obtenidas por regresión lineal de los puntos experimentales se cruzan en un punto de corte que corresponde a la fracción molar de hierro de aproximadamente 0,4 ( $X_{Fe}=0,41 \approx 2/5=2/(2+3)$ ), fracción correspondiente a 2 moléculas de  $Fe^{3+}$  y 3 de 2-HBBH. Este resultado confirma la estequiometría 2:3 metal:ligando determinada por el método de la razón molar.



**Figura IV.15.** Aplicación del método de las variaciones continuas al cálculo de la estequiometría del complejo  $Fe^{3+}$ -2-HBBH. Concentración total (M+L):  $8 \cdot 10^{-5}$  mol/L

De igual forma, se aplicó el método de las variaciones continuas utilizando la mitad de las concentraciones de metal y del ligando empleadas en el estudio anterior. La composición de las disoluciones de este estudio y sus blancos correspondientes está detallada en las **Tablas IV.10** y **IV.11**, respectivamente. Los valores de absorbancia dieron como resultado la misma estequiometría 2:3 metal:ligando (**Figura IV.16**).



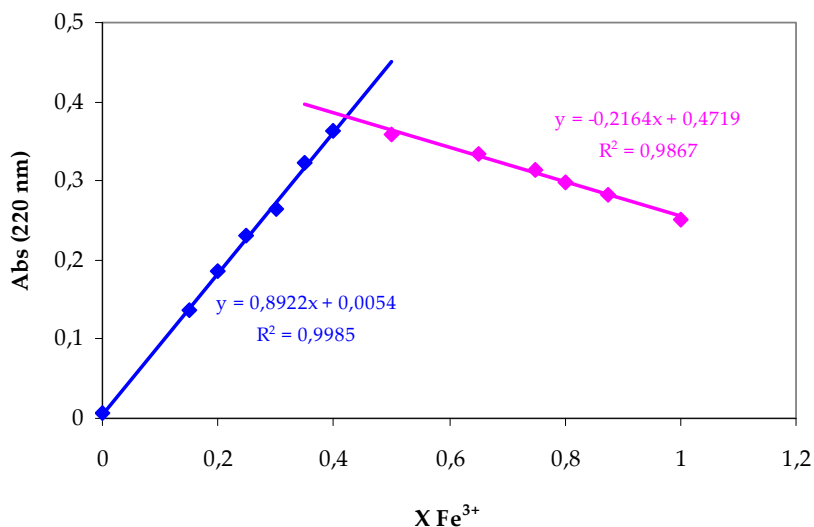
**Tabla IV.10.** Composición de las disoluciones utilizadas para la determinación de la estequiometría del complejo  $Fe^{3+}$ -2-HBBH aplicando el método de las variaciones continuas. Concentración total (M+L):  $4 \cdot 10^{-5}$  mol/L (volumen final = 10 mL)

Muestra	V <sub>T</sub>	V <sub>Fe</sub>	V <sub>2-HBBH</sub>	V <sub>Et</sub>	X <sub>Fe</sub>	Abs <sub>220 nm</sub>
1	1	0	2	0	0	0,007
2	1	0,3	1,7	0,3	0,15	0,136
3	1	0,4	1,6	0,4	0,20	0,187
4	1	0,5	1,5	0,5	0,25	0,230
5	1	0,6	1,4	0,6	0,30	0,264
6	1	0,7	1,3	0,7	0,35	0,322
7	1	0,8	1,2	0,8	0,40	0,364
8	1	1	1	1	0,50	0,358
9	1	1,3	0,7	1,3	0,65	0,335
10	1	1,5	0,5	1,5	0,75	0,315
11	1	1,6	0,4	1,6	0,80	0,299
12	1	1,75	0,25	1,75	0,875	0,283
13	1	2	0	2	1	0,251

V<sub>T</sub>: Volumen de tampón NH<sub>4</sub>Ac/HCl: 1 mol/L de pH 6,5; V<sub>Fe</sub>: volumen de Fe<sup>3+</sup> 2·10<sup>-4</sup> mol/L; V<sub>2-HBBH</sub>: volumen de 2-HBBH 2·10<sup>-4</sup> mol/L; V<sub>Et</sub>: Volumen de etanol; X<sub>Fe</sub>: fracción molar de Fe<sup>3+</sup>

**Tabla IV.11.** Composición de las disoluciones utilizadas como blancos para las muestras de la **Tabla IV.10**

Muestra	V <sub>T</sub>	V <sub>Fe</sub>	V <sub>2-HBBH</sub>	V <sub>Et</sub>
1	1	0	2	0
2	1	0	1,25	0,75
3	1	0	1	1
4	1	0	0,75	1,25
5	1	0	0,5	1,5
6	1	0	0,25	1,75
7-13	1	0	0	1



**Figura IV.16.** Aplicación del método de las variaciones continuas al cálculo de la estequiometría del complejo Fe<sup>3+</sup>-2-HBBH. Concentración total (M+L): 4·10<sup>-5</sup> mol/L

#### IV.3.4. Determinación de la constante de formación del complejo Fe<sup>3+</sup>-2-HBBH

Utilizando los resultados experimentales de los métodos de las variaciones continuas y de la razón molar, se calculó la constante de formación del complejo Fe<sup>3+</sup>-2-HBBH en disolución acuoetanólica a pH 6,5, a partir de las concentraciones en equilibrio del metal Fe<sup>3+</sup>, del ligando 2-HBBH y del complejo formado por ambos (ver apartado II.4.5.3).

Teniendo en cuenta la estequiometría del complejo metálico Fe<sup>3+</sup>-2-HBBH antes determinada, la constante de formación se obtiene según la relación siguiente:

$$K_f = \frac{[\text{Fe}_2(2\text{-HBBH})_3]_{\text{eq}}}{[\text{Fe}]_{\text{eq}}^2 \cdot [2\text{-HBBH}]_{\text{eq}}^3}$$

Los valores obtenidos se encuentran en la **Tabla IV.12**, donde puede apreciarse que la constante de formación del complejo en cuestión es del orden de 10<sup>25</sup> (mol/L)<sup>-4</sup>.

**Tabla IV.12.** Valores de la constante de formación del complejo  $Fe_2(2-HBBH)_3$ 

Método	$K_f, (mol/L)^4$
Razón molar: 2-HBBH constante	$1,44 \cdot 10^{25}$
Razón molar: $Fe^{3+}$ constante	$1,18 \cdot 10^{25}$
Variaciones continuas	$2,58 \cdot 10^{25}$

#### IV.3.5. Determinación de la carga del complejo $Fe^{3+}$ -2-HBBH

La determinación de la carga del complejo metálico  $Fe^{3+}$ -2-HBBH a pH 6,5 se realizó utilizando resinas intercambiadoras de iones siguiendo el mismo protocolo descrito en el capítulo II. Se empleó como resina catiónica la Dowex 50 W x 8 y para el intercambio aniónico la Dowex 1 x 8.

La disolución del complejo utilizada para este estudio contenía  $8 \cdot 10^{-6}$  mol/L de reactivo y  $4 \cdot 10^{-6}$  mol/L de metal, ajustando el pH con disolución reguladora  $NH_4Ac/HCl$  0,1 mol/L. Se registraron los espectros de esta disolución antes y después de ponerla en contacto con cada una de las resinas intercambiadoras de iones.

Los resultados obtenidos, mostrados en la **Figura IV.17**, indicaron que el complejo metálico no quedaba retenido en la resina aniónica, pero sí en la catiónica, observándose en este último caso como la señal de absorbancia disminuía después de pasar por dicha resina.

Hay que recordar que este ligando presenta tres grupos adecuados para formar enlaces de coordinación con metales de transición: el grupo hidroxilo fenólico, el nitrógeno del grupo azometino y el grupo carbonilo de la amida. La reactividad del primer grupo depende fuertemente del medio, estando involucrado en la coordinación de metales en medios neutros y básicos. Así, en medio ácido, el grupo carbonilo de la amida y el nitrógeno del azometino juegan un papel más importante en la coordinación que el oxígeno fenólico al estar el grupo hidroxilo no ionizado, comportándose la 2-HBBH como ligando bidentado. Sin embargo, en las experiencias

realizadas en este capítulo, a pH 6,5, la 2-HBBH es un ligando mononegativo tridentado [Lu, 2006], actuando a través del oxígeno del grupo hidroxilo, del nitrógeno del grupo azometino y del grupo carbonilo en su forma cetónica, formando a través de estos grupos el complejo [Zidan, 2004; Ainscough y col., 1995].

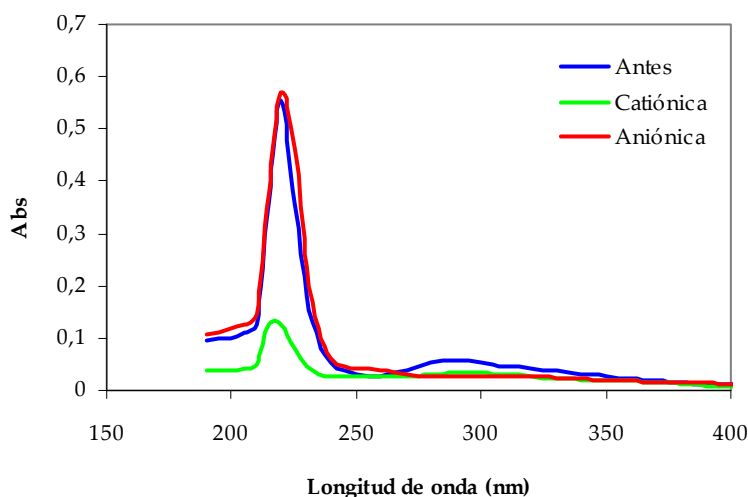


Figura IV.17. Espectros UV-Vis de la disolución de complejo metálico  $Fe^{3+}$ -2-HBBH registrados antes y después de emplear las resinas de intercambio iónico

#### IV.4. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE $Fe^{3+}$ POR AdCSV EMPLEANDO 2-HBBH

Como se ha comentado en el capítulo anterior, la voltamperometría de redisolución catódica adsortiva es una técnica de gran sensibilidad debido a la etapa de preconcentración de las especies electroactivas sobre la superficie del electrodo. Las especies metálicas en disolución se complejan con ligandos orgánicos lipofílicos. Estos complejos tienen gran afinidad por la superficie del mercurio donde se adsorben y se concentran.

El proceso depende de las características de las especies electroactivas (carga, tamaño, polaridad, grupos funcionales, radicales orgánicos,...), la composición de la

disolución (fuerza iónica, especies presentes,...), de las características de la gota del mercurio (tamaño de la gota, carga, potencial,...) y de los parámetros instrumentales característicos de la técnica AdCSV. De ellos, el potencial y tiempo de deposición son los parámetros instrumentales más característicos de las técnicas de redisolución.

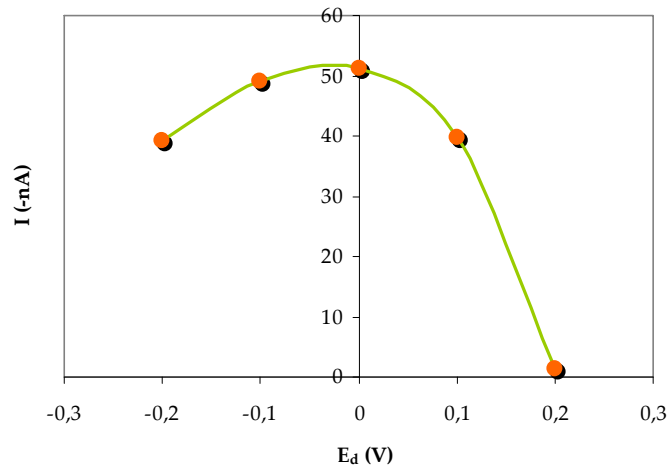
#### IV.4.1. Influencia del potencial de deposición

La optimización del método se comenzó estudiando la evolución de la señal proporcionada por una cantidad de 5 µg/L de Fe<sup>3+</sup> ( $8,95 \cdot 10^{-8}$  mol/L) con el potencial de deposición. Para ello, se realizaron una serie de ensayos adicionando en la celda electroquímica un volumen de 10 mL de disolución conteniendo una concentración de  $5 \cdot 10^{-5}$  mol/L del reactivo complejante de hierro y 0,1 mol/L de la disolución reguladora NH<sub>4</sub>Ac/HCl para ajustar el pH del electrolito a 6,5. El potencial de deposición estudiado se varió entre -0,2 y 0,2 V.

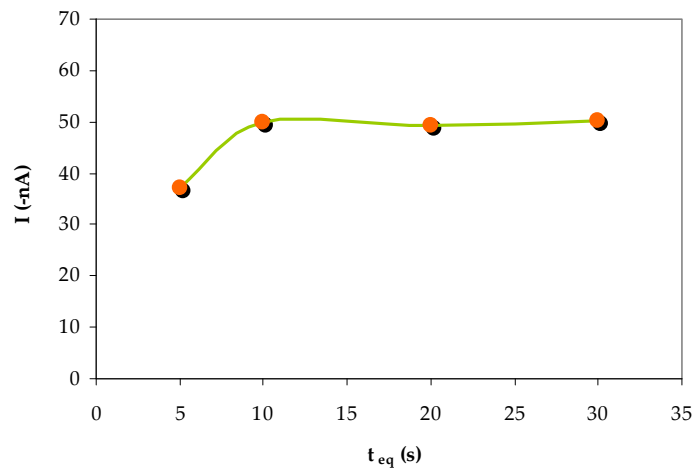
En la **Figura IV.18** se representan los valores de la intensidad de pico obtenido para el complejo metálico en función de los valores de potencial de deposición aplicado. Se puede apreciar que la señal del complejo alcanzaba su máximo en el intervalo de potencial entre -0,1 y 0 V. Sin embargo, a medida que dicho potencial se hace más negativo o más positivo, se observó una disminución de la sensibilidad para el metal estudiado.

#### IV.4.2. Efecto del tiempo de equilibración

Este parámetro también fue estudiado, variando el tiempo de equilibración entre 5 y 30 segundos y manteniendo el resto de las condiciones experimentales iguales que en el estudio anterior. La representación de los resultados obtenidos están reflejados en la **Figura IV.19** en la cual se observa que a partir de 10 segundos de tiempo de equilibración, esta variable deja de influir en la señal electroquímica del metal estudiado, por lo que se tuvo en cuenta este resultado en los siguientes estudios.



**Figura IV.18.** Efecto del potencial de deposición sobre la intensidad de la señal de  $Fe^{3+}$  (Disolución reguladora  $NH_4Ac/HCl$  0,1 mol/L pH 6,5; 2-HBBH  $5 \cdot 10^{-5}$  mol/L y  $Fe^{3+}$  5  $\mu g/L$  ( $8,95 \cdot 10^{-8}$  mol/L); Condiciones instrumentales:  $t_a=90$  s;  $d_s=4$  u.a.;  $P=90$  mV;  $U_s=8$  mV;  $t_s=0,6$  s y  $v_{ag}=2000$  rpm,  $v_{scan}=13$  mV/s)



**Figura IV.19.** Influencia del tiempo de equilibración sobre la intensidad de la señal de  $Fe^{3+}$  (Disolución reguladora  $NH_4Ac/HCl$  0,1 mol/L pH 6,5; 2-HBBH  $5 \cdot 10^{-5}$  mol/L y  $Fe^{3+}$  5  $\mu g/L$  ( $8,95 \cdot 10^{-8}$  mol/L); Condiciones instrumentales:  $E_d=0$  V;  $t_a=90$  s;  $d_s=5$  u.a.;  $P=90$  mV;  $U_s=8$  mV;  $t_s=0,6$  s y  $v_{ag}=2000$  rpm)

#### IV.4.3. Influencia del tiempo de deposición

Uno de los parámetros instrumentales que puede aumentar la sensibilidad de un método voltamperométrico es el tiempo de acumulación o deposición. En condiciones normales, la magnitud de la señal electroquímica suele ser proporcional a dicho tiempo. En general se recomienda utilizar tiempos de deposición no más prolongados que los suficientes para obtener picos bien definidos y fácilmente medibles, para no alargar el análisis.

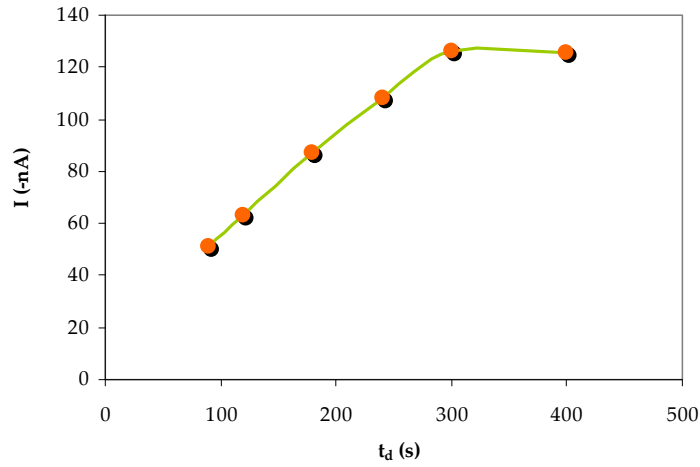
En este trabajo, se estudió el efecto del tiempo de deposición sobre la altura del pico de hierro realizando una serie de experimentos a diferentes tiempos de deposición para una concentración de 5  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Fe}^{3+}$  utilizando las mismas condiciones que en el apartado anterior y aplicando un potencial de deposición de 0 V con una velocidad de barrido de 13 mV/s. El registro de los voltamperogramas se realizó en un intervalo de  $E_i = 0,1 \text{ V}$  a  $E_f = -0,5 \text{ V}$ , obteniéndose la respuesta catódica del método.

Los resultados se reflejan en la **Figura IV.20**, en la que se puede observar como la intensidad de la señal aumenta linealmente con el tiempo de acumulación, hasta los 5 minutos de deposición donde se pierde la linealidad entre éste y la altura de pico, debido a la saturación de la superficie de la gota de mercurio.

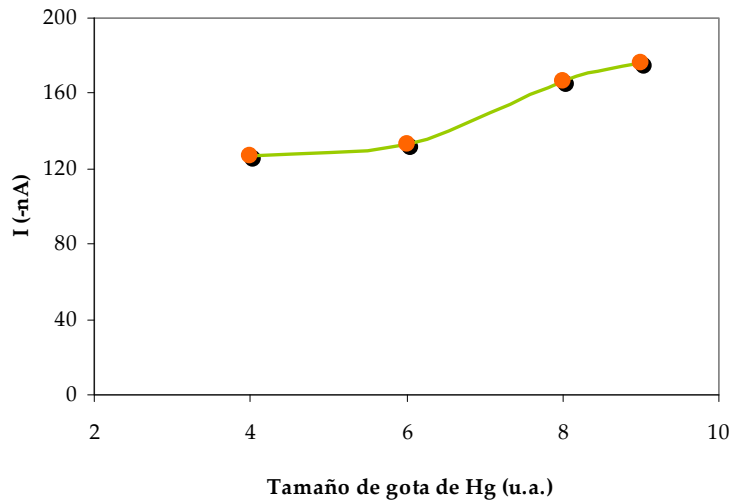
#### IV.4.4. Efecto del tamaño de la gota del electrodo HMDE

La influencia de esta variable se estudió fijando los valores obtenidos para el potencial y el tiempo de deposición más adecuados de los estudios anteriores, es decir  $E_d = 0 \text{ V}$  y  $t_d = 300 \text{ s}$ .

Los resultados obtenidos se muestran en la **Figura IV.21**, en la cual se puede ver como al aumentar el tamaño de la gota de 4 a 9 u.a., se aumenta la intensidad de pico de  $\text{Fe}^{3+}$  debido a que la superficie disponible para la adsorción del complejo metálico  $\text{Fe}^{3+}$ -2-HBBH es más grande.



**Figura IV.20.** Efecto del tiempo de deposición sobre la intensidad de la señal de  $Fe^{3+}$  (Disolución reguladora  $NH_4Ac/HCl$  0,1 mol/L pH 6,5; 2-HBBH  $5 \cdot 10^{-5}$  mol/L y  $Fe^{3+}$  5  $\mu g/L$  ( $8,95 \cdot 10^{-8}$  mol/L); Condiciones instrumentales:  $E_d=0$  V;  $d_s=4$  u.a.;  $P=90$  mV;  $U_s=8$  mV;  $t_s=0,6$  s y  $v_{ag}=2000$  rpm)

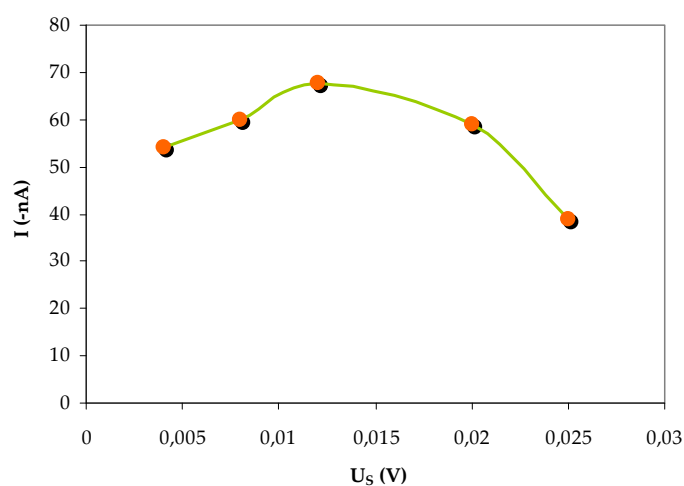


**Figura IV.21.** Influencia del tamaño de gota del electrodo HMDE sobre la intensidad de la señal de  $Fe^{3+}$  (Disolución reguladora  $NH_4Ac/HCl$  0,1 mol/L pH 6,5; 2-HBBH  $5 \cdot 10^{-5}$  mol/L y  $Fe^{3+}$  5  $\mu g/L$  ( $8,95 \cdot 10^{-8}$  mol/L); Condiciones instrumentales:  $E_d=0$  V;  $t_d=300$  s;  $P=90$  mV;  $U_s=8$  mV;  $t_s=0,6$  s y  $v_{ag}=2000$  rpm)



#### IV.4.5. Efecto del salto de potencial

Se continuó con la optimización del método estudiando el efecto del salto de potencial sobre la señal de metal. Sin embargo, para no alargar demasiado la duración de los experimentos se utilizó un tiempo de deposición de 90 s. Las restantes condiciones fueron las optimizadas hasta el momento. Los resultados de este estudio se recogen en la **Figura IV.22** en la cual se puede observar como se obtuvo la máxima señal con un salto de potencial de 12 mV, correspondiente a una velocidad de barrido de 20 mV/s, siendo ésta la que se seleccionó para los siguientes estudios.

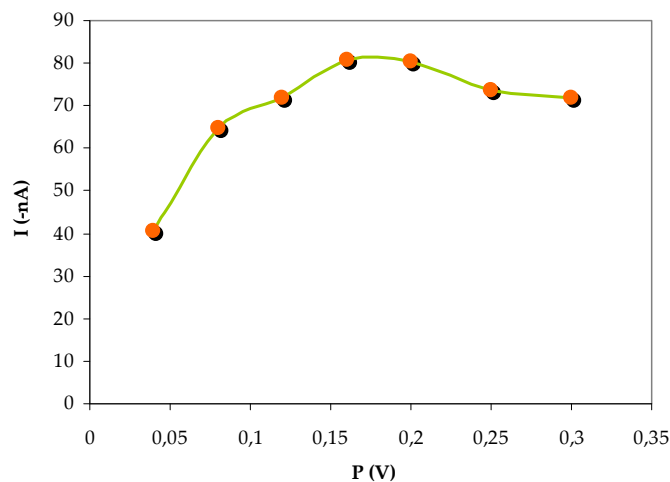


**Figura IV.22.** Influencia del salto de potencial sobre la intensidad de la señal de  $Fe^{3+}$  (Disolución reguladora  $NH_4Ac/HCl$  0,1 mol/L pH 6,5; 2-HBBH  $5 \cdot 10^{-5}$  mol/L y  $Fe^{3+}$  5  $\mu g/L$  ( $8,95 \cdot 10^{-8}$  mol/L); Condiciones instrumentales:  $E_d=0$  V;  $t_d=90$  s;  $d_s=9$  u.a.;  $P=90$  mV;  $t_s=0,6$  s y  $v_{ag}=2000$  rpm)

#### IV.4.6. Efecto de la amplitud de impulso

El estudio de la influencia de la amplitud de impulso sobre la intensidad de la señal de  $Fe^{3+}$  se realizó modificando este parámetro entre 50 y 300 mV y manteniendo el resto de las condiciones experimentales establecidas hasta el momento. En la **Figura**

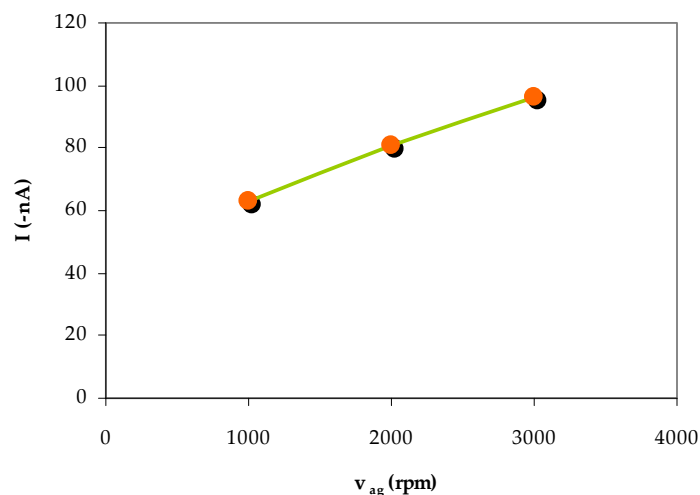
IV.23 se observa como la intensidad del pico aumentaba a medida que la amplitud de impulso era mayor, alcanzando un máximo de intensidad en el intervalo de P entre 0,16 y 0,20 V, disminuyendo después para valores más altos.



**Figura IV.23.** Influencia de la amplitud de impulso sobre la intensidad de la señal de  $Fe^{3+}$  (Disolución reguladora  $NH_4Ac/HCl$  0,1 mol/L pH 6,5; 2-HBBH  $5 \cdot 10^{-5}$  mol/L y  $Fe^{3+}$  5  $\mu g/L$  ( $8,95 \cdot 10^{-8}$  mol/L); Condiciones instrumentales:  $E_d=0$  V;  $t_d=90$  s;  $d_s=9$  u.a.;  $U_s=12$  mV;  $t_s=0,6$  s y  $v_{ag}=2000$  rpm)

#### IV.4.7. Efecto de la velocidad de agitación

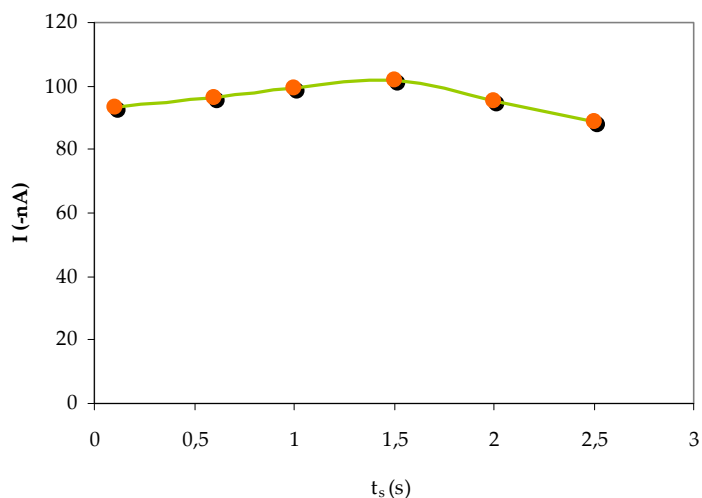
La influencia de la velocidad de agitación sobre la señal voltamperométrica de  $Fe^{3+}$  fue evaluada para tres valores diferentes de este parámetro. Como se puede apreciar en la **Figura IV.24**, la intensidad de la señal aumentó linealmente con la velocidad de agitación hasta llegar a un máximo que suele corresponder con el límite superior instrumental que permite una máxima difusión del complejo metal-ligando, desde el seno de la disolución hacia la superficie del electrodo sin que sea excesiva como para que se desprenda la gota de mercurio del electrodo HMDE. Por tanto, para sucesivos experimentos se utilizó una agitación de 3000 rpm.



**Figura IV.24.** Influencia de la velocidad de agitación sobre la intensidad de la señal de  $Fe^{3+}$  (Disolución reguladora  $NH_4Ac/HCl$  0,1 mol/L pH 6,5; 2-HBBH  $5 \cdot 10^{-5}$  mol/L y  $Fe^{3+}$  5  $\mu g/L$  ( $8,95 \cdot 10^{-8}$  mol/L); Condiciones instrumentales:  $E_a=0$  V;  $t_d=90$  s;  $d_s=9$  u.a;  $P=160$  mV;  $U_s=12$  mV y  $t_s=0,6$  s)

#### IV.4.8. Efecto del tiempo del salto de potencial

Este parámetro condiciona, junto con  $U_s$ , la velocidad del barrido voltamperométrico. Para determinar su efecto sobre la respuesta electroquímica de  $Fe^{3+}$  se estudió esta variable en un intervalo de 0,1 a 2,5 s, fijando el salto de potencial a su valor óptimo de 12 mV. La representación de los resultados de este estudio se recoge en la **Figura IV.25** en la cual se puede apreciar un leve incremento, aunque no es muy significativo, en la intensidad de pico con el tiempo del salto de potencial, para 1,5 s. En estas condiciones de  $t_s$  y  $U_s$ , la velocidad de barrido aplicada fue de 8 mV/s, velocidad demasiado baja para el pequeño incremento de la intensidad alcanzado, por lo que se optó por utilizar 0,1 s para posteriores experimentos.



**Figura IV.25.** Influencia del tiempo del salto de potencial sobre la intensidad de la señal de  $Fe^{3+}$  (Disolución reguladora  $NH_4Ac/HCl$  0,1 mol/L pH 6,5; 2-HBBH  $5 \cdot 10^{-5}$  mol/L y  $Fe^{3+}$  5  $\mu g/L$  ( $8,95 \cdot 10^{-8}$  mol/L); Condiciones instrumentales:  $E_d=0$  V;  $t_d=90$  s;  $P=160$  mV;  $d_s=9$  u.a;  $U_s=12$  mV y  $v_{ag}=3000$  rpm)

A partir de los resultados obtenidos en los estudios de la influencia de cada uno de las variables sobre la intensidad de pico de  $Fe^{3+}$ , se seleccionaron las condiciones más adecuadas para el análisis de este metal por voltamperometría de redisolución catódica adsorptiva empleando el ligando 2-HBBH y que se resumen a continuación en la **Tabla IV.13**.

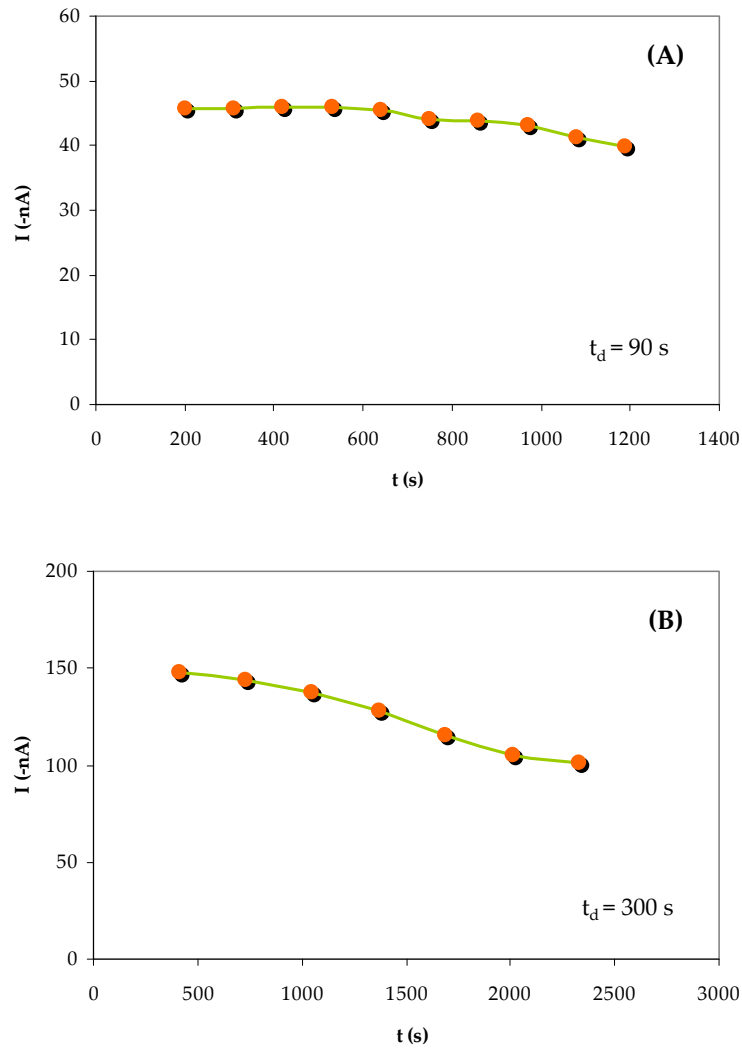
#### IV.4.9. Estabilidad de la señal voltamperométrica

Con objeto de estudiar el nº de réplicas que se podían hacer sobre la misma disolución de metal, se realizaron sucesivas medidas voltamperométricas de una disolución de  $Fe^{3+}$  de 5  $\mu g/L$  de concentración. Se aplicó el método propuesto empleando dos tiempos de deposición: 90 s y 300 s. En la **Figura IV.26** se han representado las réplicas realizadas y el tiempo empleado para su medida.

**Tabla IV.13.** Condiciones electroquímicas, físicas y químicas del método propuesto de determinación de  $Fe^{3+}$  mediante DP-AdCSV empleando 2-HBBH ( $V_{muestra}=10$  mL)

Variable	Intervalo estudiado	Valor seleccionado
pH	2 - 8	6,5
[L]/[M]	5,53 - 1660	$55,3 < [2\text{-HBBH}]/[Fe^{3+}] < 829,4$
Reguladora	B.R., PIPES, HEPES, MES, $NH_4Ac/HCl$ , $KH_2PO_4/NaCl$	$NH_4Ac/HCl$ 0,1 mol/L
$E_d$	(-0,2) - (0,2) V	0 V
$t_d$	90 - 400 s	depende de la $C_{Fe}$ ; $\leq 300$ s
$d_s$	4 - 9 u.a.	9 u.a.
$t_{eq}$	5 - 30 s	10 s
$U_s$	4 - 25 mV	12 mV
P	40 - 300 mV	160 mV
$V_{ag}$	1000 - 3000 rpm	3000 rpm
$t_s$	0,1 - 2,5 s	0,1 s

Como puede observarse si se emplea demasiado tiempo para hacer las réplicas la señal comienza a disminuir lentamente, probablemente como consecuencia de la precipitación del metal y/o del complejo al pH de medida. Esta característica del método tendrá que ser tenida en cuenta en el caso de que se desee hacer calibraciones por adición estándar. De tal forma que para concentraciones por encima de  $5 \mu\text{g/L}$  es recomendable utilizar tiempos de deposición pequeños, del orden de 90 s, permitiendo hasta cinco adiciones sucesivas. Para concentraciones inferiores, al disminuir las posibilidades de precipitación, se pueden utilizar tiempos de deposición mayores.



**Figura IV.26.** Variación de la intensidad de la señal de Fe<sup>3+</sup> con el tiempo (Disolución reguladora NH<sub>4</sub>Ac/HCl 0,1 mol/L pH 6,5; 2-HBBH 5·10<sup>-5</sup> mol/L y Fe<sup>3+</sup> 8,95·10<sup>-8</sup> mol/L (5 µg/L); Condiciones instrumentales: E<sub>d</sub>=0 V; t<sub>d</sub>=90 s (A) y 300 s (B); d<sub>s</sub>=5 u.a; P=160 mV; U<sub>s</sub>=12 mV; t<sub>s</sub>=0,1 s y v<sub>ag</sub>=2000 rpm)

## IV.5. CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DEL MÉTODO PROPUESTO

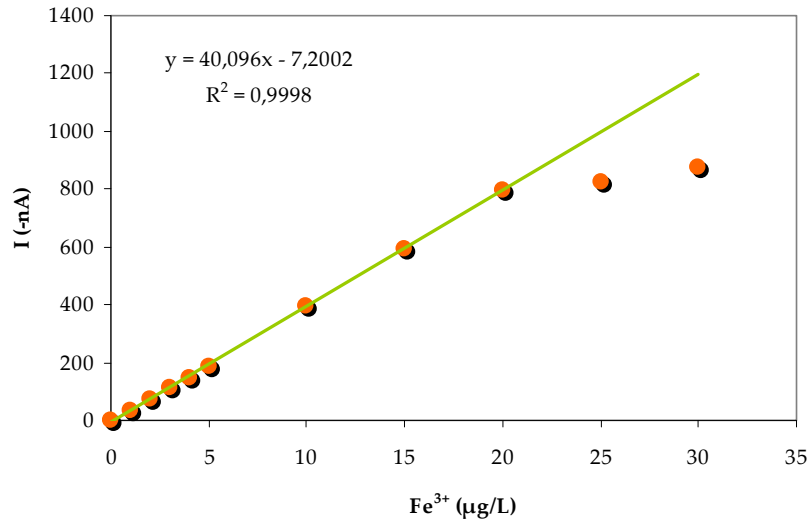
Una vez optimizados los parámetros químicos e instrumentales para el análisis de  $\text{Fe}^{3+}$  por DP-AdCSV en presencia de la 2-HBBH como ligando, se pasaron a estudiar los parámetros analíticos que caracterizan el método: rango de linealidad, límite de detección, límite de cuantificación y precisión del método. También se estudiaron las posibles interferencias de otros elementos en el análisis de  $\text{Fe}^{3+}$  en muestras naturales.

### IV.5.1. Rango de linealidad

Con objeto de estudiar el intervalo de linealidad de la intensidad de la señal electroquímica de  $\text{Fe}^{3+}$  con la concentración, se prepararon once disoluciones conteniendo  $5 \cdot 10^{-5}$  mol/L de 2-HBBH, a las que se adicionó diferente concentración de  $\text{Fe}^{3+}$ , en el rango de 0 a 30  $\mu\text{g/L}$ .

La curva de calibrado obtenida tras las medidas por DP-AdCSV (**Figura IV.27**) ofrece un rango de linealidad hasta 20  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Fe}^{3+}$ , empleando un tiempo de deposición de 300 s. La desviación de la linealidad para concentraciones superiores puede deberse tanto a la saturación del electrodo por el complejo, como a una mayor probabilidad de que el metal y/o el complejo precipiten en la disolución.

De igual forma, se comprobó que la calibración por adición estándar también era factible en el mismo rango de concentraciones, realizando entre 3 y 5 adiciones y utilizando un tiempo de deposición de 90 s. Así, se analizaron por duplicado, cinco muestras con concentraciones de hierro en el rango de 1 a 5  $\mu\text{g/L}$ . Se realizaron tres adiciones estándar de 2  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Fe}^{3+}$  sobre 10 mL de muestra. En la **Tabla IV.14** se presentan los resultados del análisis de cada muestra. Puede verse que los errores relativos encontrados entre el metal adicionado y el medido fueron prácticamente inferiores al 5% en todos los casos. En la **Figura IV.28** se muestra el voltamperograma de una disolución de concentración 1  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Fe}^{3+}$  con las adiciones sucesivas y la curva de calibración por adición estándar.

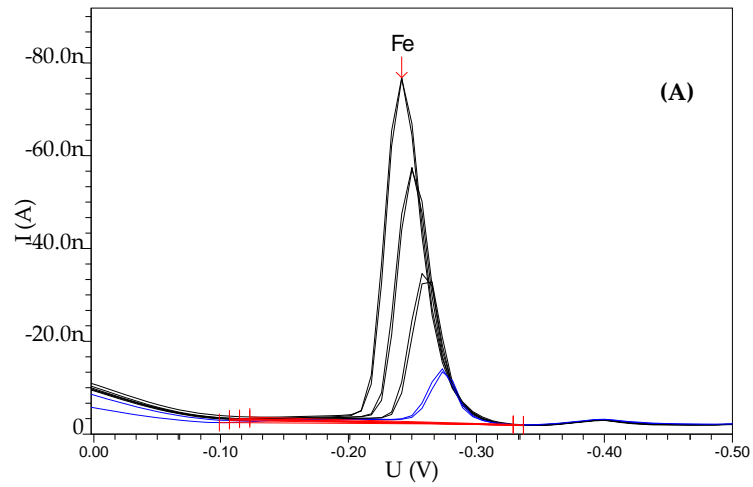


**Figura IV.27.** Recta de calibración directa (Disolución reguladora  $NH_4Ac/HCl$  0,1 mol/L pH 6,5; 2-HBBH  $5 \cdot 10^{-5}$  mol/L; Condiciones instrumentales:  $E_d=0$  V;  $t_d=300$  s;  $d_s=9$  u.a;  $P=160$  mV;  $U_s=12$  mV;  $t_s=0,1$  s y  $v_{ag}=3000$  rpm)

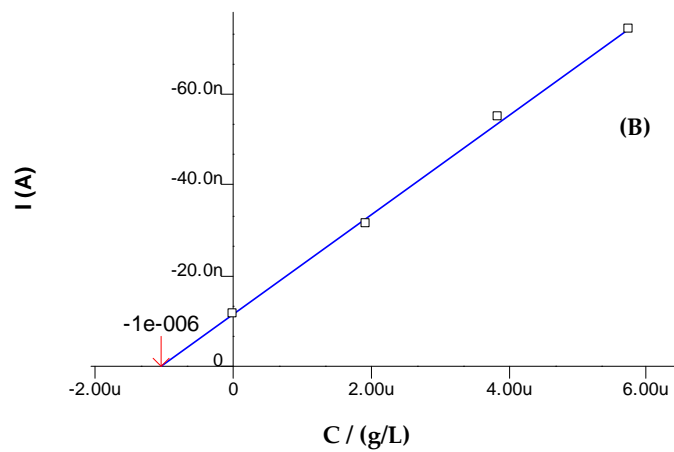
**Tabla IV.14.** Análisis de  $Fe^{3+}$  en disoluciones acuosas mediante DP-AdCSV en presencia de la 2-HBBH y utilizando calibración por adición estándar

$Fe^{3+}$ adicionado ( $\mu g/L$ )	$Fe^{3+}$ medido por el método propuesto ( $\mu g/L$ )	Error relativo (%)
1	$1,04 \pm 0,05$	+4,40
2	$2,11 \pm 0,05$	+5,25
3	$2,94 \pm 0,09$	-2,00
4	$4,17 \pm 0,19$	+4,20
5	$5,00 \pm 0,20$	+0,02



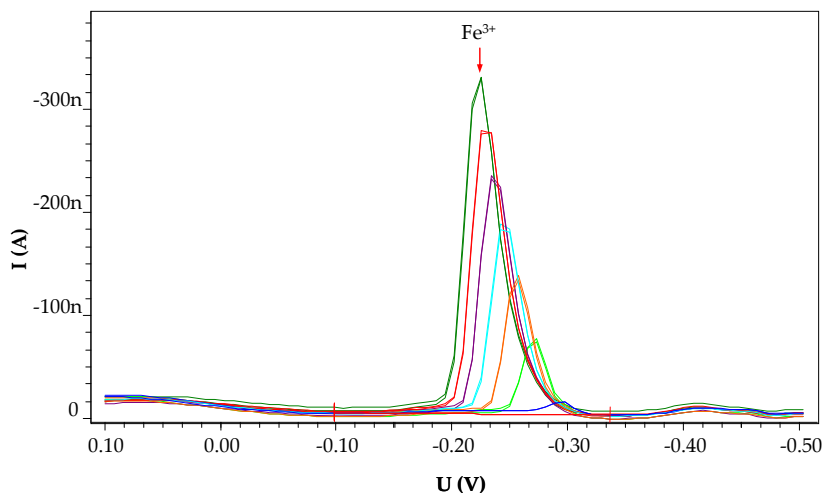


Fe  
 c = 1.044  $\mu\text{g/L}$   
 +/- 0.051  $\mu\text{g/L}$  (4.91%)



**Figura IV.28.** Determinación de  $\text{Fe}^{3+}$  por el método propuesto utilizando calibración por adición estándar: (A) Voltamperogramas correspondientes a una muestra acuosa de 1  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Fe}^{3+}$  y tres adiciones sucesivas de 2  $\mu\text{g/L}$ ; (B) Curva de calibración ( $t_d=90$  s)

Para el análisis de concentraciones más pequeñas, se podría incrementar la sensibilidad con tiempos de deposición mayores (**Figura IV.29**).



**Figura IV.29.** Voltamperogramas correspondientes a la recta de calibración por adición estándar para el análisis de  $Fe^{3+}$  ( $1-7 \mu\text{g/L}$  de  $Fe^{3+}$ ) por el método propuesto para  $t_d = 300 \text{ s}$

#### IV.5.2. Límite de detección

Se calculó el límite de detección del método propuesto a partir de los resultados de varias medidas realizadas sobre el blanco. Según la definición de la IUPAC [IUPAC, 1997], el límite de detección se define como:

$$LD = 3\sigma/p$$

siendo  $\sigma$  la desviación estándar de la respuesta del blanco y  $p$  la pendiente de la recta de regresión.

Para ello, se realizaron 8 medidas, con 2 réplicas para cada medida, sobre la misma disolución del blanco, preparada con agua desionizada (Milli-Q), y conteniendo disolución reguladora  $NH_4Ac/HCl$  0,1 mol/L de pH 6,5 y  $5 \cdot 10^{-5}$  mol/L de 2-HBBH en un volumen total de 20 mL. Después de estas medidas del blanco se realizaron tres

adiciones sucesivas de 5 µg/L de Fe<sup>3+</sup>, con el fin de determinar la pendiente de la recta de regresión. Las condiciones experimentales empleadas para estas medidas fueron las propuestas para el método desarrollado utilizando como tiempo de deposición un valor de 90 s. Con este estudio, el límite de detección calculado fue de 6,2 ng/L de Fe<sup>3+</sup> (0,11 nmol/L).

A partir del valor del límite de detección determinado, se calculó el límite de cuantificación definido según la IUPAC [IUPAC, 1997] como:

$$LC = 10\sigma/p$$

obteniéndose un valor de 0,021 µg/L de Fe<sup>3+</sup> (0,376 nmol/L).

Igualmente se determinaron también los valores del límite de detección y del límite de cuantificación analizando por duplicado 5 muestras diferentes de blanco. En este caso se obtuvo como límite de detección un valor de 6,6 ng/L de Fe<sup>3+</sup> (0,12 nmol/L) y como límite de cuantificación 0,022 µg/L de Fe<sup>3+</sup> (0,394 nmol/L). Como puede observarse, se obtuvieron prácticamente los mismos resultados.

#### IV.5.3. Precisión del método

La reproducibilidad del método electroquímico propuesto para el análisis de Fe<sup>3+</sup> mediante DP-AdCSV fue estudiada realizando seis medidas diferentes en las condiciones óptimas, sobre una muestra de agua con una concentración de hierro y de 2-HBBH de 5 µg/L y 5·10<sup>-5</sup> mol/L, respectivamente, empleando un tiempo de preconcentración de 90 s. En la **Tabla IV.15** se detallan los resultados obtenidos para este estudio. La reproducibilidad del análisis voltamperométrico de Fe<sup>3+</sup> fue muy adecuada, con una precisión de 0,85% para un intervalo de confianza del 95%.

**Tabla IV.15.** Precisión del método de análisis de hierro por DP-AdCSV ( $Fe^{3+}$  5  $\mu g/L$ ;  $t_d = 90$  s)

Parámetros	Valores
Intensidad (-nA)	93,39; 93,19; 92,59; 94,39; 94,45; 92,99
Media (X)	93,50
Desviación estándar (s)	0,76
Intervalo de confianza	95%
nº experimentos (n)	6
Grados de libertad (n-1)	5
Valor t	2,571
Desviación estándar relativa (RSD) (%)	0,81
Precisión (%)	0,85

#### IV.5.4. Estudio de interferencias en el análisis de $Fe^{3+}$ mediante DP-AdCSV

Dadas las características particulares del método de análisis por redisolución adsortiva, la presencia de determinadas sustancias en disolución puede afectar de diferentes formas a los procesos involucrados en la obtención de la señal voltamperométrica del complejo  $Fe^{3+}$ -2-HBBH. Entre éstos cabe citar principalmente los efectos que puedan derivarse de los componentes mayoritarios de la matriz de las muestras y la existencia de otros metales que pueden competir con el  $Fe^{3+}$  en el proceso de formación de quelatos metálicos con la 2-HBBH, siendo en estos casos esenciales la naturaleza y la concentración de la especie interferente. Por tanto, para extender el campo de aplicación del método de análisis de  $Fe^{3+}$  por DP-AdCSV empleando el ligando 2-HBBH, se han probado los efectos que producen algunos metales y diversas sales en disolución acuosa, con especial referencia al agua de mar, para la posterior aplicabilidad a diversas muestras.

**a) Interferencias de metales**

Se ha estudiado el efecto que puede presentar la coexistencia de otros iones metálicos en la muestra durante el análisis de  $\text{Fe}^{3+}$  por el método propuesto. Estos metales pueden competir con el  $\text{Fe}^{3+}$  en la formación de complejo con el ligando 2-HBBH y, por tanto, pueden interferir en su determinación voltamperométrica.

Por ello, se realizaron diversos ensayos con disoluciones de iones metálicos que pueden presentar una cierta afinidad para la 2-HBBH, a los niveles a los cuales suelen estar presentes en agua de mar natural (**Tabla IV.16**). De esta forma, para  $\text{V}^{5+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Zn}^{2+}$  se estudió una concentración de 100 nmol/L, mientras que para  $\text{Bi}^{3+}$ ,  $\text{Pd}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pd}^{2+}$  y  $\text{Co}^{2+}$  se empleó una concentración de 3 nmol/L. Además de estos metales, se estudió también la influencia de otros metales de interés como  $\text{Zr}^{4+}$  y  $\text{Ti}^{4+}$ . Todas estas disoluciones se prepararon por dilución a partir de los correspondientes patrones comerciales de 1000 mg/L (Merck).

**Tabla IV.16.** Concentraciones de metales en agua de mar natural (nmol/L) [Crompton, 2007]

Metal	Aguas costeras	Aguas oceánicas
$\text{Fe}^{3+}$	17,91 - 4476	3,58 - 5765
$\text{V}^{5+}$	0,20 - 100	8,83 - 39,26
$\text{Pb}^{2+}$	0,18 - 35,91	0,0002 - 43,43
$\text{Bi}^{3+}$	0,00024 - 3,25	< 0,000014 - 0,000024
$\text{Co}^{2+}$	< 0,17 - 4,24	0,051 - 2,72
$\text{Cu}^{2+}$	1,09 - 315	0,099 - 44,06
$\text{Zn}^{2+}$	0,11 - 3059	0,76 - 167
$\text{Cd}^{2+}$	0,13 - 44,48	0,089 - 1,12
$\text{Al}^{3+}$	237,2 - 2335	3,71 - 22,24
$\text{Mn}^{2+}$	6,37 - 4551	0,33

Para determinar el efecto de la presencia de estos elementos, se analizó primero una muestra de 2 µg/L de Fe<sup>3+</sup> realizando 5 réplicas, en ausencia de la especie interferente. Los resultados obtenidos se detallan en la **Tabla IV.17**.

**Tabla IV.17.** Réplicas del análisis de una disolución de 2 µg/L de Fe<sup>3+</sup> por DP-AdSCV

Réplica	Fe <sup>3+</sup> cuantificado (µg/L)	Promedio (µg/L)	Desviación estándar
1	2,08	2,07	0,08
2	2,01		
3	2,06		
4	1,99		
5	2,19		

Posteriormente, se prepararon distintas disoluciones conteniendo una concentración de 2 µg/L de Fe<sup>3+</sup> y el metal interferente estudiado, y se analizaron mediante el método propuesto realizando adiciones estándar en las condiciones experimentales, químicas e instrumentales, anteriormente optimizadas. En la **Tabla IV.18** se recogen los resultados obtenidos que muestran únicamente la interferencia de V<sup>5+</sup> en concentraciones de 100 nmol/L en la medida de Fe<sup>3+</sup>. Esto es debido a la formación del complejo entre V<sup>5+</sup> y la 2-HBBH, que también puede ser medido por DP-AdCSV.

Por consiguiente, de los datos expuestos puede deducirse la inexistencia de efectos interferentes significativos procedentes de los iones metálicos que pueden formar complejos con la 2-HBBH, con la excepción de V<sup>5+</sup>, a los niveles característicos presentes en agua de mar.

**Tabla IV.18.** Influencia de metales interferentes en el análisis de hierro (2 µg/L) por DP-AdCSV mediante el método propuesto

Metal interferente	Concentración añadida		[Fe <sup>3+</sup> ] (µg/L)	Recuperación (%)
	(nmol/L)	(µg/L)		
V <sup>5+</sup>	100	5,09	No hay pico de Fe <sup>3+</sup>	-
Cu <sup>2+</sup>	100	6,35	2,05 ± 0,02	99,41
Zn <sup>2+</sup>	100	6,54	2,02 ± 0,01	97,64
Al <sup>3+</sup>	100	2,70	2,00 ± 0,04	96,89
Mn <sup>2+</sup>	100	5,49	2,13 ± 0,21	103,02
Bi <sup>3+</sup>	3	0,63	2,00 ± 0,05	96,75
Pd <sup>2+</sup>	3	0,32	2,07 ± 0,11	100,38
Co <sup>2+</sup>	3	0,18	2,00 ± 0,01	96,87
Cd <sup>2+</sup>	3	0,34	2,07 ± 0,02	100,16
Tl <sup>+</sup>	3	0,61	2,06 ± 0,04	99,53
Pb <sup>2+</sup>	3	0,62	2,12 ± 0,04	102,48
Zr <sup>4+</sup>	4,385	0,4	2,08 ± 0,02	100,50
Ti <sup>4+</sup>	6,26	0,3	2,11 ± 0,16	102,00

#### b) Interferencias de sales

Con objeto de estudiar la presencia de diversas sales como matriz en muestras medioambientales, se estudió la influencia de estas especies a los niveles de concentración frecuentes en agua de mar, empleando una salinidad de 35 g/L.

Aunque, la composición cuantitativa de dichas sales puede verse alterada en función de la localización y características propias de cada zona, su composición cualitativa en elementos mayoritarios, así como la conservación de las relaciones de concentración puede considerarse aproximadamente constante. En la **Tabla IV.19** se

recogen las diferentes sales estudiadas y las concentraciones ensayadas, establecidas por Grasshoff y colaboradores [Grasshoff y col., 1983].

Al igual que el estudio de las interferencias de los metales, también en este caso, se ha comprobado el efecto de las sales sobre una concentración de 2 µg/L de Fe<sup>3+</sup> empleando el método de la adición estándar. Para ello, se prepararon distintas disoluciones conteniendo cada una de estas sales a la concentración que se refleja en la **Tabla IV.19** y 2 µg/L de Fe<sup>3+</sup>, que fueron medidas aplicando el método desarrollado.

**Tabla IV.19.** Composición salina de agua de mar sintética utilizada para el estudio de las interferencias de sales [Grasshoff y col., 1983]

Especie interferente		Concentración (g/L)
Iones en disolución	Sal <sup>a</sup>	
Na <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup>	NaCl	23,939
Mg <sup>2+</sup> , Cl <sup>-</sup>	MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	10,825
Na <sup>+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3,994
Ca <sup>2+</sup> , Cl <sup>-</sup>	CaCl <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	1,495
K <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup>	KCl	0,677
Na <sup>+</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	NaHCO <sub>3</sub>	0,196
K <sup>+</sup> , Br <sup>-</sup>	KBr	0,098
H <sub>2</sub> BO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , HBO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , BO <sub>3</sub> <sup>3-</sup>	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,027
Sr <sup>2+</sup> , Cl <sup>-</sup>	SrCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,024
Na <sup>+</sup> , F <sup>-</sup>	NaF	0,003

<sup>a</sup> Pureza para análisis (Merck, p.a.)

Los resultados obtenidos para el estudio de la influencia de cada una de estas especies interferentes se resumen en la **Tabla IV.20**, en la que se puede comprobar que todas las concentraciones de Fe<sup>3+</sup> encontradas caen dentro del intervalo de precisión del método (1,99 - 2,15 µg/L), excepto con cloruro sódico a elevada salinidad, que



parece interferir en la determinación de Fe<sup>3+</sup> mediante el método propuesto. Esto limitará la aplicación del método propuesto a muestras con salinidades intermedias, iguales o inferiores a 13,29 g/L, aunque podrá aplicarse si la muestra se diluye parcialmente.

**Tabla IV.20.** Influencia de las sales en el análisis de hierro (2 µg/L) por DP-AdCSV mediante el método propuesto

Especie interferente		[Fe <sup>3+</sup> ] detectado (µg/L)	Recuperación (%)
Sal	Concentración (g/L)		
NaCl	23,9	-	-
	13,29	2,12 ± 0,05	102,62
	1,003	2,12 ± 0,08	102,61
MgCl <sub>2</sub>	10,825	2,12 ± 0,06	102,65
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3,994	2,05 ± 0,07	99,05
CaCl <sub>2</sub>	1,495	2,14 ± 0,19	103,45
KCl	0,677	2,13 ± 0,10	103,31
NaHCO <sub>3</sub>	0,196	2,07 ± 0,07	100,01
KBr	0,098	2,01 ± 0,12	97,18
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,027	2,08 ± 0,05	100,62
SrCl <sub>2</sub>	0,024	2,00 ± 0,03	96,65
NaF	0,003	2,13 ± 0,03	103,16

#### IV.5.5. Validación del método

La exactitud del método fue evaluada mediante la determinación de Fe<sup>3+</sup> en una muestra de referencia certificada y dos muestras reales de agua contaminada, procedentes de un acuífero que recibe vertidos industriales.

Todas las muestras fueron previamente sometidas a un proceso de digestión mediante adición de 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30% (Suprapur, Merck) y radiación UV durante 2 horas, utilizando un digestor de UV (705 UV Digester (Metrohm, Suiza)), para eliminar la materia orgánica que puede interferir en la determinación voltamperométrica. El pH de las muestras fue ajustado a 6,5 mediante disolución reguladora  $\text{NH}_4\text{Ac}/\text{HCl}$  0,1 mol/L. La cuantificación del hierro fue llevada a cabo mediante calibración por adición estándar, empleando las condiciones óptimas del método propuesto.

#### IV.5.5.1. Aplicación del método a la muestra de referencia certificada LGC 6011

La muestra de referencia certificada utilizada fue agua potable blanda, LGC 6011, suministrada por el "Laboratory of the Government Chemist" (Reino Unido). Esta muestra de referencia presenta valores certificados para Al, Ba, Ca, Cr, Fe, Pb, Mg, Mn, Ni, K, Ag, Na y Zn, siendo el valor certificado para  $\text{Fe}^{3+}$  de  $194 \pm 8 \mu\text{g}/\text{L}$ . Dada la concentración de hierro de la muestra empleada y el intervalo de aplicabilidad del método, ésta fue diluida veinte veces.

La muestra se analizó por cuadruplicado y los resultados obtenidos se compararon con el valor certificado, alcanzando una recuperación de metal muy satisfactoria como puede apreciarse en la **Tabla IV.21**. Por otro lado, y para decidir si la diferencia entre ambos valores de concentración de  $\text{Fe}^{3+}$  se puede atribuir a errores aleatorios y no a errores sistemáticos se suelen emplear tests de contraste de significación. En este caso, se aplicó el método de la *comparación de una media experimental con un valor conocido* [Miller y Miller, 2002] anteriormente descrito, calculando el factor *t-student* a partir de los datos del valor certificado y del valor determinado, y comparando el *t calculado* con el *t tabulado* a un nivel de confianza y grado de libertad determinados. En este caso, el valor crítico de *t tabulado* para el contraste de dos colas con un 5% de probabilidad y 3 grados de libertad es de 3,182 y el *t calculado* obtenido para la muestra de referencia analizada es de 0,519. Al comparar ambos valores se puede decir que no existen diferencias significativas entre el valor

certificado y la concentración determinada por el método propuesto, ya que el  $t$  tabulado es mucho mayor que el  $t$  calculado.

**Tabla IV.21.** Validación de la metodología propuesta de análisis de  $Fe^{3+}$  empleando la muestra de referencia de agua potable LGC 6011

Muestra de referencia	$Fe^{3+}$ ( $\mu g/L$ )		Error relativo (%)
	Valor certificado	Valor medido por el método propuesto (n=4) <sup>a</sup>	
LGC 6011	194 $\pm$ 8	191,96 $\pm$ 7,87	-1,05

<sup>a</sup> Dilución de la muestra previo a su análisis: 1:20

#### IV.5.5.2. Aplicación del método propuesto a muestras reales

Una vez validado el método propuesto con la muestra de referencia LGC 6011, se aplicó también satisfactoriamente en el análisis de  $Fe^{3+}$  en dos muestras de agua real, A y B, recogidas del Grand Canal, cerca de una zona bastante industrializada en la ciudad de Tánger (Marruecos) (ver mapa, capítulo VI). La salinidad de las muestras fue de 0,85 y 11,1 g/L, respectivamente, por lo que el método podía aplicarse directamente. Estas muestras fueron filtradas “in-situ” a través de filtros de membrana de 0,45 micras de tamaño de poro (Osmonics, Micron Separations Inc.), conectados a un sistema de vacío. Una vez en el laboratorio, se acidificaron las muestras filtradas con 2 mL/L de  $HNO_3$  al 65% (Suprapur, Merck, Alemania) para su conservación y se almacenaron a 4 °C hasta su análisis. Las muestras reales tuvieron que ser diluidas antes de su análisis (muestra A: dilución 1:250; muestra B: dilución 1:10), pues su concentración de hierro sobrepasaba el intervalo de aplicabilidad del método, dado el nivel de contaminación que presentaban.

En la **Tabla IV.22** se muestran los resultados obtenidos por el método propuesto y los obtenidos por la aplicación del método de referencia “Metrohm V-125”, que

emplea el ligando 1-nitroso-2-naftol y realiza las medidas igualmente por AdCSV. Como se puede comprobar, los errores relativos para cada una de las muestras, calculados teniendo en cuenta la diferencia entre el valor de la medida y el valor tomado como exacto, estuvieron por debajo del 2% indicando la fiabilidad de los resultados.

En el caso de muestras reales, la exactitud del método se evaluó aplicando el contraste de comparación de dos medias experimentales [Miller y Miller, 2002], comparando los valores de la concentración de Fe<sup>3+</sup> determinada por los dos métodos utilizados obteniéndose un valor de *t calculado* que fue comparado con el valor de *t tabulado*, igual a 12,706 para un intervalo de confianza de 95% y 1 grado de libertad. Como se puede comprobar el valor tabulado era mucho mayor que los calculados para cada muestra, mostrando que las diferencias observadas entre los valores de concentración de Fe<sup>3+</sup> determinados no eran estadísticamente significativas, lo que quiere decir que no existía evidencia de error sistemático.

De los resultados obtenidos tanto para la muestra de referencia como para las muestras reales, se puede concluir que el método propuesto para la determinación de Fe<sup>3+</sup> por 2-HBBH mediante DP-AdCSV, puede ser aplicado satisfactoriamente a muestras de agua natural cuya concentración de NaCl sea igual o inferior a 13,3 g/L.

**Tabla IV.22.** Aplicación del método propuesto a muestras de agua real del Grand Canal de Tánger (Marruecos)

Muestra	Fe <sup>3+</sup> (mg/L) cuantificado por		Error relativo (%)	t calculado
	Método de referencia AdCSV (1-nitroso-2-naftol) (n=2)	Método propuesto (n=2)		
A	3,756 ± 0,267	3,777 ± 0,106	+0,559	-0,106
B	0,153 ± 0,003	0,156 ± 0,007	+1,961	-0,533

<sup>a</sup> Dilución de la muestra previo a su análisis: muestra A 1:250; muestra B 1:10

#### IV.6. COMPARACIÓN DEL MÉTODO PROPUESTO CON OTROS DESCRITOS EN LA BIBLIOGRAFÍA

Debido al gran interés por determinar las concentraciones de hierro en muestras medioambientales, existen diferentes métodos electroanalíticos para su cuantificación. En la **Tabla IV.23** se recogen los métodos voltamperométricos descritos en la bibliografía empleando varios tipos de electrodos.

Examinando la tabla, se puede observar que los métodos desarrollados por Riso y col [**Riso y col., 2007**] utilizando un electrodo de película de mercurio (MFE) y Croot y col [**Croot y Johansson, 2000**] con un electrodo de gota colgante de mercurio (HMDE), consiguieron unos límites de detección de 0,11 nmol/L (60 s) y 0,10 nmol/L (300 s), respectivamente. Estos valores son del mismo orden del límite de detección del método propuesto (0,11 nmol/L para 90 s). Es de destacar que con los métodos catalíticos empleando el electrodo HMDE se consiguieron límites de detección más bajos: 0,03 nmol/L (600 s) [**Yokoi y Van den Berg, 1992**], 0,077 nmol/L (60 s) [**Gledhill y Van den Berg, 1995**]; 0,08 nmol/L (30 s) [**Aldrich y van den Berg, 1998**] y 0,013 nmol/L (60 s) [**Obata y Van den Berg, 2001**].

Como puede comprobarse, el método desarrollado en este trabajo proporciona un amplio rango lineal de aplicación (0-358 nmol/L) y un límite de detección dentro de los más pequeños encontrados en la bibliografía, el cual puede ser mejorado aumentando el tiempo de deposición o empleando  $\text{H}_2\text{O}_2$  o  $\text{KBrO}_3$  para catalizar la reducción del  $\text{Fe}^{3+}$  adsorbido en la gota de mercurio.

**Tabla IV.22.** Estudio comparativo de los métodos voltamperométricos para el análisis de Fe en muestras medioambientales

Especie	Ligando complejante	Técnica/ Electrodo	L.D. (nmol/L)	Rango lineal (nmol/L)	Aplicación	Referencia
Fe <sup>3+</sup>	Catecol	DPCSV/HMDE	0,6 (180 s)	≤ 50	Agua de mar	Van den berg y Huang, 1984
Fe <sup>3+</sup>	1-nitroso-2-naftol (NN)	CSV/MDE	0,2 (600 s)		Agua de mar	Van den Berg y col., 1991
Fe	1-nitroso-2-naftol/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CSV/HMDE	0,16 (60 s) 0,03 (600 s)	-	Agua natural, agua de mar	Yokoi y Van den Berg, 1992
Fe <sup>3+</sup>	N-benzoi-N-fenilhidroxilamina/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CAAdSV/HMDE	0,18 (600 s)	-		Lu y col., 1995
Fe <sup>3+</sup> / Fe <sup>2+</sup>	1-nitroso-2-naftol/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CAAdCSV/HMDE	Fe <sup>3+</sup> : 0,077 (60 s) Fe <sup>2+</sup> : 0,12 (60 s)	-	Agua de mar	Gledhill y Van den Berg, 1995
Fe <sup>3+</sup>	αα'-bipiridina	CSV/ MGC-Nafion	0,358 (120 s)	0,9-35,8	Agua de fuente	Shuxun y col., 1995
Fe <sup>2+</sup>	KSCN/NaNO <sub>2</sub>	CAAdSV/HMDE	0,716 (30 s)	≤ 1432	Agua natural, muestras biológicas y reactivos de grado analítico	Gao y Siow, 1996
Fe <sup>3+</sup> / Fe <sup>2+</sup>	Pirofosfato sódico (Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )	DPASV/GCE	Fe <sup>3+</sup> : 24(180 s) Fe <sup>2+</sup> : 27(180 s)	10 <sup>-3</sup> -10 <sup>6</sup>	Vino rojo y agua de grifo	van Staden y Matoetoe, 1998
Fe <sup>3+</sup>	1-nitroso-2-naftol/KBrO <sub>3</sub>	CCSV/HMDE	0,08 (30 s)	1-30 (60 s) 1-100 (15 s)	Agua de mar	Aldrich y Van den Berg, 1998
Fe <sup>3+</sup>	2-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC)	CLE-AdCSV/SMDE	0,10 (300 s)	-	Agua de mar	Croot y Johansson, 2000
Fe <sup>3+</sup>	2,3-dihidroxinaftaleno (DHN)/KBrO <sub>3</sub>	CAAdCSV/HMDE	0,013 (60 s)	≤ 50	Agua de mar	Obata y Van den Berg, 2001
Fe <sup>3+</sup>	Oxalato (C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	CSV/CMGCE	179 (120 s)	358-5372	Agua de grifo y agua mineral	Lu y col., 2001

Cont. Tabla IV.22. Estudio comparativo de los métodos voltamperométricos para el análisis de Fe en muestras medioambientales

Especie	Ligando complejante	Técnica/ Electrodo	L.D. (nmol/L)	Rango lineal (nmol/L)	Aplicación	Referencia
Fe <sup>3+</sup>	Violeta de solocromo RS (SVRS)	AdSCP/ GCMFE	1,5 (60 s)	-	Agua de estuario y aguas costeras	Riso y col., 2006
Fe <sup>3+</sup>	1-nitroso-2-naftol (NN)	AdSCP/ RMFE	0,11 (60 s)	-	Agua de estuario	Riso y col., 2007
Fe <sup>3+</sup>	-	CV, OSWV/ Au-MSA	0,03 (600 s)	0,1-6,0	Agua mineral, de grifo y muestras farmacéuticas	Shervedani y col., 2007
Fe <sup>3+</sup>	1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN)	AdSV/ BiFE	1,79 (60 s)	7,16-1074	Agua de mar	Segura y col., 2008
Fe <sup>3+</sup>	2-(5'-bromo-2'-piridilazo)-5-dietilaminofenol (5-Br-PADAP)	SW-AdCSV/CPE	1,66 240 s)	5,55-44,76	Agua subterránea, de grifo y agua natural embotellada	Ghoneim, 2010
Fe <sup>3+</sup>	DMG + Catecol	AdCSV/ HIMDE	1,29 (900 s)	≤ 300	Agua de estuario y aguas intersticiales de sedimento	Santos-Echeandía, 2011
Fe <sup>3+</sup>	2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HIBBH)	AdCSV/ HIMDE	0,11 (90 s)	0-358 (300 s)	Agua de río	Este trabajo

**AdSCP:** Cronopotenciometría de redisolución adsorbtiva; **Au-MSA:** Electrodo de oro modificado con ácido 2-mercaptoposuccínico; **BiFE:** Electrodo de película de mercurio; **CAdSV:** Voltamperometría de redisolución adsorbtiva catalítica; **CCSV:** Voltamperometría de redisolución catódica catalítica; **CLE-AdCSV:** Voltamperometría de redisolución catódica adsorbtiva con intercambio por competición de ligandos; **CMGCE:** Electrodo de carbono vitrificado modificado con chitosan; **CV:** Voltamperometría cíclica; **DPASV:** Voltamperometría de redisolución anódica de impulso diferencial; **DPCSV:** Voltamperometría de redisolución catódica de impulso diferencial; **GCE:** Electrodo de carbono vitrificado; **GCMFE:** Electrodo de carbón vitrificado con película de mercurio; **HIMDE:** Electrodo de gota colgante de mercurio; **MDE:** Electrodo de gota de mercurio; **OSWV:** Voltamperometría de onda cuadrada Osteryoung; **RMFE:** Electrodo rotatorio de película de mercurio; **SMDE:** Electrodo de gota estacionaria de mercurio

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

**Abo El-Maali** N., Temerk Y. M. y Sh-Abd El-Aziz M. Application of stripping voltammetry at a static mercury drop electrode for the determination of aluminium and iron in Portland cement. *Analytica Chimica Acta* 353, 313-318 (1997).

**Abollino** O., Aceto M., Sacchero G., Sarzanini C. y Mentaste E. Determination of copper, cadmium, iron, manganese, nickel and zinc in Antarctic sea water. Comparison of electrochemical and spectroscopic procedures. *Analytica Chimica Acta* 305, 200-206 (1995).

**Ainscough** E. W., Brodie A. M., Ranford J. D. y Waters J. M. Hexafluorosilicate coordination to the antitumour copper(II) salicylaldehyde benzoylhydrazone (H<sub>2</sub>L) system: single-crystal X-ray structure of [(Cu(HL)H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>SiF<sub>6</sub>]<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O. *Inorganica Chimica Acta* 236, 83-88, (1995).

**Aldrich** A. P. y van den Berg C. M. G. Determination of Iron and Its Redox Speciation in Seawater Using Catalytic Cathodic Stripping Voltammetry. *Electroanalysis* 10, 369-373 (1998).

**Cheize** M., Sarthou G., Croot P. L., Bucciarelli E., Baudoux A. -C. y Baker A. R. Iron organic speciation determination in rainwater using cathodic stripping Voltammetry. *Analytica Chimica Acta* 736, 45-54 (2012).

**Crompton** T. R. Toxicants in aqueous ecosystems. A Guide for the Analytical and Environmental Chemist. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg (2007).

**Croot** P. L. y Johansson M. Determination of Iron Speciation by Cathodic Stripping Voltammetry in Seawater Using the Competing Ligand 2-(2-Thiazolylazo)-p-cresol (TAC). *Electroanalysis* 12, 565-576 (2000).

**Espada-Bellido** E., Galindo-Riaño M. D., Aouarram A. y Garcia-Vargas M. Applicability of 2-hydroxybenzaldehyde benzoylhydrazone in the determination of trace metals by adsorptive cathodic stripping voltammetry: relevancy of simultaneous determinations. *Analytical Sciences* 25, 903-909 (2009).

**Farias** P. A. M., Ohara A. K. y Ferreira S. L. C. Adsorptive Preconcentration for Voltammetric Measurements of Trace Level of Iron(III) with 2-(2-Thiazolylazo)-4-Methylphenol. *Analytical Letters* 25, 1929-1939 (1992).

**Gao** Z. y Siow K. S. Determination of trace amounts of iron by catalytic-adsorptive stripping voltammetry. *Talanta* 43, 727-733 (1996).

**Ghoneim** E. M. Simultaneous determination of Mn(II), Cu(II) and Fe(III) as 2-(5'-bromo-2'-pyridylazo)-5-diethylaminophenol complexes by adsorptive cathodic stripping voltammetry at a carbon paste electrode. *Talanta* 82, 646-652 (2010).



**Gledhill M.** y van den Berg C. M. G. Measurement of the redox speciation of iron in seawater by catalytic cathodic stripping voltammetry. *Marine Chemistry* 50, 51-61 (1995).

**Grasshoff K.**, Ehrhardt M. y Kremling K. Methods of Seawater Analysis, 2<sup>a</sup> Ed., Verlag Chemie, Weinheim, p.491 (1983).

**Hua C.**, Jagner D. y Renman L. Constant-current stripping analysis for iron(III) by adsorptive accumulation of its Solochrome Violet RS complex on a carbon-fibre electrode. *Talanta* 35, 597-600 (1988).

**IUPAC.** McNaught A. D. y Wilkinson A. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Oxford. Blackwell Scientific Publications (1997).

**Kirkbright G. F.**, West T. S., Woodward C. Spectrofluorometric determination of submicrogram amounts of aluminium and beryllium with 2-hydroxy-3-naphthoic acid. *Analytical Chemistry* 37, 137-143 (1965).

**Laglera L. M.**, Battaglia G. y van den Berg C. M. G. Effect of humic substances on the iron speciation in natural waters by CLE/CSV. *Marine Chemistry* 127, 134-143 (2011).

**Lu G.**, Yao X., Wu X. y Zhan T. Determination of the total iron by chitosan-modified glassy carbon electrode. *Microchemical Journal* 69, 81-87 (2001).

**Lu J.**, Wang J. y Yarnitzky C. Ultrasensitive adsorptive-catalytic stripping voltammetry of iron in the presence of hydroxamic acids and hydrogen peroxide. *Electroanalysis* 7, 79-82 (1995).

**Lu Y. H.**, Lu Y. W., Wu C. L., Shao Q., Chen X. L. y Biboum Bimbong R. N. UV-visible spectroscopic study of the salicylaldehyde benzoylhydrazone and its cobalt complexes. *Spectrochimica Acta Part A* 65, 695-701 (2006)

**Miller J. N.** y Miller J. C. Estadística y Quimiometría para Química Analítica. 4<sup>a</sup> Edición. Madrid. Pearson Educación (2002).

**Nascimento P. C.**, Del-Fabro L. D., Bohrer D., de Carvalho L. M., Rosa M. B. y Noremberg S. M. Al(III) and Fe(III) Balance in Hemodialysis Treatment Assessed via Fluid Analysis by Adsorptive Stripping Voltammetry and UV Sample Digestion. *Electroanalysis* 20, 1078-1084 (2008).

**Obata H.** y van den Berg C. M. G. Determination of Picomolar Levels of Iron in Seawater Using Catalytic Cathodic Stripping Voltammetry. *Analytical Chemistry* 73, 2522-2528 (2001).

**Riso R. D.**, Pernet-Coudrier B., Waeles M. y Le Corre P. Dissolved iron analysis in estuarine and coastal waters by using a modified adsorptive stripping chronopotentiometric (SCP) method. *Analytica Chimica Acta* 598, 235-241 (2007).

**Riso R. D.**, Waeles M., Pernet-Coudrier B. y Le Corre P. Determination of dissolved iron(III) in estuarine and coastal waters by adsorptive stripping chronopotentiometry (SCP). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 385, 76-82 (2006).

**Rue E. L.** y Bruland K. W. Complexation of iron(III) by natural organic ligands in the Central North Pacific as determined by a new competitive ligand equilibration/adsorptive cathodic stripping voltammetric method. *Marine Chemistry* 50, 117-138 (1995).

**Santos-Echeandía J.** Direct simultaneous determination of Co, Cu, Fe, Ni and V in pore waters by means of adsorptive cathodic stripping voltammetry with mixed ligands. *Talanta* 85, 506-512 (2011).

**Sazanovich I. V.**, Balakumar A., Muthukumaran K., Hidin E., Kirmaier C., Diers J. R., Lindsey J. S., Bocian D. F. y Holten D. Excited-State Energy-Transfer Dynamics of Self-Assembled Imine-Linked Porphyrin Dyads. *Inorganic Chemistry* 42, 6616-6628 (2003).

**Segura R.**, Toral M. I. y Arancibia V. Determination of iron in water samples by adsorptive stripping voltammetry with a bismuth film electrode in the presence of 1-(2-piridylazo)-2-naphthol. *Talanta* 75, 973-977 (2008).

**Shervedani R. K.**, Hatefi-Mehrjardi A. y Asadi-Farsani A. Sensitive determination of iron(III) by gold electrode modified with 2-mercaptoposuccinic acid self-assembled monolayer. *Analytica Chimica Acta* 601, 164-171 (2007).

**Shuxun Y.**, Lihong D. y Baoxian Y. Cathodic Stripping Voltammetry Determination of Trace Iron with a Chemically Modified Electrode. *Microchemical Journal* 52, 216-222 (1995).

**Skoog D. A.**, West D. M., Holler F. J. y Crouch S. R. *Fundamentals of Analytical Chemistry* 8th Edition, International Thomson Editores (2005).

**Temerk Y. M.**, Issa I. M. y Abu Zuhri A. Z. *Transactions of the Society for the Advancement of Electrotechnical Science and Technology* 14, 17 (1979).

**Van den berg C. M. G.** y Huang Z. Q. determination of iron in seawater using cathodic stripping voltammetry preceded by adsorptive collection with the hanging mercury drop electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 177, 269-280 (1984).

**Van den Berg C. M. G.**, Nimmo M., Abollino O. y Mentasti E. The determination of trace levels of iron in seawater, using adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Electroanalysis* 3, 477-484 (1991).

**van Staden** J. F. y Matoetoe M. C. Simultaneous determination of traces of iron(II) and iron(III) using differential pulse anodic stripping voltammetry in a flow-through configuration on a glassy carbon electrode. *Analytica Chimica Acta* 376, 325-330 (1998).

**Wang** J. y Mahmoud J. Chelate adsorption for trace voltammetric measurements of iron(III). *Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie* 327, 789-793 (1987).

**Wang** J., Lu J., Luo D., Wang J. y Tian B. Simultaneous adsorptive stripping voltammetric measurements of trace chromium, uranium, and iron in the presence of cupferron. *Electroanalysis* 9, 1247-1251 (1997).

**Yokoi** K. y van den Berg C. M. G. The determination of iron in seawater using catalytic cathodic stripping voltammetry. *Electroanalysis* 4, 65-69 (1992).

**Yuan** Y., Cao Z., Fu N., Wang J., Weng L., de Carvalho A. B. y Peppe C. Preparation, characterization, electrochemical studies and crystal structure determination of salicylaldehyde-arylhidrazone, ferrocenyl-arylhidrazone and salicylaldehyde-ferrocenylhidrazone complexes of indium. *Journal of Organometallic Chemistry* 637-639, 631-641 (2001).

**Zidan** A. S. A. Synthesis and investigation of mixed-ligand transition metal complexes of alkyl dithiocarbonate and benzoylhidrazine or benzoylhidrazone derivatives. *Synthesis and reactivity in inorganic and metal-organic chemistry* 34, 743-762 (2004).

## *CAPÍTULO V*

---

### *ANÁLISIS DE PLATA EN AGUAS MEDIANTE UN NUEVO ELECTRODO DE PASTA DE C MODIFICADO CON 2-HBBH*

---



## ***CAPÍTULO V. ANÁLISIS DE PLATA EN AGUAS MEDIANTE UN NUEVO ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON 2-HBBH***

---

### **RESUMEN**

En las aguas naturales, la plata es uno de los contaminantes metálicos menos estudiados a pesar de su gran implicación medioambiental. Su importancia estriba en su fácil bioacumulación y su elevada toxicidad para los organismos acuáticos, que se ve superada únicamente por la del mercurio [Luoma y col., 1995; Ndungu, 2011]. Debido principalmente a su baja concentración en el agua (a nivel de ng/L en aguas no contaminadas [Sañudo-Wilhelmy y Flegal, 1992; Barriada y col., 2007; Kramer y col., 2011] y a nivel de µg/L en aguas afectadas [Essumang y Nortso, 2008]), los estudios en los que se ofrecen datos de concentración de plata en aguas naturales y marinas son escasos [Barriada y col., 2007; Tappin y col., 2010]. Esto hace que su determinación no sea incluida en los análisis rutinarios de los laboratorios de calidad de aguas. Sin embargo, debido al amplio uso de la plata en aplicaciones industriales, médicas y farmacéuticas, así como en tratamiento y desinfección de aguas [Silvestry-Rodriguez y col., 2007; Pathak y Gomal, 2012; Peng y col., 2012; Quang y col., 2013], este metal

puede ser descargado al medio ambiente afectando a organismos acuáticos y terrestres. Por lo que su determinación en aguas es muy importante [Rohani y Taher, 2010].

El presente trabajo se ha enfocado en el desarrollo de un método analítico para la determinación y análisis de plata en muestras de aguas naturales mediante voltamperometría de redisolución empleando electrodos modificados químicamente con ligandos orgánicos.

### V.1. PLATA

La plata es un metal que se encuentra de forma natural en el medio ambiente como elemento libre (plata nativa) o mezclada con otros metales. También se puede encontrar combinada con otros elementos químicos tales como sulfuro, cloruro, nitrógeno y oxígeno [Araujo y col., 2012]. Aunque la plata es el metal noble más activo químicamente, no es muy activo comparado con la mayor parte de los otros metales. No se oxida fácilmente como el hierro, pero reacciona con el azufre o el sulfuro de hidrógeno para formar la conocida plata deslustrada. Este metal no reacciona con ácidos diluidos no oxidantes (ácidos clorhídrico o sulfúrico) ni con bases fuertes (hidróxido de sodio). Sin embargo, los ácidos oxidantes (ácido nítrico o ácido sulfúrico concentrado) la disuelven al reaccionar formando el ión positivo de la plata ( $\text{Ag}^+$ ). Este ión, que está presente en todas las disoluciones simples de compuestos de plata solubles, se reduce fácilmente a metal libre, como sucede en la deposición de espejos de plata por agentes reductores orgánicos.

La plata es casi siempre monovalente en sus compuestos, sin embargo se conocen óxidos, fluoruros y sulfuros divalentes, y también algunos compuestos de coordinación que contienen este elemento en su estado divalente y trivalente ( $\text{AgF}_2$  y  $\text{K}(\text{AgF}_4)$ ) [Cortese-Krott y col., 2009]. Aunque la plata no se oxida cuando se calienta, puede ser oxidada química o electrolíticamente para formar óxido o peróxido de plata, un poderoso agente oxidante. Por esta actividad, se utiliza mucho como catalizador oxidante en la producción de ciertos materiales orgánicos. Los halogenuros de plata

(AgI, AgCl y AgBr) son sustancias fotosensibles, es decir inestables a la luz, tanto que ennegrecen en poco tiempo. De ahí su importancia en aplicaciones fotográficas [Pathak y Gomal, 2012]. La plata es usada también para fabricar joyas (como metal puro y como elemento de varias aleaciones), cubiertos y vajillas de plata, equipos electrónicos y empastes dentales [Peng y col., 2012; Pathak y Gomal, 2012]. Igualmente se aplica en aleaciones de alta temperatura y soldaduras, para desinfectar agua potable y aguas de piscinas así como bactericida [Nawaz y col., 2012; Quang y col., 2013]. También se ha usado en pastillas y goma de masticar recetadas para dejar de fumar [ATSDR, 1999; Yang y col., 2007].

En el medio ambiente, la plata puede ser liberada al aire y al agua a través de procesos naturales tal como la erosión de rocas. Las actividades humanas, tales como el procesamiento de minerales, manufactura de cemento, y la quema de combustible fósil pueden liberar plata al aire, mientras que al agua, este elemento puede llegar a partir de las aguas residuales de las industrias antes mencionadas o por lixiviación del suelo por la lluvia llegando a las aguas subterráneas.

La Agencia de Protección del Medio Ambiente (EPA, EEUU) recomienda que la concentración de plata en el agua potable no exceda de 0,10 mg/L para evitar que afecte a la salud humana. Igualmente, la Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA, EEUU) limita la cantidad de plata en el aire del trabajo a 0,01 mg/m<sup>3</sup> durante una jornada de 8 horas diarias, 40 horas semanales. El Instituto Nacional de Seguridad Ocupacional y Salud (NIOSH, EEUU) también recomienda que el aire del trabajo no contenga más de 0,01 mg/m<sup>3</sup> de plata [ATSDR, 1999; Araujo y col., 2012].

#### **V.1.1. Plata en el medio acuático**

En el medio acuático, los iones Ag<sup>+</sup> son estables en un rango amplio de pH. A pH alcalino se forma Ag(OH) y Ag(OH)<sub>2</sub>. Además, hay muchos compuestos que interactúan con la plata. Los más importantes son los aniones cloruro que forman un precipitado insoluble (AgCl), por lo que no suelen representar una amenaza para los



organismos acuáticos. Se ha demostrado que la plata iónica es tóxica para diversos organismos acuáticos, mientras que sus restantes formas químicas son significativamente menos tóxicas. Así, la toxicidad de la plata en su forma soluble es probablemente debida a su alta afinidad por las proteínas y por los ácidos nucleicos inhibiendo los centros activos de las enzimas [Libuse y col., 2011].

Aunque la plata es un metal presente de forma natural en el medio acuático, sus concentraciones en las aguas son mínimas, estando comprendidas entre 1 y 10  $\mu\text{g/L}$ , excepto en aguas residuales procedentes de laboratorios fotográficos (del orden de 30  $\text{g/L}$ ). Las sales de plata, debido a su acción bacteriostática, se pueden usar para potabilización de aguas en relleno de filtros domésticos. En este sentido, en algunas ocasiones, el agua tratada de esta forma puede contener hasta 50  $\mu\text{g/L}$  de Ag.

Si la determinación de plata en aguas naturales, sobre todo en aguas salinas no ha sido tan estudiada como la de otros metales pesados, la especiación de la misma lo ha sido aún menos. La necesidad de realizar la especiación de plata en aguas naturales radica, como se ha comentado anteriormente, en la distinta toxicidad que se puede atribuir a cada una de sus especies. De este modo, determinar por ejemplo la fracción de Ag asociada a materia orgánica ofrece una idea de la proporción de la misma que debe ser fácilmente liposoluble. Por otro lado, la determinación de los distintos complejos que la plata forma con el ión cloruro en aguas salinas ( $\text{AgCl}^0$ ,  $\text{AgCl}_2^-$ ,  $\text{AgCl}_3^{2-}$  y  $\text{AgCl}_4^{3-}$ ) [Tappin y col., 2010], es importante debido a que la toxicidad de cada complejo es diferente, siendo el más importante la especie neutra  $\text{AgCl}^0$  [Bielmyer y col., 2008]. Por su parte, el ión libre en disolución no es tóxico para el hombre, pero es fácilmente bioacumulable y muy dañino para los organismos invertebrados [Bielmyer y col., 2008; Tappin y col., 2010]. Por sus aportaciones a los ecosistemas acuáticos, este ión es un trazador muy utilizado en monitorización de la contaminación urbana [Sweeney y Sañudo-Wilhelmy, 2004] por lo que resulta de gran interés su análisis en aguas. Hay que destacar que las bajas concentraciones de plata en muestras naturales hacen que sea necesario trabajar en condiciones de ultralimpieza utilizando salas blancas, minimizar la manipulación de las muestras, y también usar técnicas analíticas muy sensibles.

### **V.1.2. Plata coloidal**

Las propiedades antibacterianas, antivíricas y desinfectantes de la plata se conocen desde hace siglos. Su uso en la depuración ha sido conocido a través de los tiempos. Los fenicios, por ejemplo, utilizaban bloques de plata para purificar y mantener el agua, el vino y el vinagre puro durante viajes largos. Los pioneros norteamericanos que vinieron a Europa, empleaban monedas de plata y cobre en la leche para conservarla más tiempo a temperatura ambiente. Hoy en día, para estos fines, la plata se usa principalmente en su estado coloidal, es decir, una disolución en la que las partículas de plata se encuentran dispersas en agua. Históricamente, la plata coloidal se ha usado en muchas culturas alrededor del mundo, siendo un tratamiento para muchas enfermedades e infecciones antes de la penicilina. Sin embargo, los métodos de producción de plata coloidal han sido muy costosos [ETC Group, 2006], por lo que la industria farmacéutica dejó de hacer investigaciones coloidales y se enfocó en la producción de antibióticos, debido a la rapidez de la producción y los menores costes.

Es muy importante distinguir entre disoluciones de plata coloidal ( $\text{Ag}^0$ ) y plata iónica ( $\text{Ag}^+$ ) procedente de sales de este metal. La plata ionizada es completamente transparente y sin color, estando la disolución formada por átomos ionizados. Sin embargo, la plata coloidal está constituida por pequeñas partículas de plata metálica que, a su vez, están formadas por muchos átomos. Estas partículas, de tamaño muy pequeño, permanecen suspendidas en el disolvente debido a una pequeña carga eléctrica positiva presente en su superficie. Además, reflejan la luz dando el color amarillo característico de las disoluciones de plata coloidal. Para los humanos, la plata en su forma coloidal tiene una toxicidad prácticamente nula puesto que se excreta fácilmente del cuerpo a través de la orina y por las heces, y no se incorpora al torrente sanguíneo. Sin embargo, la exposición prolongada a grandes cantidades de plata iónica puede causar una condición caracterizada por una decoloración azul-gris permanente de la piel (argiria) o de los ojos (argirosis) [Cortese-Krott y col., 2009; Peng y col., 2012], debida a que se asimila en el tracto digestivo, llega a los tejidos donde se reduce y precipita dando ese aspecto azulado. Por ello, el empleo de plata coloidal como

medicamento puede ser arriesgado si no se controla la pureza de las partículas de plata y presenta un cierto porcentaje de iones de plata disueltos.

### **V.1.3. Métodos de análisis de plata**

Para la determinación de plata en aguas, se utilizan principalmente la espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS) [Ndungu, 2011; Kramer y col., 2011] y la espectroscopía de absorción atómica con llama (FAAS) [Yu y col., 2010; Karimi y col., 2011; Daşbaşı y col., 2012] o con horno de grafito (GFAAS) [Yang y col., 2009; Liang y Peng, 2010; Gerondi y Arruda, 2012; Ashkenani y Taher, 2012], siendo esta última la más sensible para determinar la concentración de plata en aguas naturales. Se pueden emplear también las técnicas voltamperométricas de redisolución [Zejli y col., 2007; Javanbakht y col., 2009] y la espectroscopía de absorción molecular UV-Vis con una etapa previa de preconcentración [Wen y col., 2012].

Las técnicas electroquímicas polarográficas tan utilizadas en análisis de metales en aguas, tienen ciertos inconvenientes para el análisis de plata, ya que este ión tiene un potencial de reducción extremadamente positivo, lo que dificulta su análisis empleando electrodo de mercurio. No obstante, esto puede resolverse mediante el empleo de electrodos modificados químicamente. En este trabajo, se estudiará la aplicabilidad del electrodo de pasta de carbono modificado con un ligando orgánico quelatante para la determinación y cuantificación de plata en muestras de aguas naturales.

## **V.2. ELECTRODOS MODIFICADOS QUÍMICAMENTE**

### **V.2.1. Fundamentos teóricos y antecedentes bibliográficos**

Los electrodos de pasta de carbono y de película de mercurio significaron el comienzo de una nueva era en Electroanálisis, los cuales pueden considerarse como precursores de los electrodos de superficie modificada. Con la utilización de un

electrodo modificado, se pueden controlar algunos fenómenos específicos que tienen lugar en el electrodo sin modificar y que reducen su aplicabilidad analítica. Entre los más importantes cabe destacar la precipitación o la adsorción de una especie no deseada en la superficie del electrodo o la cinética lenta de reacciones electroquímicas de algunas especies que requieren la aplicación de un sobrepotencial a fin de obtener la reacción deseada. Así, el material modificador se elige de tal manera que sea o bien selectivo e incluso específico a un analito en particular, o bien capaz de mediar reacciones redox que son lentas, o incluso imposibles, sobre el electrodo sin modificar.

Los materiales usados como soportes en los electrodos modificados químicamente son muy diversos: grafito (en forma de grafito pirolítico, carbón negro, carbón vítreo o cristalino y grafito en polvo), metales (platino y oro), semiconductores ( $\text{SnO}_2$ ,  $\text{InO}_2$  o mezclas de éstos) y polímeros conductores (polipirrol o polianilina y los metales orgánicos). Estos materiales poseen una elevada conductividad eléctrica, una buena resistencia a la corrosión y al ataque químico y una alta estabilidad química y mecánica.

La gama de especies modificadoras de soportes electródicos es muy amplia, variando desde depósitos metálicos o capas de óxidos metálicos, hasta el uso de compuestos o materiales orgánicos, enzimas o polímeros. La capa del modificador debe permitir la comunicación electroquímica entre el material del electrodo y la disolución que contiene el analito, lo cual se asegura normalmente gracias a la presencia de un grupo electroactivo en dicha capa modificadora o, en algunos casos, mediante el empleo de polímeros conductores.

Dependiendo del tipo de modificador utilizado y de la técnica de inmovilización empleada, la preconcentración del analito sobre la superficie del electrodo modificado puede deberse simplemente a un proceso físico de adsorción, o puede producirse por intercambio iónico si el modificador es, por ejemplo, una resina intercambiadora de iones [González y col., 2002], o por formación de complejos o compuestos de coordinación estables cuando se emplean como modificadores ligandos orgánicos [Afkhami y col., 2012a,b; Issa y col., 2012].

Las principales aplicaciones de los electrodos modificados en el área del electroanálisis son: determinación selectiva, preconcentración, electrocatálisis y eliminación de interferencias. Estas aplicaciones analíticas pueden utilizarse de forma simultánea, es decir, puede diseñarse por ejemplo, un electrodo que combine preconcentración con eliminación de interferencias, o con la electrocatálisis. Existen en la bibliografía diversas revisiones generales acerca de electrodos modificados químicamente. Cabe destacar la de Villalba sobre detectores electroquímicos que incorporan carbón como sustrato principal [Villalba y Davis, 2008], y la de Kumar sobre los electrodos modificados con polímeros o *composites* (resinas compuestas) con polímeros/nanotubos de carbono [Kumar y Chen, 2008].

### V.2.2. Electrodos de pasta de carbono

Los electrodos de pasta de carbono (CPE) fueron introducidos por Adams a finales de los años 50 como un intento de preparar un electrodo de carbono renovable, que pudiese ser utilizado en regiones de potenciales positivos donde los electrodos de mercurio no son aplicables [Adams, 1958]. La pasta de carbono es un material *composite* disperso, que consiste en una mezcla de polvo de grafito conductor y un líquido aglutinante. El polvo de grafito conductor es normalmente un polvo multicristalino con un diámetro de partícula medio entre 5 y 20  $\mu\text{m}$ , que debe poseer una serie de propiedades, como una distribución uniforme de tamaño de partícula, gran pureza química y baja capacidad de adsorción de oxígeno e impurezas electroactivas. El líquido aglutinante (aislante) debe ser escasamente volátil, insoluble en la disolución a analizar y, por supuesto, estar libre de impurezas electroactivas. Con este fin, suelen utilizarse el aceite de parafina o de silicona, nujol, bromoformo, bromonaftaleno, etc... En general, la adición del aglutinante de carácter hidrofóbico en la pasta, dificulta el acceso de los analitos hidrofílicos a la superficie del electrodo y disminuye la transferencia electrónica aumentando el sobrepotencial, por lo que la relación óptima entre el polvo de grafito y el líquido aglutinante viene determinada por las propiedades y la consistencia deseadas de la pasta.

En comparación con los electrodos de grafito sólido o de metales nobles, los electrodos de pasta de carbono presentan corrientes de fondo menores y tienen una zona de electroactividad que abarca aproximadamente de -1 a +1,3 V vs. ECS en medio ácido y de -1,5 a +1 V en medios neutros y alcalinos. En las medidas voltamperométricas realizadas en la zona de potenciales negativos, el oxígeno atrapado en la pasta interfiere seriamente. Cabe mencionar también que la reproducibilidad que se puede obtener con este tipo de electrodos es menor que la que se consigue con electrodos de mercurio, metales nobles o carbono vitrificado, obteniéndose valores de desviación estándar relativa de alrededor del 5%, aunque la zona de trabajo es una alternativa a la que presentan los electrodos de mercurio [Kleinberg, 1956]. La naturaleza heterogénea de los electrodos de pasta de carbono impide su aplicabilidad en medios no acuosos debido a la posible desintegración del material electródico al producirse la disolución de los componentes de la pasta en el disolvente [Kalcher y col., 1995a; Kissinger y Heineman, 1984]. Sin embargo, cuando se emplea el aceite de silicona como aglutinante, el electrodo de pasta de carbono puede ser usado en medios electrolíticos tales como metanol, acetonitrilo, dimetilformamida ó dimetil sulfóxido [Kalcher y col., 1995a].

#### **V.2.2.1. Electrodos de pasta de carbono modificados**

A mediados de la década de los años 70, la pasta de carbono comenzó a tener gran interés como material fácilmente modificable, introduciendo grupos funcionales complejantes en la superficie del carbono [Cheeck y Nelson, 1978], o mezclando directamente el modificador con la pasta [Ravichandran y Baldwin, 1981]. El electrodo de pasta de carbono es uno de los materiales más idóneos para la preparación de electrodos modificados, en comparación con otros sustratos sólidos que son más difíciles de modificar [Svancara y col., 2001]. La modificación se logra incorporando un reactivo químico en la pasta del electrodo, que le aporta nuevas propiedades (selectividad, control del efecto adsorptivo y estabilidad química y mecánica) que pueden ser explotadas para propósitos electroquímicos, incrementando así la sensibilidad y protegiendo la superficie del electrodo de reacciones indeseadas.

En general, el modificador puede ser una sustancia orgánica (agentes complejantes) o inorgánica (sales de metales), que debe cumplir los siguientes criterios y funciones en el electrodo de pasta de carbono [Kalcher, 1990]:

- Selectividad hacia las especies deseadas.
- Puede favorecer de forma catalítica la respuesta electroquímica del analito en la superficie del electrodo.
- No debe ser soluble en la muestra.
- Debe estar fuertemente adsorbido por los componentes de la pasta.
- No debe sufrir transformaciones electroquímicas en el intervalo de potencial aplicado a la especie analizada.

Para la modificación de los electrodos de pasta de carbono, se han utilizado una gran variedad de modificadores [Kalcher y col., 1995a; Svancara y col., 2001; Kalcher, 1990] entre los que se puede mencionar: agentes complejantes, resinas de intercambio iónico, minerales de intercambio iónico (zeolitas, arcillas) y sustancias húmicas entre otros, utilizando diversos métodos, algunos de ellos similares a los empleados para modificar otros tipos de electrodos sólidos. A continuación se indican algunos de estos métodos:

- La adsorción directa del modificador sobre la superficie del electrodo de pasta de carbono: este sistema es raramente utilizado porque este fenómeno se suele emplear para la preconcentración de especies electroactivas, pudiéndose producir competición entre el modificador y la especie electroactiva.

- La formación de enlaces covalentes entre el modificador y el electrodo: este método suele ser laborioso, pues requiere tratamientos complejos, como oxidación o silanización. Por otro lado, la disolución del modificador en el líquido aglutinante es aplicable solamente a sustancias con propiedades fuertemente lipofílicas.

- La modificación por mezcla directa del modificador con la pasta: sin lugar a dudas, este método, propuesto por Ravichandran y Baldwin es el más utilizado por su sencillez [Ravichandran y Baldwin, 1981]. La preparación consiste en una mezcla

directa de tres elementos: el modificador, el grafito y el aglutinante, cuidando de dar la mayor uniformidad posible a la pasta para obtener un material consistente. En este caso, la pasta se puede preparar de dos formas: mezclando el grafito con el modificador homogeneizando lo mejor posible y a continuación se le agrega el aglutinante, o bien disolviendo el modificador previamente en un disolvente (cloroformo, tetracloruro de carbono) y añadiendo posteriormente el grafito y el aglutinante, dejando, por último, evaporar el disolvente a temperatura ambiente.

De todos los tipos de electrodos modificados, los electrodos de pasta de carbono modificados han sido los más empleados con fines analíticos cuantitativos por su sencillez, versatilidad y facilidad de construcción sin necesidad de métodos químicos rigurosos para la modificación de la pasta.

#### **V.2.2.2. Aplicación de electrodos de pasta de carbono modificados por agentes complejantes a la preconcentración, separación y determinación de metales pesados**

La preconcentración y separación de metales se hace necesaria en aquellos casos donde la sensibilidad del método empleado es insuficiente para la determinación de trazas metálicas, así como para eliminar las interferencias presentes en la muestra. Cuando se incorpora un electrodo de pasta de carbono modificado por agentes complejantes en una disolución diluida de iones metálicos, bajo constante agitación durante un tiempo determinado, se produce la complejación de los iones presentes en la disolución por el agente complejante en la pasta de carbono, acumulándose en la superficie del electrodo y separándolo de las interferencias presentes en la muestra.

Una vez preconcentrados los iones metálicos en la superficie del electrodo, se procede a realizar las medidas voltamperométricas. Normalmente, se utilizan para ello las técnicas de voltamperometría de redisolución de impulso diferencial (DPV) y cíclica (CV). Los iones acumulados se reducen al estado elemental  $M^0$  tras aplicación de un potencial de reducción adecuado. Posteriormente, se aplica un barrido de potencial anódico y se mide la corriente resultante de la reoxidación de  $M^0$  [Prabhu y col., 1989]. Para mejorar la eficacia de la etapa de preconcentración, parámetros como



el pH y la fuerza iónica del medio, pueden ser optimizados por separado para cada una de las dos etapas: acumulación y medida [Pingarrón y Batanero, 1999].

Para lograr resultados reproducibles es necesaria la regeneración de la superficie del electrodo para eliminar cualquier componente electroactivo sobrante o adsorbido sobre el material del electrodo. Para ello se utilizan tres métodos diferentes de regeneración de esta superficie [Kalcher y col., 1995a; Svancara y col., 2001]:

- Regeneración electroquímica: aplicando un potencial extremo o barrido sucesivo.
- Regeneración química: utilizando una disolución de lavado, capaz de desorber los productos de la superficie del electrodo. Entre las diferentes sustancias aplicadas se suelen utilizar disoluciones reguladoras de citrato o  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , o disoluciones ácidas de  $\text{HCl}$  ó  $\text{HNO}_3$ .
- Regeneración mecánica: aplicando un corte de la capa del electrodo de pasta de carbono modificado después de cada medida. Este método requiere una gran homogeneidad del material electródico y un tratamiento totalmente análogo de la superficie del mismo para garantizar resultados reproducibles.

El método empleado para la regeneración de la superficie del electrodo depende de los mecanismos implicados en el proceso analítico. Siempre que sea posible, es preferible una regeneración química o electroquímica, puesto que así se asegura que el número de grupos funcionales reactivos en la superficie del electrodo permanece constante en una serie de medidas repetidas. No obstante, si se producen procesos de preconcentración química o extracción dentro del electrodo, se recomienda la renovación manual de la superficie para evitar riesgos de efecto memoria.

En la **Tabla V.1**, se recoge una revisión de las aplicaciones analíticas de los electrodos de pasta de carbono modificados por varios tipos de modificadores, para la determinación de metales en muestras reales de aguas de diferente naturaleza mediante voltamperometría.

### V.3. DESARROLLO Y OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO

Dado el interés mencionado en el análisis de metales en aguas, y en concreto en el análisis del ión  $Ag^+$ , se abordó como trabajo de investigación en este capítulo de la presente Tesis Doctoral el desarrollo de un nuevo método de redisolución voltamperométrico mediante modificación del electrodo de pasta de carbono con un reactivo sensible a este ión.

**Tabla V.1.** Aplicación de electrodos de pasta de carbono modificados en la determinación de metales en muestras de agua

Metal	Tipo de muestra	Modificador	Técnica	Referencia
$Ag^+$	Agua residual	Resinas quelatantes	ASV, CV	Li y col., 1990
$Fe^{2+}$	Agua natural y aleaciones de Al	1,10-fenantrolina/Nafion	DPASV, CV	Gao y col., 1990
$Fe^{2+}$	Agua natural y muestras de Al	2,2'-bipiridilo/Nafion	DPASV, CV	Gao y col., 1991
$Zn^{2+}$ $Cd^{2+}$ $Pb^{2+}$ $Cu^{2+}$ $Hg^{2+}$	Agua de grifo	Amberlita IRC-718	DPASV	Agraz y col., 1993
$Pb^{2+}$	Agua de río	Difeniltiocarbazona (Ditizona)	DPASV, CV	Molina y col., 1995
$Cu^{2+}$	Agua residual	Dowex 50W-8X	ASV	Labuda y col., 1995
$Hg^{2+}$	Agua potable y agua salina con adición de Hg	Montmorillonita (MMT)	DPASV, CV	Kula y col., 1999
$Cu^{2+}$	Agua subterránea y agua de mar sintéticas	Sílice	SWASV, CV	Walcarius y col., 1999
$Co^{2+}$	Agua potable	2,4,6-tri(3,5-dimetilpirazol)-1,3,5-triazina	DPASV	Lu y col., 2000
$Cu^{2+}$	Agua de grifo	Aminopropil/sílice (APS)	SWASV	Etienne y col., 2001
$Ni^{2+}$	Agua de grifo y agua mineral	Dowex 50W x 12	AdASV	González y col., 2002

**Cont. Tabla V.1.** Aplicación de electrodos de pasta de carbono modificados en la determinación de metales en muestras de agua

Metal	Tipo de muestra	Modificador	Técnica	Referencia
Cd <sup>2+</sup>	Agua de pozo con adición de Cd	2-benzotiazoltil/silice	DPASV	Marino y col., 2003
Pb <sup>2+</sup> Cd <sup>2+</sup>	Aguas cercanas a acerías	Diacetildioxima	DPSV	Hu y col., 2003
Ag <sup>+</sup>	Agua residual y aleaciones de Zn	Violeta de Alizarina	AdASV, CV	Li y col., 2005
Hg <sup>2+</sup>	Agua de río y agua de mar	1,3,4-tiodiazol-2,5-ditol-HDTA-montmorillonita	DPASV, CV	Filho y Carmo, 2006
Ag <sup>+</sup>	Agua de río, agua de grifo y películas fotográficas de rayos X	3-amino-2-mercapto quinazolin-4(3H)-ona	DPASV, CV	Mohadesi y Taher, 2007
Pt <sup>4+</sup> Ir <sup>3+</sup> Os <sup>4+</sup>	Agua industrial residual con adición de metal	Surfactantes catiónicos	DPCSV	Svancara y col., 2007
Cd <sup>2+</sup>	Agua superficial y agua potable con adición de Cd	1-furoil-3-p-tetradecilfenil-tiourea, 1-furoil-3-bencil-3-fenil-tiourea	DPASV, CV	Estévez-Hernández y col., 2007
Cd <sup>2+</sup>	Agua de grifo y aguas residuales	Hidroxiapatita (HAP) Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	SWASV	El Mhammedi y col., 2009a
Pb <sup>2+</sup>	Agua de grifo y aguas residuales	Hidroxiapatita (HAP) Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	SWASV, CV	El Mhammedi y col., 2009b
Ag <sup>+</sup>	Agua de mar, agua de grifo y agua contaminada	Feniltiourea/silice (Tu-SBA-15)	DPASV	Javanbakht y col., 2009
Cd <sup>2+</sup> Pb <sup>2+</sup>	Agua de grifo con adición de metal	Antimonio	SWASV, SCP	Svobodova-Tesarova y col., 2011
Pb <sup>2+</sup>	Agua de río, agua de grifo y agua mineral	1,1'-tiobis(naftaleno-2,1-diil)bis(2-aminobenzoato) (TNBA)	P	Mashhadizadeh y col., 2011
Mo <sup>6+</sup>	Agua de río, de grifo, de lluvia, de pozo y productos alimenticios	Dodecil sulfato sódico	AdASV	Deng y col., 2011

**Cont. Tabla V.1.** Aplicación de electrodos de pasta de carbono modificados en la determinación de metales en muestras de agua

Metal	Tipo de muestra	Modificador	Técnica	Referencia
Hg <sup>2+</sup> Pb <sup>2+</sup>	Agua de mar, agua residual, tabaco y dientes marinos y humanos	3-(4-metoxi-benzilidenoamino)-2-tioxotiazolidin-4-ona	SWASV, CV	Afkhami y col., 2012a
Hg <sup>2+</sup> Cd <sup>2+</sup>	Agua de grifo, peces, plantas y productos alimenticios	Iluro de fósforo nitro benzoil difenilmetileno-fosforano (N-BDMP)	SWASV, CV	Afkhami y col., 2012b
Hg <sup>2+</sup>	Agua subterránea y agua de río con adición de Hg	Nanopartículas de sílice funcionalizada con derivado del 5-mercapto-1-metiltetrazol	SWASV	Sanchez y col., 2012
Cu <sup>2+</sup>	Agua de río, agua mineral, leche en polvo, bronce en polvo y varillas de cobre	Etioporfirina I	P	Issa y col., 2012

*AdASV: Voltamperometría de redisolución anódica adsorbtiva; ASV: Voltamperometría de redisolución anódica; CV: Voltamperometría cíclica; DPASV: Voltamperometría de redisolución anódica de impulso diferencial; DPCSV: Voltamperometría de redisolución catódica de impulso diferencial; DPSV: Voltamperometría de redisolución de impulso diferencial; P: Potenciometría; SWASV: Voltamperometría de redisolución anódica de onda cuadrada*

### V.3.1. Procedimiento experimental y estudios previos

#### V.3.1.1. Preparación del electrodo de pasta de carbono modificado

Para la preparación del electrodo de pasta de carbono, se emplearon los reactivos que se describen a continuación:

- Grafito comercial de la marca Ultra Carbon, comercializado bajo el nombre de Ultra F Purity y distribuido por la casa Alfa Aesar como Graphite Powder, Natural, High Purity, -200 Mesh, 99,9999% (Metal Basis), que de aquí en adelante se denominará grafito “Ultra Fino (UF)” para facilitar la descripción.
- Aceite mineral como aglutinante de la pasta de carbono. Se ha utilizado parafina (USP, BP, Ph. Eur.) PRS-CODEX de Panreac, de densidad 0,845 g/mL.

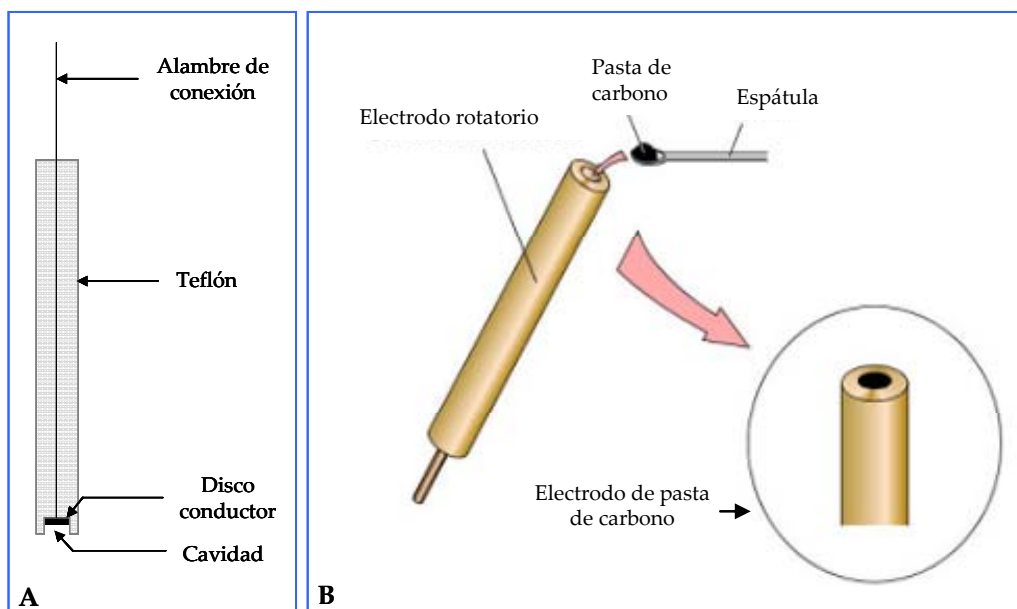
- Aroilhidrazonas sintetizadas por el propio grupo de investigación, para su utilización como agentes modificadores de la pasta de carbono, con el objetivo de estudiar su comportamiento frente a iones metálicos en disolución. Se estudiaron cuatro aroilhidrazonas: 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH), 2-hidroxibenzaldehído N-etiltiosemicarbazona (2-HBET), piridoxal de la saliciloilhidrazona (PSH) y 2-acetilpiridina saliciloilhidrazona (2-APSH).

La pasta de carbono no modificada se preparó mezclando en mortero de ágata: 0,1 g de polvo de grafito UF y 0,072 mL de aceite mineral parafina. Por su parte, la pasta de carbono modificada fue preparada de una manera similar, salvo que en este caso en primer lugar se mezclaron y homogeneizaron con ayuda de una espátula, unos 0,09 g de grafito y 0,01 g de reactivo (2-HBBH, 2-HBET, PSH ó 2-APSH) previamente molturado en mortero de ágata, y a continuación, y sobre esta mezcla se añadió un volumen de 0,072 mL de aceite mineral.

El material de vidrio y el mortero de ágata donde se preparó la pasta de carbono, fueron lavados inicialmente con abundante agua y detergente y a continuación varias veces con agua desionizada Milli-Q (Millipore). Posteriormente, se lavaron con una disolución de ácido nítrico 2 mol/L con la finalidad de conseguir el mayor grado de limpieza posible. Finalmente, todo el material se enjuagó con agua desionizada (Milli-Q). La síntesis de los reactivos utilizados para la modificación del electrodo de pasta de carbono, se describe en los anexos, excepto la del ligando 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH), que fue descrita en el capítulo II de la presente Tesis.

Los electrodos de pasta de carbono modificados y sin modificar se obtuvieron colocando una pequeña porción de la pasta preparada en la cavidad final de la punta de teflón de un electrodo rotatorio (1,25 mm de profundidad y 3 mm de diámetro) con ayuda de una espátula. La superficie del electrodo fue alisada con un papel satinado limpio mientras se aplicaba una presión manual leve para compactar la pasta colocada. El área de la superficie activa del electrodo usado fue de 0,07 cm<sup>2</sup>. En la **Figura V.1**, se

puede ver un esquema del electrodo rotatorio (A) y su preparación (B), y en la **Figura V.2** se muestra una imagen del electrodo de pasta de carbono utilizado en este trabajo.



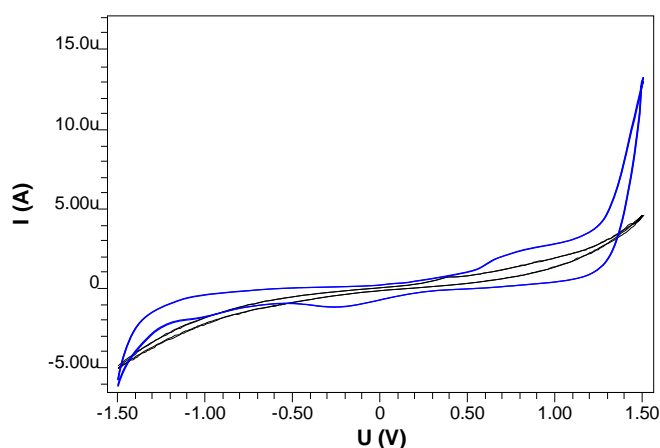
*Figura V.1. Esquema del electrodo rotatorio (A) utilizado para la preparación del electrodo pasta de carbono (B) [<http://www.als-japan.com/1039.html>]*



*Figura V.2. Electrodo de pasta de carbono utilizado*

### V.3.1.2. Comportamiento electroquímico de los diferentes electrodos de pasta de carbono modificados

Una vez obtenidos los electrodos de pasta de carbono modificados con las cuatro aroilhidrazonas estudiadas, se procedió a caracterizarlos mediante voltamperometría cíclica. Para ello, se agitó cada uno de estos electrodos durante 5 min en unos 20 mL de disolución reguladora universal Britton-Robinson (B.R.) 0,1 mol/L después de 5 min de purga con N<sub>2</sub>, aplicando posteriormente un barrido de potencial triangular entre -1,5 y +1,5 V a 100 mV/s. En la **Figura V.3** aparece a modo de ejemplo, el voltamperograma cíclico del electrodo de pasta de carbono modificado con el reactivo 2-HBBH al 12,43%, en un medio electrolítico de B.R 0,1 mol/L a pH 6.



**Figura V.3.** Voltamperogramas cíclicos del electrodo de pasta de carbono empleando electrolito B.R. 0,1 mol/L (pH 6). (Negro): sin modificar y (Azul): modificado con la 2-HBBH

Este estudio fue ampliado en un rango de pH del electrolito entre 2 y 10, con objeto de evaluar el comportamiento electroquímico de los cuatro electrodos fabricados frente a los iones metálicos en disolución. Los estudios realizados mediante esta técnica permiten evaluar aspectos de comportamiento electroquímico de los electrodos modificados con distintos reactivos orgánicos, tanto en lo que se refiere a la señal base (electrolito soporte) como en presencia de analitos. Cabe mencionar que la

voltamperometría cíclica es una técnica poco sensible, por lo que es necesario utilizar concentraciones altas de analito para asegurar su respuesta independientemente de cuales sean las condiciones experimentales.

Estos estudios permiten también obtener información acerca de la naturaleza del proceso electroquímico que ocurre en la superficie del electrodo en presencia, en este caso, del metal. Dado que los iones metálicos dan lugar a reacciones de oxidación-reducción, el voltamperograma debe reflejar la existencia de una señal anódica o catódica.

Para ello, y después de haber lavado el electrodo preparado con agua desionizada (Milli-Q) agitándolo durante un periodo de tiempo determinado en la celda de preconcentración, se sumergió el electrodo durante 5 min bajo agitación en 20 mL de una disolución electrolítica de B.R. 0,1 mol/L, previamente purgada durante 5 min con N<sub>2</sub>. Una vez terminada la etapa de acumulación en ausencia de analito en condiciones de circuito abierto, se realizó un barrido anódico entre -1 y +1 V y luego otro barrido catódico en el sentido contrario a una velocidad de 100 mV/s, para registrar el voltamperograma cíclico del electrodo. Este procedimiento se repitió varias veces hasta que se observó un comportamiento reproducible en las medidas. En el rango del potencial aplicado sólo se observó corriente residual.

Después de varios barridos consecutivos con un comportamiento estable, el electrodo fue sometido posteriormente a voltajes cíclicos entre -1 y +1 V a 100 mV/s en presencia de analito, estudiando diversos iones metálicos de interés. La cantidad de analito en la celda de medida fue 2 mg/L. El salto de potencial y el tiempo de salto de potencial que se emplearon en estos experimentos fueron 5 mV y 50 s, respectivamente.

La limpieza de la celda de medida y la eliminación del metal de la superficie del electrodo se llevaron a cabo agitando el electrodo con una disolución 0,1 mol/L de HCl durante 5 min. Después de repetir este paso varias veces y después de lavar con agua Milli-Q, se sumergió el electrodo en la disolución del electrolito y se hizo un barrido en



el mismo rango de potencial que la medida realizada con el analito, para registrar de nuevo un fondo preparándolo para la próxima medida con otro metal.

Siguiendo el procedimiento indicado, y con los electrodos de pasta de carbono modificados con los cuatro reactivos estudiados: 2-HBBH, 2-HBET, PSH y 2-APSH, se probaron 15 metales:  $\text{Bi}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{As}^{5+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Tl}^+$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{V}^{5+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ , para ver la respuesta de cada metal con cada uno de los cuatro electrodos preparados a diferentes valores de pH, utilizando como electrolito la disolución reguladora B.R. 0,1 mol/L. De todos los metales estudiados se obtuvo respuesta para  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{Bi}^{3+}$  mediante voltamperometría cíclica en las condiciones experimentales empleadas. La aparición de la señal electroquímica es posible gracias a la previa preconcentración del metal tras su reacción con el ligando orgánico en la superficie del electrodo y su carácter electroactivo en las condiciones de medida.

En la **Tabla V.2** se indican los metales que produjeron señal voltamperométrica utilizando cada uno de los electrodos modificados con los diversos ligandos orgánicos, a pH 2, 4, 6, 8 y 10.

**Tabla V.2.** Iones metálicos que producen señal electroquímica empleando electrodos de pasta de carbono modificados con ligandos orgánicos (electrolito de pH = 2-10)

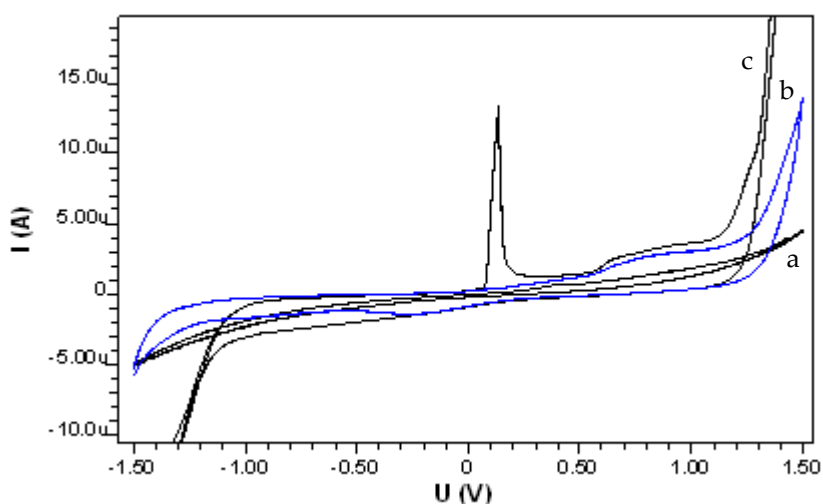
pH de la muestra	Ligando modificador <sup>a, b</sup>			
	2-HBBH	2-HBET	PSH	2-APSH
2	Cu, Hg, Ag	Ag	Cu, Hg, Ag	Bi, Pb, Cu, Hg, Ag
4	Cu, Hg, Ag	Cu, Hg, Ag	Cu, Hg, Ag	Pb, Cu, Hg, Ag
6	Cu, Ag	n.d.	Cu, Hg, Ag	Cu, Hg, Ag
8	n.d.	n.d.	Cu, Hg, Ag	Hg, Ag
10	n.d.	n.d.	Ni, Hg, Ag	Hg, Ag

<sup>a</sup> **2-HBBH:** 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona; **2-HBET:** 2-hidroxibenzaldehído N-etiltiosemicarbazona; **PSH:** piridoxal de la saliciloilhidrazona; **2-APSH:** 2-acetilpiridina saliciloilhidrazona.

<sup>b</sup> n.d.: no detectado

Comparando los voltamperogramas obtenidos para los cuatro electrodos con el mismo metal, se observó un comportamiento parecido en el caso de  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  y  $\text{Ag}^+$ , obteniéndose como respuesta un único pico de oxidación para cada metal.

Para los cuatro electrodos, todos los voltamperogramas cíclicos obtenidos con los metales que dieron respuesta electroquímica, mostraron la existencia de un pico de oxidación. En la **Figura V.4**, se muestra el voltamperograma cíclico obtenido con el electrodo de pasta de carbono modificado con la 2-HBBH al 12,43% en presencia de 2 mg/L de  $\text{Ag}^+$ , en un medio electrolítico formado por la disolución de B.R. 0,1 mol/L de pH 6. Como puede observarse, en las condiciones empleadas se obtuvo un solo pico de oxidación a 0,1 V.



**Figura V.4.** Voltamperogramas cíclicos con electrodo de pasta de carbono empleando electrolito B.R. 0,1 mol/L (pH 6). (a): electrodo sin modificar en presencia de 2 mg/L de  $\text{Ag}^+$ ; (b): electrodo modificado en ausencia de  $\text{Ag}^+$  y (c): electrodo modificado en presencia de 2 mg/L de  $\text{Ag}^+$

Como se ha comentado anteriormente, la voltamperometría cíclica no puede considerarse una técnica cuantitativa. Por ello, se decidió continuar con el estudio del comportamiento del electrodo de pasta de carbono modificado utilizando la

voltamperometría de redisolución anódica de impulso diferencial (DPASV), ya que esta técnica posee una sensibilidad elevada y adecuada para estudiar tanto sistemas reversibles como sistemas irreversibles. De esta forma, el trabajo de investigación llevado a cabo en este capítulo, se centró en el desarrollo del electrodo de pasta de carbono modificado con el ligando 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH) empleado ya en esta Tesis en el capítulo II y aplicándolo a la determinación del ion plata. Se seleccionó el ion  $\text{Ag}^+$  por ser un metal muy interesante como indicador de contaminación antropogénica en las aguas, y utilizado como trazador de vertidos urbanos [Sañudo-Wilhelmy y Flegal, 1992]. Obviamente, se necesitan métodos analíticos suficientemente sensibles para evaluar el contenido de este metal a nivel de trazas y ultratrazas en muestras de agua natural, por lo que parece apropiado desarrollar nuevos métodos que permitan mejorar la sensibilidad con respecto a los ya existentes empleando electrodos convencionales, y cuya aplicación sea sencilla y de bajo coste.

El procedimiento DPASV que se propuso para el análisis de  $\text{Ag}^+$  mediante el electrodo de pasta de carbono modificado consistía en tres etapas después de un tiempo de purga previo con nitrógeno: acumulación, reducción y redisolución [Rohani y Taher, 2010].

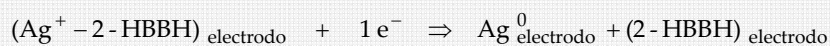
#### *a) Etapa de acumulación*

En esta etapa, el electrodo de pasta de carbono modificado fue sumergido en 20 mL de la disolución del electrolito. Después de registrar la línea base se adicionó a la celda una concentración determinada de  $\text{Ag}^+$  preconcentrándose en condiciones de circuito abierto sin aplicación de ningún potencial durante un tiempo determinado y bajo agitación. En estas condiciones, la plata se acumulaba directamente desde la disolución en la que estaba sumergido el electrodo, mediante formación de un complejo organometálico con el agente modificador del electrodo de pasta. Esta reacción puede representarse de la siguiente manera:



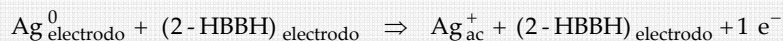
**b) Etapa de reducción**

Después de la etapa de acumulación y transcurrido un periodo de equilibración, la plata acumulada fue reducida tras la aplicación de un potencial de reducción constante durante un tiempo determinado sin agitación:

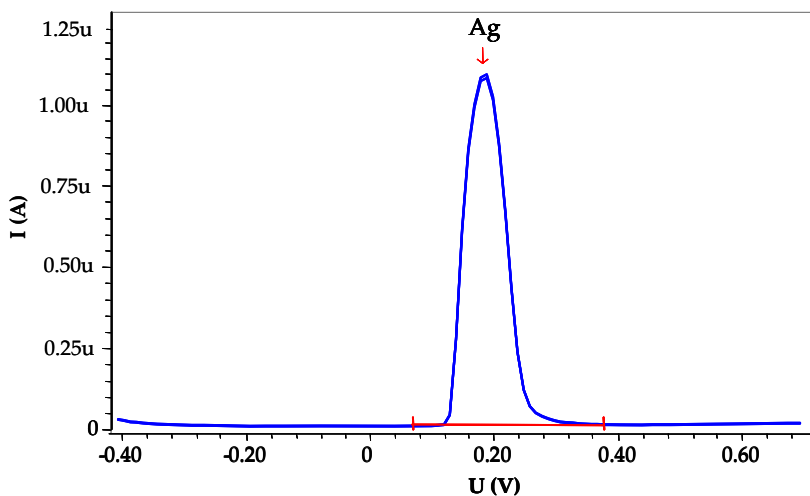


**c) Etapa de redisolución**

Inmediatamente, la plata reducida ( $\text{Ag}^0$ ) se redisolvió de nuevo hacia el electrolito tras la aplicación de un barrido de potencial anódico a 100 mV/s, permitiendo registrar una señal electroquímica entre -400 mV y 700 mV, empleando una amplitud de impulso de 50 mV y un período de impulso de 40 ms. Todas las medidas se llevaron a cabo a temperatura ambiente (23 °C). La señal obtenida era debida a la reoxidación de  $\text{Ag}^0$  según la siguiente reacción:



En la **Figura V.5** se recoge el voltamperograma de impulso diferencial registrado para una concentración de 100 µg/L de  $\text{Ag}^+$  en un medio electrolítico formado por B.R. 0,1 mol/L de pH 6, aplicando un tiempo de purga de 300 s, un tiempo de acumulación de 120 s y siendo el potencial aplicado durante la etapa de reducción de -0,4 V. En esta figura puede observarse el pico de reoxidación del metal en cuestión con una sensibilidad adecuada.



**Figura V.5.** Señal electroquímica de  $Ag^+$  obtenida con electrodo de pasta de C modificado con 2-HBBH (Condiciones experimentales:  $Ag^+=100 \mu g/L$ ;  $t_{purga}=300 s$ ;  $t_{ac}=120 s$ ;  $t_{red}=120 s$ ;  $E_{red}=-0,4 V$ ;  $t_{eq}=5 s$ ;  $v_{ag}=2000 rpm$ ;  $U_s=4 mV$ ;  $t_s=0,1 s$ ;  $P=50 mV$ ;  $t_p=40 ms$ )

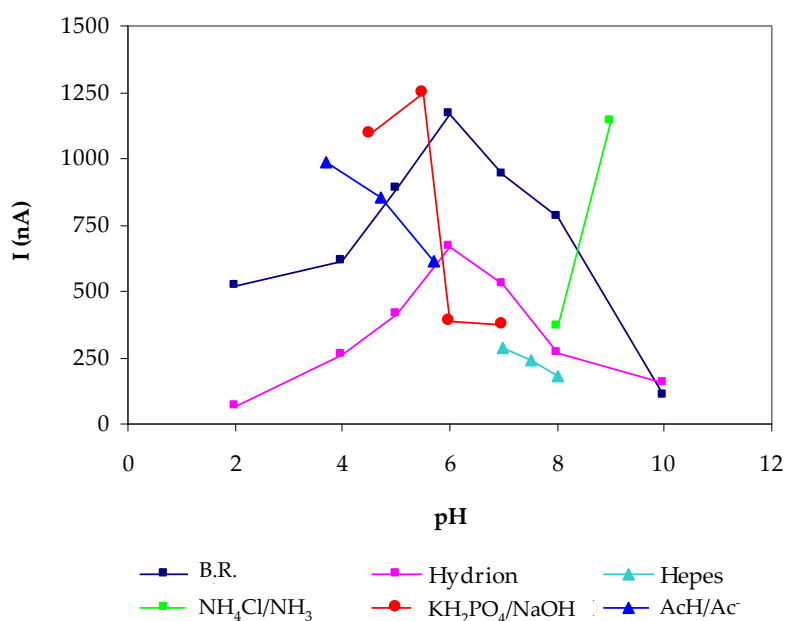
### V.3.1.3. Influencia del pH, naturaleza y concentración del electrolito

La naturaleza y el pH del electrolito influyen de forma muy importante en la señal de un proceso voltamperométrico, tanto en la forma de la línea base como en las diversas reacciones químicas que se producen en la celda y en el electrodo. Así, existen varios motivos por los que se puede elegir un determinado sistema regulador de pH en un proceso voltamperométrico. Puede que lo que se busque sea disminuir la interferencia de una señal demasiado próxima a la que interesa o que origine una línea base con menos ruido. Sin embargo, la mayoría de las veces lo que se pretende es que el sistema regulador del pH favorezca el proceso químico, consiguiendo aumentar la sensibilidad de la medida.

Por ello, se estudió la influencia del pH y la naturaleza del electrolito (disolución reguladora: Britton-Robinson,  $NH_4Cl/NH_3$ , Hydrion,  $KH_2PO_4/NaOH$ , Hepes y  $HAc/NaAc$ ) sobre la intensidad y el potencial de pico de oxidación del ion plata. El electrodo utilizado se realizó con pasta de C modificada con un 12,43% de 2-HBBH. El

análisis se realizó aplicando un período de acumulación de 120 s a circuito abierto, siendo la muestra una disolución de 100  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Ag}^+$ , con el pH ajustado en un rango de 2 a 10. La reducción del metal acumulado se llevó a cabo en este estudio aplicando un potencial de -0,4 V durante 120 s.

Como puede apreciarse en los resultados representados en la **Figura V.6** la intensidad de pico era fuertemente dependiente del pH y del electrolito empleado.

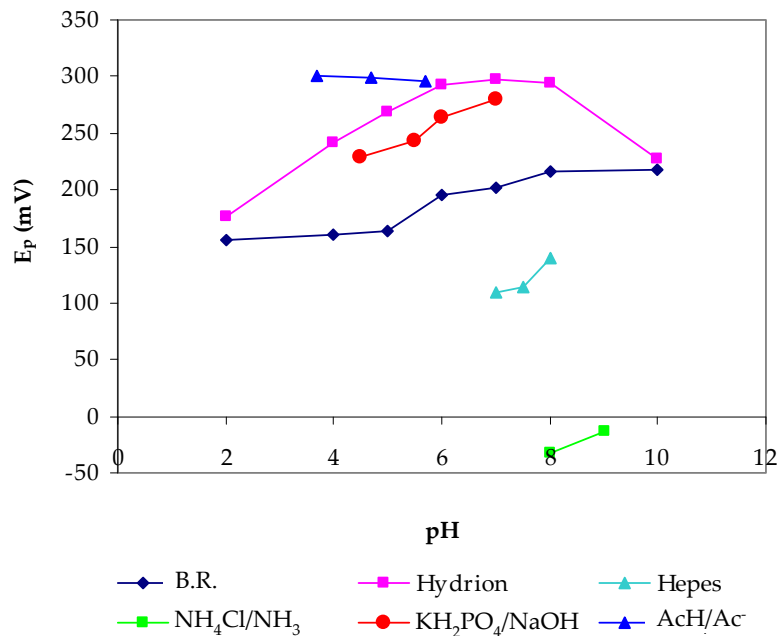


**Figura V.6.** Influencia del pH y de la naturaleza del electrolito sobre la intensidad voltamperométrica de  $\text{Ag}^+$  (Condiciones experimentales:  $\text{Ag}^+ = 100 \mu\text{g/L}$ ;  $t_{\text{purga}} = 300 \text{ s}$ ;  $t_{\text{ac}} = 120 \text{ s}$ ;  $t_{\text{red}} = 120 \text{ s}$ ;  $E_{\text{red}} = -0,4 \text{ V}$ ;  $t_{\text{eq}} = 5 \text{ s}$ ;  $v_{\text{ag}} = 2000 \text{ rpm}$ ;  $U_s = 4 \text{ mV}$ ;  $t_s = 0,1 \text{ s}$ ;  $P = 50 \text{ mV}$ ;  $t_p = 40 \text{ ms}$ )

Para la disolución reguladora Britton-Robinson (B.R.) y para la Hydrion, la intensidad del pico aumentó con el pH alcanzando un máximo a pH 6 y disminuyendo a valores de pH altos. Algo parecido ocurría con la reguladora de fosfato, siendo en este caso el valor de pH de 5,5 el que ofrecía mejores resultados. Por el contrario, para HAc/Ac<sup>-</sup> y HEPES la intensidad disminuyó pasando de pH 3,7 a 5,7 y de 7 a 8,

respectivamente. En un medio con  $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_3$  la intensidad se incrementó 3 veces más pasando de pH 8 a 9. Atendiendo a estos resultados y a los valores máximos de señal obtenidos, se concluyó que se podían emplear las reguladoras B.R., HAc/Ac y fosfato en un intervalo de pH entre 4 y 6.

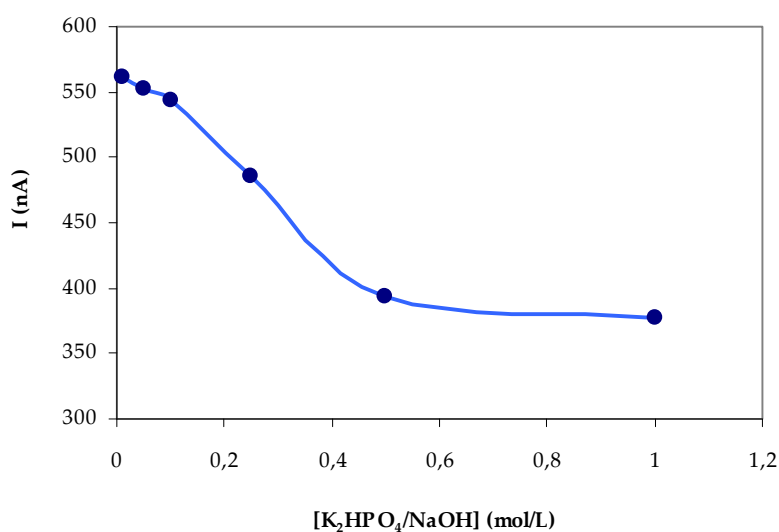
En la **Figura V.7** se recoge para este mismo estudio cómo se modificó el potencial del pico de oxidación de  $\text{Ag}^+$  al aumentar el pH para cada una de las disoluciones reguladoras estudiadas. Puede verse, como los potenciales de pico a los que aparece la señal anódica se iban desplazando hacia valores más positivos al aumentar el valor de pH del electrolito, excepto en el caso de la reguladora AcH/Ac, para la cual este potencial permanece prácticamente constante.



**Figura V.7.** Influencia del pH y la naturaleza del electrolito sobre el potencial de oxidación de  $\text{Ag}^+$  (Condiciones experimentales:  $\text{Ag}^+ = 100 \mu\text{g/L}$ ;  $t_{\text{purga}} = 300 \text{ s}$ ;  $t_{\text{ac}} = 120 \text{ s}$ ;  $t_{\text{red}} = 120 \text{ s}$ ;  $E_{\text{red}} = -0,4 \text{ V}$ ;  $t_{\text{eq}} = 5 \text{ s}$ ;  $v_{\text{ag}} = 2000 \text{ rpm}$ ;  $U_s = 4 \text{ mV}$ ;  $t_s = 0,1 \text{ s}$ ;  $P = 50 \text{ mV}$ ;  $t_p = 40 \text{ ms}$ )

Atendiendo a estos resultados y para los siguientes estudios se seleccionó la disolución de  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  a pH 5,5 porque parecía ofrecer mejor señal de intensidad para el pico de oxidación de  $\text{Ag}^+$ .

Por último, se estudió la influencia de la concentración de la disolución reguladora seleccionada como medio electrolítico sobre la intensidad de la señal electroquímica. Este estudio se llevó a cabo añadiendo a la celda de medida 100  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Ag}^+$  y variando la concentración de la disolución reguladora  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  entre 0,01 y 1 mol/L (pH 5,5). Al final de cada experimento se medía el pH del electrolito para comprobar la capacidad reguladora de la disolución empleada. Los resultados obtenidos están representados en la **Figura V.8**, donde puede apreciarse como la respuesta del electrodo disminuía a medida que aumentaba la concentración de la disolución reguladora, manteniéndose aproximadamente constante a concentraciones altas y bajas.



**Figura V.8.** Influencia de la concentración de la disolución reguladora sobre la intensidad de la señal (Condiciones experimentales:  $\text{Ag}^+=100 \mu\text{g/L}$ ; Electrolito:  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  a pH 5,5;  $t_{\text{purga}}=60 \text{ s}$ ;  $t_{\text{ac}}=60 \text{ s}$ ;  $t_{\text{red}}=60 \text{ s}$ ;  $E_{\text{red}}=-0,4 \text{ V}$ ;  $t_{\text{eq}}=5 \text{ s}$ ;  $v_{\text{ag}}=2000 \text{ rpm}$ ;  $U_s=4 \text{ mV}$ ;  $t_s=0,1 \text{ s}$ ;  $P=50 \text{ mV}$ ;  $t_p=40 \text{ ms}$ )



Por tanto, se escogió para estudios posteriores la concentración 0,1 mol/L, ya que a concentraciones aún más bajas (0,01 mol/L), a pesar de que la intensidad obtenida era ligeramente más alta, se detectó una disminución en la capacidad reguladora de la disolución de  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ , disminuyendo el pH del electrolito al final de la medida desde 5,5 hasta 3,86.

### **V.3.2. Características analíticas del complejo $\text{Ag}^+$ -2-HBBH**

Con objeto de conocer la composición y naturaleza del complejo metálico que se forma durante el proceso adsorptivo se estudiaron su estequiometría y constante de formación. Previamente a ello, era necesario conocer sus características espectrofotométricas.

#### **V.3.2.1. Características espectrofotométricas del complejo $\text{Ag}^+$ -2-HBBH en disolución**

Para el estudio del complejo metálico  $\text{Ag}^+$ -2-HBBH en disolución acuoetanólica se llevó a cabo un análisis previo por espectroscopía de absorción molecular UV-Vis tanto para la disolución de 2-HBBH como para el complejo obtenido con  $\text{Ag}^+$ . De esta forma se determinó la longitud de onda de máxima absorción para ambos. Las medidas se llevaron a cabo en un espectrofotómetro JASCO, modelo V-650, aplicándose un barrido de longitudes de onda de 190 hasta 900 nm.

En primer lugar, se preparó una disolución concentrada de 2-HBBH  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L, disolviendo 0,012 g de reactivo en 25 mL de etanol. A partir de esta disolución, se preparó por dilución con agua desionizada una muestra de 10 mL de concentración  $8 \cdot 10^{-5}$  mol/L, utilizada para hacer el espectro de la 2-HBBH (disolución acuetanólica con un 4% v/v de etanol). El pH de esta muestra se ajustó a 5,5 empleando 1 mL de disolución reguladora  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  1 mol/L. En el espectro de absorción se apreciaron dos bandas de absorción a 288 y 324 nm, características de la 2-HBBH en disolución acuoetanólica.

Para la determinación de la longitud de onda a la que absorbe el complejo metálico  $\text{Ag}^+$ -2-HBBH, se registró la señal espectrofotométrica de seis disoluciones

acuetoanólicas (4% v/v de etanol) compuestas de igual forma que la disolución anterior pero adicionando metal de forma sucesiva desde 0 a  $2,4 \cdot 10^{-4}$  mol/L. De esta forma se encontró una banda de máxima absorción del complejo  $\text{Ag}^+$ -2-HBBH a 252 nm de longitud de onda.

### V.3.2.2. Estequiometría del complejo $\text{Ag}^+$ -2-HBBH

Para evaluar la estequiometría del complejo  $\text{Ag}^+$ -2-HBBH, se emplearon dos métodos diferentes: el método de la razón molar, manteniendo la concentración de metal constante o el ligando constante y el método de las variaciones continuas o método de Job (estos métodos fueron comentados en el capítulo II).

#### a) Cálculo de la estequiometría por el método de la razón molar: Metal constante

Se prepararon varias disoluciones conteniendo todas la misma concentración del ión metálico  $\text{Ag}^+$  pero diferentes concentraciones del ligando 2-HBBH. De esta forma se obtuvieron diferentes relaciones o razones de concentración ligando/metal. Las disoluciones se prepararon adicionando en un matraz de 10 mL los volúmenes de reactivos que se indican en la **Tabla V.3**, utilizando una disolución etanólica de 2-HBBH de  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L y una disolución de metal de  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L ajustando el pH a 5,5 mediante adición de disolución tampón  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  1 mol/L. Las absorbancias de dichas disoluciones se midieron a 252 nm. Para evitar diferencias de matriz, todas las disoluciones tuvieron una misma relación de volumen etanol/agua de 2:8. En la **Tabla V.4** se detalla la composición de los blancos correspondientes a cada muestra, realizando correcciones para las muestras en las que el reactivo se encontraba en exceso por absorber a la longitud de onda de medida.

La representación de los valores de absorbancia medidos para estas muestras se recoge en la **Figura V.9**. Como se puede observar, la intersección de las dos líneas de regresión de los puntos experimentales a bajas y altas concentraciones de ligando, corresponde a un valor de 2 para la relación molar L:M, indicando una estequiometría 2:1 para 2-HBBH: $\text{Ag}^+$ .

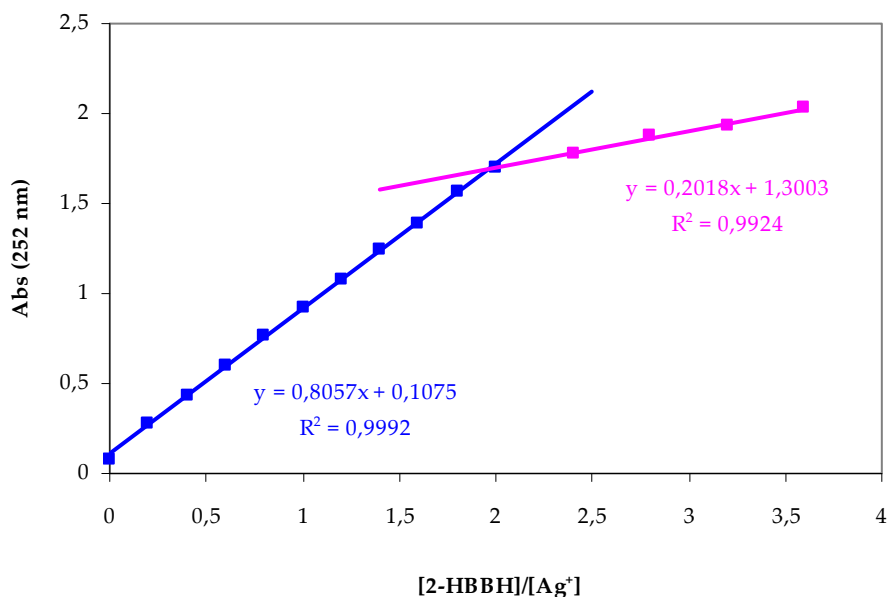
**Tabla V.3.** Composición y absorbancia de las disoluciones utilizadas para la determinación de la estequiometría del complejo  $\text{Ag}^+$ -2-HBBH aplicando el método de la razón molar: Metal constante (volumen final = 10 mL)

Muestra	$V_T$	$V_{\text{Ag}}$	$V_{2\text{-HBBH}}$	$V_{\text{Et}}$	$R_{2\text{-HBBH}/\text{Ag}}$	Abs (252 nm)
1	1	0,5	0	2	0	0,075
2	1	0,5	0,1	1,9	0,2	0,278
3	1	0,5	0,2	1,8	0,4	0,432
4	1	0,5	0,3	1,7	0,6	0,601
5	1	0,5	0,4	1,6	0,8	0,763
6	1	0,5	0,5	1,5	1	0,922
7	1	0,5	0,6	1,4	1,2	1,080
8	1	0,5	0,7	1,3	1,4	1,241
9	1	0,5	0,8	1,2	1,6	1,391
10	1	0,5	0,9	1,1	1,8	1,566
11	1	0,5	1	1	2	1,695
12	1	0,5	1,2	0,8	2,4	1,711
13	1	0,5	1,4	0,6	2,8	1,876
14	1	0,5	1,6	0,4	3,2	1,935
15	1	0,5	1,8	0,2	3,6	2,031

$V_T$ : volumen de tampón  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  1 mol/L (pH 5,5);  $V_{\text{Ag}}$ : volumen de  $\text{Ag}^+$   $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L;  $V_{2\text{-HBBH}}$ : volumen de 2-HBBH  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L en etanol;  $V_{\text{Et}}$ : volumen de etanol;  $R_{2\text{-HBBH}/\text{Ag}}$ : relación molar 2-HBBH/ $\text{Ag}^+$

**Tabla V.4.** Composición de las disoluciones utilizadas como blancos para las muestras de la **Tabla V.3**

Muestra	$V_T$	$V_{\text{Ag}}$	$V_{2\text{-HBBH}}$	$V_{\text{Et}}$
1-11	1	0	0	2
12	1	0	0,2	1,8
13	1	0	0,4	1,6
14	1	0	0,6	1,4
15	1	0	0,8	1,2



**Figura V.9.** Aplicación del método de la razón molar (metal constante) en el cálculo de la estequiometría del complejo  $Ag^+$ -2-HBBH ( $\lambda=252$  nm)

**b) Cálculo de la estequiometría por el método de la razón molar: Reactivo constante**

De manera similar, se aplicó el método de la razón molar manteniendo la concentración de ligando constante. Así, se varió la concentración de  $Ag^+$  en las disoluciones manteniendo constante la concentración del ligando 2-HBBH.

La preparación de las disoluciones conteniendo diferentes relaciones metal-ligando, se hizo en un matraz de 10 mL siguiendo el orden y las cantidades de los reactivos que se recogen en la **Tabla V.5**. Las concentraciones de las disoluciones empleadas de metal y ligando fueron de  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L, y todas tuvieron una relación de volumen etanol/agua de 0,5:9,5. En este caso, también fue necesario efectuar correcciones en la preparación de los blancos correspondientes a las muestras que tenían ligando en exceso (**Tabla V.6**).

**Tabla V.5.** Composición y absorbancia de las disoluciones utilizadas para la determinación de la estequiometría del complejo  $\text{Ag}^+$ -2-HBBH aplicando el método de la razón molar: Reactivo constante (volumen final = 10 mL)

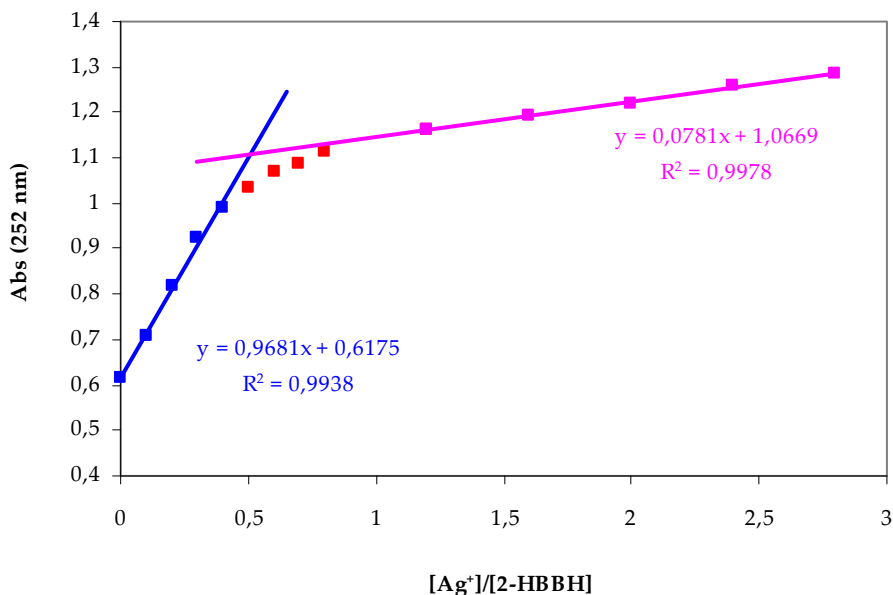
Muestra	V <sub>T</sub>	V <sub>Ag</sub>	V <sub>2-HBBH</sub>	R <sub>Ag/2-HBBH</sub>	Abs (252 nm)
1	1	0	0,5	0	0,615
2	1	0,05	0,5	0,1	0,706
3	1	0,1	0,5	0,2	0,820
4	1	0,15	0,5	0,3	0,924
5	1	0,2	0,5	0,4	0,991
6	1	0,25	0,5	0,5	1,034
7	1	0,3	0,5	0,6	1,071
8	1	0,35	0,5	0,7	1,088
9	1	0,4	0,5	0,8	1,114
10	1	0,6	0,5	1,2	1,160
11	1	0,8	0,5	1,6	1,193
12	1	1	0,5	2	1,221
13	1	1,2	0,5	2,4	1,258
14	1	1,4	0,5	2,8	1,284

V<sub>T</sub>: volumen de tampón  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  1 mol/L (pH 5,5); V<sub>Ag</sub>: volumen de  $\text{Ag}$   $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L; V<sub>2-HBBH</sub>: volumen de 2-HBBH  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L en etanol; V<sub>Et</sub>: volumen de etanol; R<sub>2-HBBH/Ag</sub>: relación molar 2-HBBH/Ag<sup>+</sup>

**Tabla V.6.** Composición de las disoluciones utilizadas como blancos para las muestras de la **Tabla V.5**

Muestra	V <sub>T</sub>	V <sub>Ag</sub>	V <sub>2-HBBH</sub>	V <sub>Et</sub>
1	1	0	0,5	0
2	1	0	0,4	0,1
3	1	0	0,3	0,2
4	1	0	0,2	0,3
5	1	0	0,1	0,4
6-13	1	0	0	0,5

En la **Figura V.10** se representan los resultados obtenidos por este método. Esta vez, el corte de las dos líneas coincide con la relación molar 0,5 M:L confirmando una estequiometría 1:2 para  $\text{Ag}^+$ :2-HBBH.



**Figura V.10.** Aplicación del método de la razón molar (ligando constante) en el cálculo de la estequiometría del complejo  $\text{Ag}^+$ -2-HBBH ( $\lambda=252 \text{ nm}$ )

**c) Cálculo de la estequiometría por el método de las variaciones continuas o método de Job**

El otro método que se ha usado para la determinación de la estequiometría del complejo metálico  $\text{Ag}^+$ -2-HBBH fue el método de las variaciones continuas. Para llevarlo a cabo, se prepararon una serie de disoluciones en las que se varió la fracción molar del metal entre 0 (disolución que contiene sólo ligando) y 1 (disolución que contiene sólo metal). Las disoluciones se prepararon de forma similar al método anterior en matraces de 10 mL, adicionando volúmenes variables de la disolución etanólica de 2-HBBH  $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$  y de  $\text{Ag}^+$   $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$ . En todas las disoluciones preparadas, la relación etanol:agua fue 1:9. Se midieron dos series de disoluciones, en

la primera la concentración total de ligando más metal era el doble de la segunda. En la **Tablas V.7, V.8, V.9 y V.10** se detallan las composiciones de las dos series. Al representar los resultados, se han obtenido las curvas que se muestran en las **Figuras V.11 y V.12** para la concentración total de ligando más metal de  $2 \cdot 10^{-4}$  mol/L y  $10^{-4}$  mol/L, respectivamente.

**Tabla V.7.** Composición y absorbancia de las disoluciones utilizadas para la determinación de la estequiometría del complejo  $Ag^+$ -2-HBBH aplicando el método de las variaciones continuas. Concentración total (M+L):  $2 \cdot 10^{-4}$  mol/L (volumen final = 10 mL)

Muestra	V <sub>T</sub>	V <sub>Ag</sub>	V <sub>2-HBBH</sub>	V <sub>Et</sub>	X <sub>Ag</sub>	Abs (252 nm)
1	1	0	1	0	0	0,497
2	1	0,1	0,9	0,1	0,1	0,961
3	1	0,2	0,8	0,2	0,2	1,375
4	1	0,3	0,7	0,3	0,3	1,634
5	1	0,4	0,6	0,4	0,4	1,574
6	1	0,5	0,5	0,5	0,5	1,41
7	1	0,6	0,4	0,6	0,6	1,20
8	1	0,7	0,3	0,7	0,7	0,986
9	1	0,8	0,2	0,8	0,8	0,755
10	1	0,9	0,1	0,9	0,9	0,496
11	1	1	0	1	1	0,219

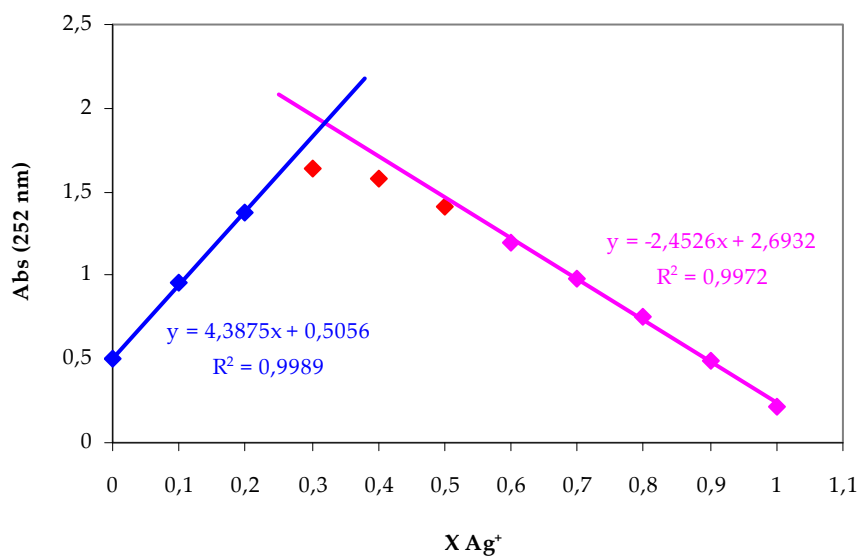
V<sub>T</sub>: volumen de tampón  $KH_2PO_4/NaOH$  (1 mol/L) de pH 5,5; V<sub>Ag</sub>: volumen de  $Ag^+$   $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L; V<sub>2-HBBH</sub>: volumen de 2-HBBH  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L en etanol; V<sub>Et</sub>: volumen de etanol; X<sub>Ag</sub>: fracción molar de  $Ag^+$

La extrapolación de las dos rectas tangentes de los puntos experimentales a bajas y a altas concentraciones hasta la intersección de las mismas, corresponde a la estequiometría exacta del complejo  $Ag^+$ -2-HBBH. Como se puede observar en las **Figuras V.11 y V.12**, el corte de las dos líneas para las dos series de disoluciones, mostró un vértice en la fracción molar X<sub>Ag</sub> 0,32 próximo a 0,333 característico de la estequiometría 2:1 (L:M), lo que confirmó el resultado obtenido por el método anterior.

Por tanto, la relación estequiométrica del complejo  $\text{Ag}^+$ -2-HBBH que se propuso fue de 1:2 metal: ligando, calculada por los métodos de la razón molar y de las variaciones continuas.

**Tabla V.8.** Composición de las disoluciones utilizadas como blancos para las muestras de la **Tabla V.7**

Muestra	V <sub>T</sub>	V <sub>Ag</sub>	V <sub>2-HBBH</sub>	V <sub>Et</sub>
1	1	0	1	0
2	1	0	0,7	0,3
3	1	0	0,4	0,6
4	1	0	0,1	0,9
5-11	1	0	0	1



**Figura V.11.** Aplicación del método de las variaciones continuas para el cálculo de la estequiometría del complejo  $\text{Ag}^+$ -2-HBBH. Concentración total (M+L):  $2 \cdot 10^{-4}$  mol/L



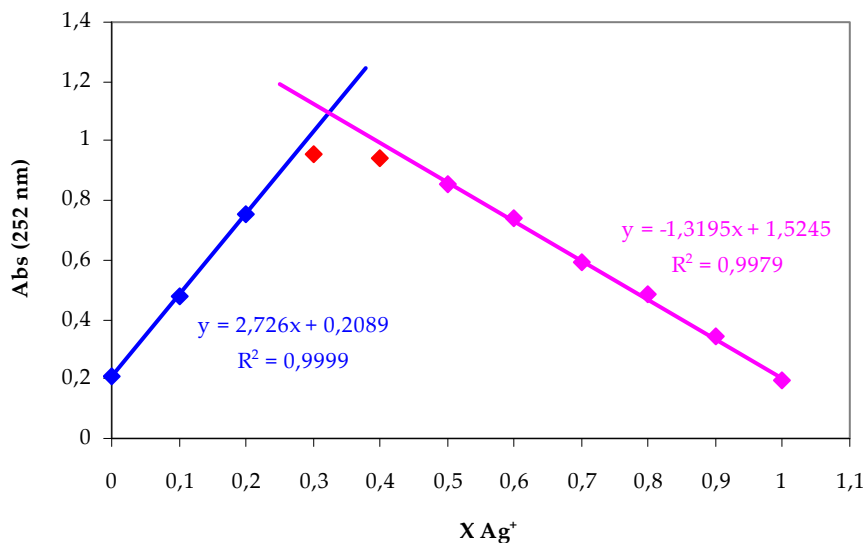
**Tabla V.9.** Composición y absorbancia de las disoluciones utilizadas para la determinación de la estequiometría del complejo  $Ag^+$ -2-HBBH aplicando el método de las variaciones continuas. Concentración total (M+L):  $10^{-4}$  mol/L (volumen final = 10 mL)

Muestra	V <sub>T</sub>	V <sub>Ag</sub>	V <sub>2-HBBH</sub>	V <sub>Et</sub>	X <sub>Ag</sub>	Abs (252 nm)
1	1	0	0,5	0	0	0,211
2	1	0,05	0,45	0,05	0,1	0,478
3	1	0,1	0,4	0,1	0,2	0,756
4	1	0,15	0,35	0,15	0,3	0,954
5	1	0,2	0,3	0,2	0,4	0,942
6	1	0,25	0,25	0,25	0,5	0,858
7	1	0,3	0,2	0,3	0,6	0,741
8	1	0,35	0,15	0,35	0,7	0,589
9	1	0,4	0,1	0,4	0,8	0,486
10	1	0,45	0,05	0,45	0,9	0,340
11	1	0,5	0	0,5	1	0,196

V<sub>T</sub>: volumen de tampón  $KH_2PO_4/NaOH$  (1 mol/L) de pH 5,5; V<sub>Ag</sub>: volumen de  $Ag^+$   $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L; V<sub>2-HBBH</sub>: volumen de 2-HBBH  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L en etanol; V<sub>Et</sub>: volumen de etanol; X<sub>Ag</sub>: fracción molar de  $Ag^+$

**Tabla V.10.** Composición de las disoluciones utilizadas como blancos para las muestras de la **Tabla V.9**

Muestra	V <sub>T</sub>	V <sub>Ag</sub>	V <sub>2-HBBH</sub>	V <sub>Et</sub>
1	1	0	0,5	0
2	1	0	0,35	0,15
3	1	0	0,2	0,3
4	1	0	0,05	0,45
5-11	1	0	0	0,5



**Figura V.12.** Aplicación del método de las variaciones continuas para el cálculo de la estequiometría del complejo Ag<sup>+</sup>-2-HBBH. Concentración total (M+L): 10<sup>-4</sup> mol/L

### V.3.2.3. Cálculo de la constante de formación del complejo Ag<sup>+</sup>-2-HBBH

La constante de formación del complejo Ag<sup>+</sup>-2-HBBH, en disolución acuoetanólica ajustado a un pH 5,5 con la disolución reguladora KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/NaOH 0,1 mol/L, se calculó a partir de las gráficas y los resultados de los métodos de la razón molar y de las variaciones continuas utilizados para el cálculo de su estequiometría. Para ello se siguieron las indicaciones dadas en el capítulo II de esta Tesis (II.4.5.3).

Conociendo la relación estequiométrica del complejo metálico en cuestión y su concentración así como la del metal y la del ligando en equilibrio, se obtuvieron los valores que aparecen reflejados en la **Tabla V.11** aplicando la relación siguiente:

$$K_f = \frac{[Ag^+ - (2-HBBH)_2]_{eq}}{[Ag^+]_{eq} \cdot [2-HBBH]_{eq}^2}$$

Como puede observarse, la constante de formación del complejo  $\text{Ag}^+$ -2-HBBH presenta un valor del orden de  $10^8 \text{ (mol/L)}^{-2}$ , siendo por tanto un complejo bastante estable.

**Tabla V.11.** Valores de la constante de formación del complejo  $\text{Ag}^+$ -(2-HBBH)

Método	$K_f \text{ ((mol/L)}^{-2})$
Razón molar: 2-HBBH constante	$2,7 \cdot 10^8$
Razón molar: Ag constante	$6,07 \cdot 10^8$
Variaciones continuas	$1,57 \cdot 10^8$

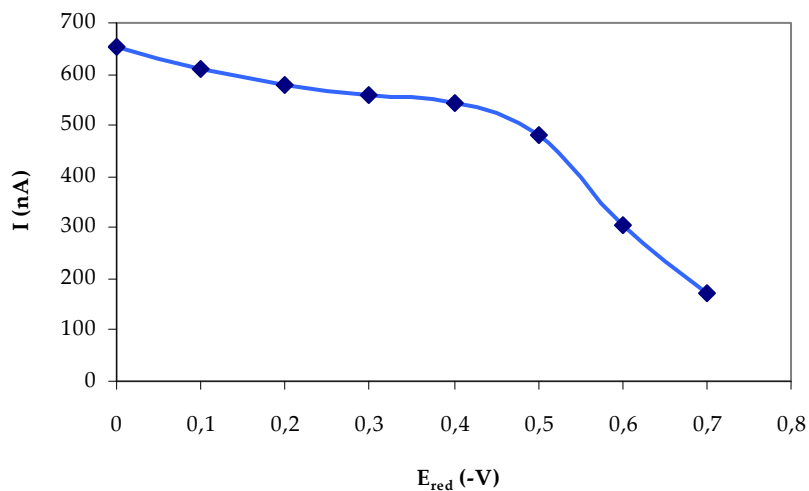
### V.3.3. Optimización de las variables químicas e instrumentales

En este trabajo, y con el objetivo de establecer las condiciones óptimas para el método analítico propuesto, se realizó un estudio sistemático de las distintas variables experimentales que afectan a la respuesta voltamperométrica de  $\text{Ag}^+$  obtenida con el electrodo de pasta de carbono modificado con la 2-HBBH, empleando la modalidad de impulso diferencial. La celda electroquímica empleada en los análisis constaba de un sistema trielectrónico empleando: el electrodo de pasta de carbono modificado descrito en el apartado anterior como electrodo de trabajo, un electrodo auxiliar de platino y un electrodo de referencia de  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ .

#### V.3.3.1. Influencia del potencial de reducción

En esta etapa, se estudió como afectaba el potencial de reducción impuesto al electrodo sobre la respuesta voltamperométrica obtenida para una concentración de  $100 \mu\text{g/L}$  de  $\text{Ag}^+$ . El medio electrolítico estaba formado por una disolución  $0,1 \text{ mol/L}$  de la disolución reguladora  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  de pH 5,5 y se aplicó un tiempo de acumulación y de reducción de 60 s. El intervalo de potenciales de reducción estudiado

cubría valores inferiores al potencial de oxido-reducción de la plata, próximo a 0,1-0,3 V. Los resultados obtenidos se han representado en la **Figura V.13**.



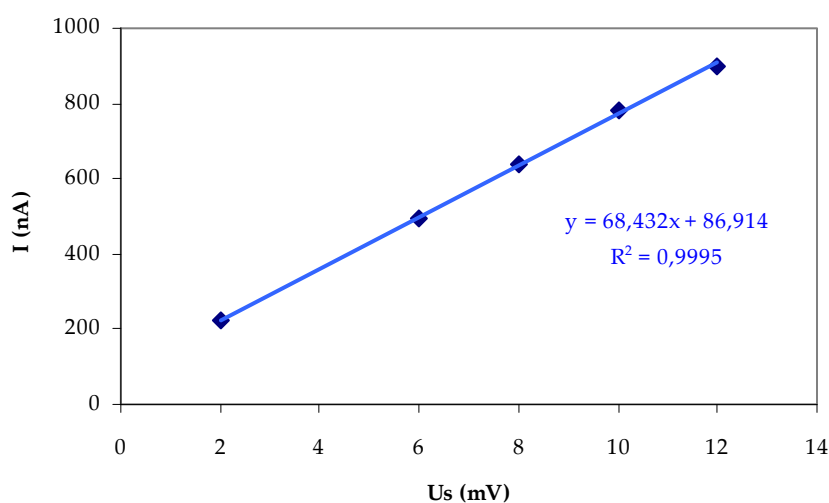
**Figura V.13.** Influencia del potencial de reducción sobre la intensidad de la señal (Condiciones experimentales:  $Ag^+=100 \mu g/L$ ; Electrolito:  $KH_2PO_4/NaOH$  0,1 mol/L (pH 5,5);  $t_{purga}=60$  s;  $t_{ac}=60$  s;  $t_{red}=60$  s;  $t_{eq}=5$  s;  $v_{ag}=2000$  rpm;  $U_s=4$  mV;  $t_s=0,1$  s;  $P=50$  mV;  $t_p=40$  ms)

Como puede observarse en la figura, la señal disminuyó ligeramente entre 0 y -0,5 V, tras la cual se produjo una disminución brusca de la respuesta a potenciales más negativos. La respuesta obtenida fue máxima a 0 V, por lo que se seleccionó este valor como potencial de trabajo para los restantes estudios.

### V.3.3.2. Influencia de la velocidad de barrido

Una vez fijado el potencial de reducción, se pasó a estudiar la influencia de la velocidad de barrido sobre la respuesta voltamperométrica del sistema estudiado. Este parámetro se puede controlar cambiando el salto de potencial ( $U_s$ ) o bien variando el tiempo de salto de potencial ( $t_s$ ).

En este estudio se optó por estudiar la influencia de la velocidad de barrido sobre la intensidad de pico de la reoxidación de  $\text{Ag}^+$  modificando los valores de salto de potencial entre 2 y 12 mV y fijando el tiempo de salto de potencial a 0,1 s, dando lugar a velocidades de barrido entre 20 y 120 mV/s. En la **Figura V.14** se representan los resultados obtenidos. Como puede apreciarse en dicha figura, la intensidad de pico crecía al aumentar la velocidad de barrido y los valores obtenidos fueron lineales. Este resultado es compatible con un proceso no reversible según la bibliografía [Wopschall y Shain, 1967].

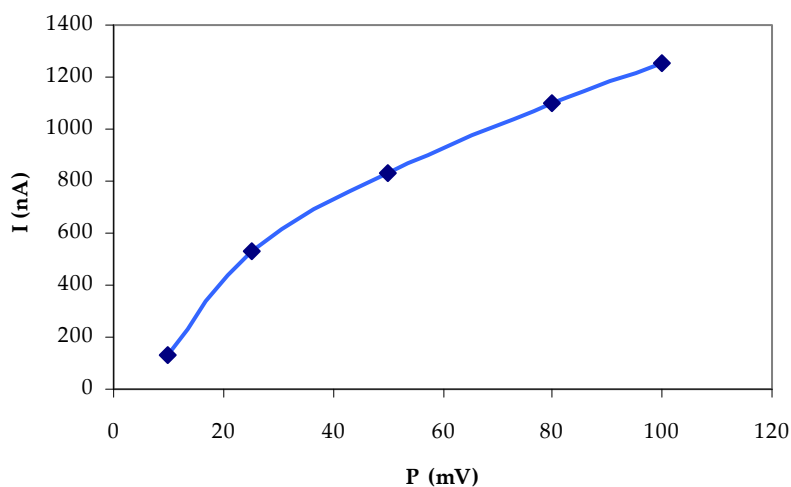


**Figura V.14.** Influencia del salto de potencial sobre la intensidad de la señal (Condiciones experimentales:  $\text{Ag}^+=100 \mu\text{g/L}$ ; Electrolito:  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  0,1 mol/L (pH 5,5);  $t_{\text{purga}}=60 \text{ s}$ ;  $t_{\text{ac}}=60 \text{ s}$ ;  $t_{\text{red}}=60 \text{ s}$ ;  $E_{\text{red}}=0 \text{ V}$ ;  $t_{\text{eq}}=5 \text{ s}$ ;  $v_{\text{ag}}=2000 \text{ rpm}$ ;  $t_s=0,1 \text{ s}$ ;  $P=50 \text{ mV}$ ;  $t_p=40 \text{ ms}$ )

De estos resultados se concluyó que la mejor respuesta se obtenía con una velocidad de barrido de 120 mV/s, correspondiente a un salto de potencial de 12 mV. Sin embargo, la señal electroquímica obtenida en estas condiciones era de menor calidad. Por ello y para estudios posteriores, se seleccionó un valor de 10 mV para el salto de potencial  $U_s$ , manteniendo el tiempo del salto de potencial  $t_s$  en 0,1 s.

### V.3.3.3. Influencia de la amplitud de impulso

En este caso se estudió la relación entre la intensidad de pico (I) y la amplitud del impulso (P), para una disolución de 100  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Ag}^+$ , en el intervalo de 10 a 100 mV. El límite máximo estudiado estuvo determinado por las características técnicas del equipo. Se observó como la intensidad crecía con la amplitud de pulso (**Figura V.15**), con una influencia significativa sobre la respuesta voltamperométrica del electrodo modificado. A partir de estos resultados, se seleccionó un valor de 100 mV.

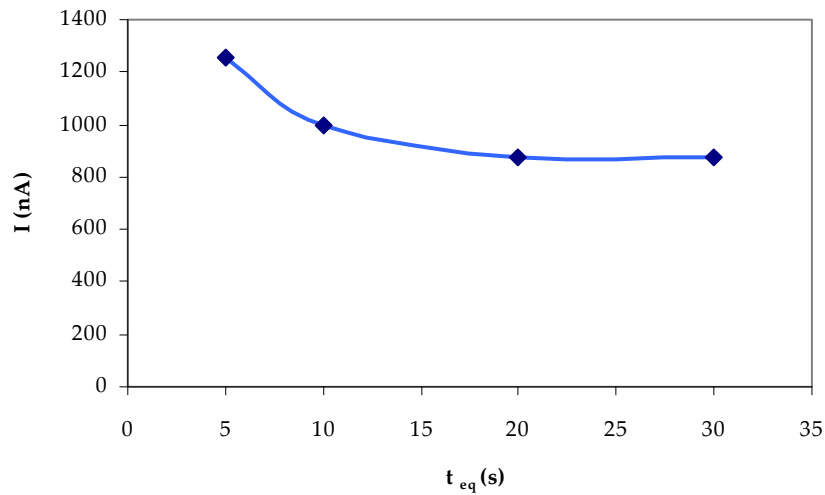


**Figura V.15.** Influencia de la amplitud de impulso sobre la intensidad de la señal (Condiciones experimentales:  $\text{Ag}^+=100 \mu\text{g/L}$ ; Electrolito:  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  0,1 mol/L (pH 5,5);  $t_{\text{purga}}=60 \text{ s}$ ;  $t_{\text{ac}}=60 \text{ s}$ ;  $t_{\text{red}}=60 \text{ s}$ ;  $E_{\text{red}}=0 \text{ V}$ ;  $t_{\text{eq}}=5 \text{ s}$ ;  $v_{\text{ag}}=2000 \text{ rpm}$ ;  $U_s=10 \text{ mV}$ ;  $t_s=0,1 \text{ s}$ ;  $t_p=40 \text{ ms}$ )

### V.3.3.4. Influencia del tiempo de equilibración

Se procedió también a estudiar el efecto del tiempo de equilibración sobre la respuesta del sistema desarrollado. Las restantes condiciones experimentales fueron análogas a las del apartado anterior variándose el tiempo de equilibración entre 5 y 30 s. En la **Figura V.16** se han representado los resultados obtenidos donde puede apreciarse que la intensidad de la señal se ve afectada por este parámetro y que la

mayor intensidad de pico se produce con un tiempo de equilibración de 5 s. Valores inferiores a 5 s no fueron estudiados porque no se recomiendan, pues pueden producirse irreproducibilidades en las medidas si esta etapa es prácticamente despreciable.



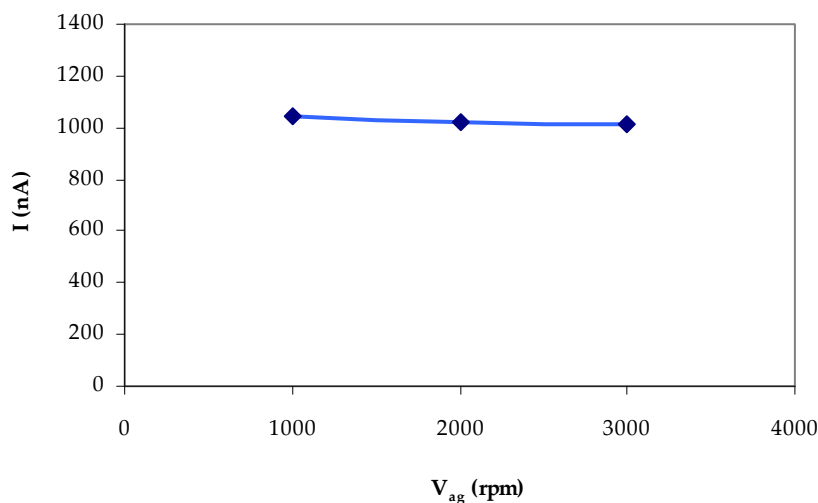
**Figura V.16.** Influencia del tiempo de equilibración sobre la intensidad de la señal (Condiciones experimentales:  $Ag^+=100 \mu g/L$ ; Electrolito:  $KH_2PO_4/NaOH$  0,1 mol/L (pH 5,5);  $t_{purga}=60$  s;  $t_{ac}=60$  s;  $t_{red}=60$  s;  $E_{red}=0$  V;  $v_{ag}=2000$  rpm;  $U_s=10$  mV;  $t_s=0,1$  s;  $P=100$  mV;  $t_p=40$  ms)

### V.3.3.5. Influencia de la velocidad de agitación

Generalmente, aumentando la velocidad de agitación se consigue aumentar la eficiencia del transporte de masa desde el seno de la disolución hasta el electrodo. Se logra así, que el efecto de la preconcentración, al que la Voltamperometría debe su alta sensibilidad, sea más eficiente.

En este trabajo, se estudió el efecto de la velocidad de agitación de la muestra durante el período de acumulación sobre la sensibilidad del sistema estudiado. Los resultados conseguidos se reflejan en la **Figura V.17**, en la que puede observarse una respuesta prácticamente constante al pasar de una velocidad de agitación de 1000 a

3000 rpm. Por tanto, en este caso este parámetro no produjo ninguna influencia apreciable en el intervalo estudiado, escogiéndose para sucesivos estudios una velocidad intermedia de agitación de 2000 rpm.



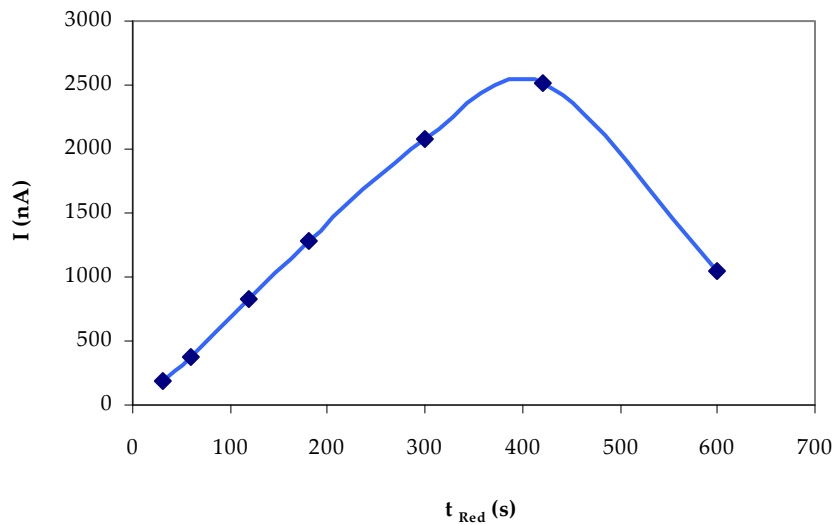
**Figura V.17.** Influencia de la velocidad de agitación sobre la intensidad de la señal (Condiciones experimentales:  $Ag^+$  100  $\mu$ g/L; Electrolito:  $KH_2PO_4/NaOH$  0,1 mol/L (pH 5,5);  $t_{purga}$ =60 s;  $t_{ac}$ =60 s;  $t_{red}$ =60 s;  $E_{red}$ =0 V;  $t_{eq}$ =5 s;  $U_s$ =10 mV;  $t_s$ =0,1 s;  $P$ =100 mV;  $t_p$ =40 ms)

### V.3.3.6. Influencia del tiempo de acumulación y de reducción

Las medidas en voltamperometría de redisolución suelen ser más sensibles si en las primeras etapas de acumulación y/o reducción el tiempo es mayor. Es obvio que mayor cantidad de metal depositado en el electrodo podrá producir una mayor señal de redisolución. No obstante, pueden producirse fenómenos de saturación del electrodo (de ligando o de metal) dando lugar a respuestas no lineales con la concentración de analito. Además, se pueden alargar demasiado los tiempos de análisis. Es por ello que en función de las concentraciones a medir se utilizan mayores o menores intervalos de tiempo, para adaptar la sensibilidad del método a la muestra. Para ello, se hace necesario conocer los límites superiores de tiempo a emplear.



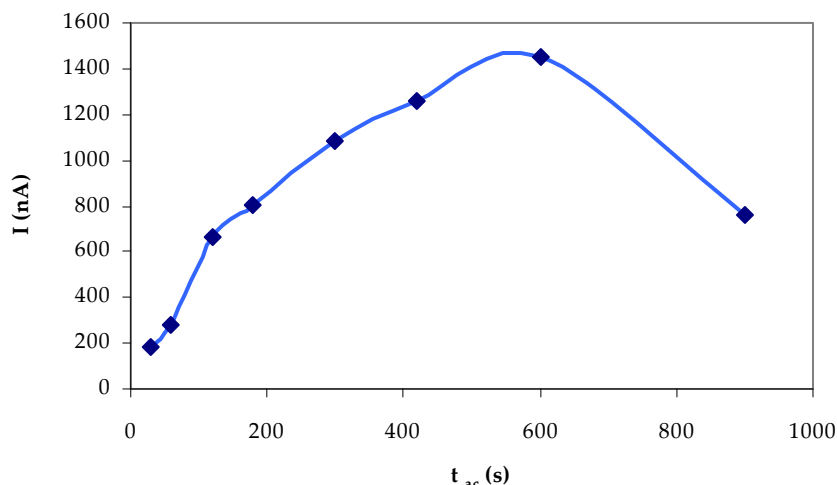
Por ello, se estudió la influencia del tiempo de reducción y de acumulación en la señal de plata. En el primer caso, se utilizó una concentración de 20  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Ag}^+$  manteniendo el resto de las condiciones semejantes a las del estudio anterior y utilizando un tiempo de acumulación de 120 s. A partir de los resultados recogidos en la **Figura V.18**, se observó un incremento lineal de la intensidad de corriente con el tiempo de reducción hasta 400 s, disminuyendo bruscamente con tiempos de reducción superiores.



**Figura V.18.** Influencia del tiempo de reducción sobre la intensidad de la señal (Condiciones experimentales:  $\text{Ag}^+$  20  $\mu\text{g/L}$ ; Electrolito:  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  0,1 mol/L (pH 5,5);  $t_{\text{purga}}=60$  s;  $t_{\text{ac}}=120$  s;  $E_{\text{red}}=0$  V;  $t_{\text{eq}}=5$  s;  $v_{\text{ng}}=2000$  rpm;  $U_s=10$  mV;  $t_s=0,1$  s;  $P=100$  mV;  $t_p=40$  ms)

De igual forma, se estudió la dependencia de la intensidad de la señal con el tiempo de acumulación a circuito abierto para la misma concentración de  $\text{Ag}^+$ . La intensidad de pico aumentó con el tiempo de preconcentración hasta alcanzar una respuesta máxima a 600 s (**Figura V.19**). Sin embargo, a tiempos de acumulación más largos, esta corriente disminuyó debido probablemente a la interacción entre los iones

$\text{Ag}^+$  y los sitios activos del electrodo, provocando la saturación de la superficie del electrodo después de 10 min [Rezaei y col., 2008].



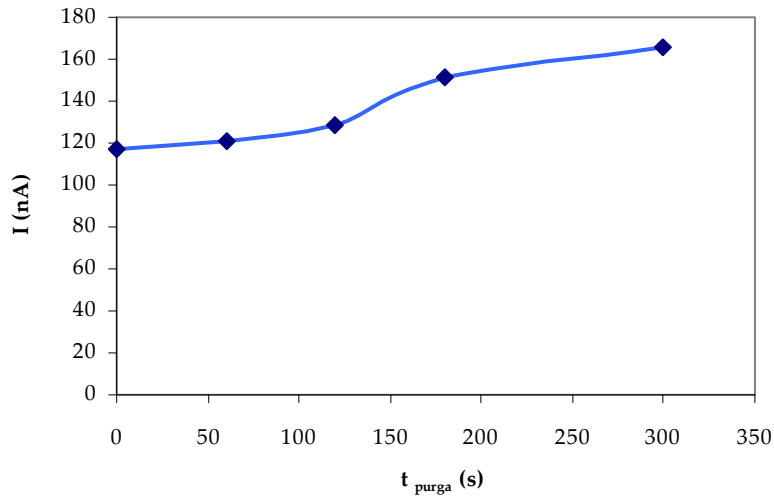
**Figura V.19.** Influencia del tiempo de acumulación sobre la intensidad de la señal (Condiciones experimentales:  $\text{Ag}^+$  20  $\mu\text{g/L}$ ; Electrolito:  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  0,1 mol/L (pH 5,5);  $t_{\text{purga}}=60$  s;  $t_{\text{red}}=120$  s;  $E_{\text{red}}=0$  V;  $t_{\text{eq}}=5$  s;  $v_{\text{ag}}=2000$  rpm;  $U_s=10$  mV;  $t_s=0,1$  s;  $P=100$  mV;  $t_p=40$  ms)

### V.3.3.7. Influencia del tiempo de purga

Para el estudio del efecto del tiempo de purga sobre la sensibilidad del sistema, se empleó un tiempo de acumulación y de reducción de 60 s (no muy elevados pues había suficiente analito en la disolución) y una concentración de 20  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Ag}^+$ , manteniendo el resto de los parámetros en los valores establecidos. Los resultados recogidos en la **Figura V.20** indicaron que a medida que el tiempo de purga aumentaba, la intensidad del pico también aumentaba, pero sin grandes variaciones, por lo que se optó por un valor intermedio de 180 s para no alargar mucho los análisis.

### V.3.3.8. Influencia de la agitación en la etapa de reducción

Otro parámetro que se estudió fue la agitación de la muestra durante la etapa de reducción para una concentración de 20  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Ag}^+$  (**Tabla V.12**).



**Figura V.20.** Influencia del tiempo de purga sobre la intensidad de la señal (Condiciones experimentales:  $Ag^+$  20  $\mu g/L$ ; Electrolito:  $KH_2PO_4/NaOH$  0,1 mol/L (pH 5,5);  $t_{ac}=60$  s;  $t_{red}=60$  s;  $E_{red}=0$  V;  $t_{eq}=5$  s;  $v_{ag}=2000$  rpm;  $U_s=10$  mV;  $t_s=0,1$  s;  $P=100$  mV;  $t_p=40$  ms)

**Tabla V.12.** Influencia de la agitación en la etapa de reducción sobre la intensidad de la señal voltamperométrica (Condiciones experimentales:  $Ag^+$  20  $\mu g/L$ ; Electrolito:  $KH_2PO_4/NaOH$  0,1 mol/L (pH 5,5);  $t_{purga}=60$  s;  $E_{red}=0$  V;  $t_{eq}=5$  s;  $v_{ag}=2000$  rpm;  $U_s=10$  mV;  $t_s=0,1$  s;  $P=100$  mV;  $t_p=40$  ms)

t <sub>ac</sub> (s)	t <sub>red</sub> (s)	I (nA)		I con agit./ I sin agit.
		Sin agitación	Con agitación	
120	120	667,1	7195	10,8
120	60	379,15	3237	8,5
60	120	281,2	5637	20,0
60	60	121,3	1947	16,0

En la **Tabla V.12**, quedan reflejados los resultados correspondientes a cuatro experimentos realizados en condiciones diferentes, sin y con agitación en la etapa de reducción del metal acumulado en la superficie del electrodo. Puede comprobarse

como la señal era mayor cuando se aplicaba agitación en la etapa de reducción, con un incremento de señal de intensidad entre 8,5 y 20 veces, según las condiciones utilizadas. Por ello, se decidió emplear agitación durante esta etapa.

#### V.3.3.9. Influencia de la composición de la pasta de carbono

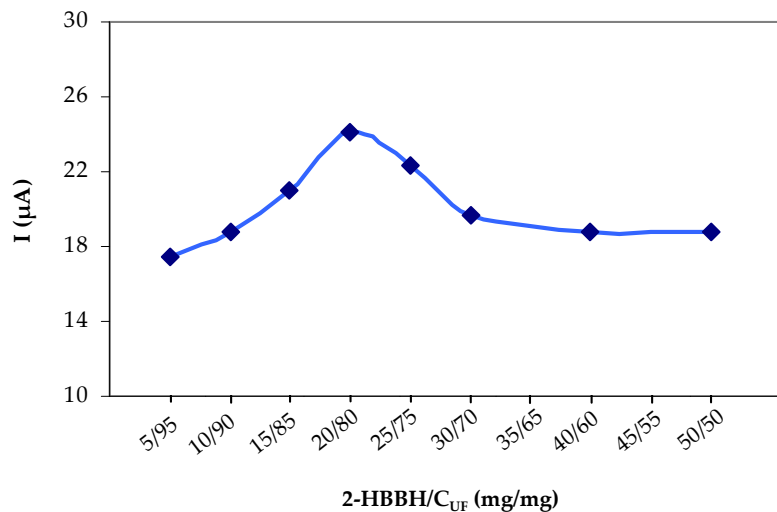
La composición de la pasta de carbono que se utiliza como electrodo puede influir en la respuesta voltamperométrica, tanto por la cantidad de ligando que compleja el metal, como por la de aceite mineral o aglutinante. Por ello, se prepararon diversos electrodos en los cuales se fue variando la proporción del ligando modificador manteniendo constante la proporción del aceite mineral. Después, y una vez seleccionado el porcentaje óptimo del ligando modificador, se fue variando la cantidad de aglutinante.

##### *a) Ligando modificador*

Para realizar el estudio de la cantidad del ligando modificador más adecuada, se emplearon electrodos de pasta de carbono modificados con distintas proporciones de 2-HBBH/polvo de grafito comprendidas entre 5-50/95-50 mg, teniendo siempre una cantidad total de 100 mg como suma de la masa de ligando y de polvo de grafito UF, y manteniendo constante el volumen del aceite mineral utilizado para la preparación de la pasta que fue de 72  $\mu\text{L}$  (60,84 mg). Así, se procedió a estudiar su influencia sobre la intensidad de la señal, tras aplicar un período de acumulación a circuito abierto de 180 s y un potencial de reducción de 0 V durante 180 s. La cantidad óptima del modificador representa un compromiso por un lado, entre la capacidad del electrodo de incorporar el material modificador y por otro lado, las limitaciones del transporte eléctrico. Los resultados obtenidos se muestran representados en la **Figura V.21**.

Como puede apreciarse en la figura, la intensidad del pico correspondiente a la reoxidación de  $\text{Ag}^+$  aumentó al aumentar la proporción del reactivo modificador en la pasta del electrodo, alcanzándose un máximo de acumulación de los iones  $\text{Ag}^+$

presentes en la disolución hacia la superficie del electrodo para una proporción de 2-HBBH/polvo de grafito UF de 20/80 mg/mg. Este aumento en la respuesta del electrodo es debido al aumento de los puntos de enlace en la superficie. Después de este máximo, la corriente decrece con el incremento en el porcentaje del agente modificador, lo que sugiere que el modificador está generando un posible aumento de la resistencia eléctrica de la pasta de carbono [Reasei y col., 2008], disminuyendo así la movilidad de los electrones en la superficie del electrodo (reducción de la zona conductora de la superficie del electrodo). Por consiguiente, se seleccionó la mezcla que contenía 20 mg de modificador y 80 mg de polvo de grafito UF para estudios posteriores.



**Figura V.21.** Influencia de la proporción 2-HBBH/polvo de grafito sobre la intensidad de la señal (Condiciones experimentales:  $Ag^+$  100  $\mu g/L$ ; Electrolito:  $KH_2PO_4/NaOH$  0,1 mol/L (pH 5,5);  $t_{purga}=180$  s;  $t_{ac}=180$  s;  $t_{red}=180$  s;  $E_{red}=0$  V;  $t_{eq}=5$  s;  $v_{ag}=2000$  rpm;  $U_s=10$  mV;  $t_s=0,1$  s;  $P=100$  mV;  $t_p=40$  ms; Aceite mineral en la pasta de  $C=72$   $\mu L$ )

**b) Aceite mineral**

De igual forma se estudió la influencia del porcentaje de aceite mineral. Así se fabricaron electrodos de pasta de carbono modificados con una mezcla de 20 mg de 2-

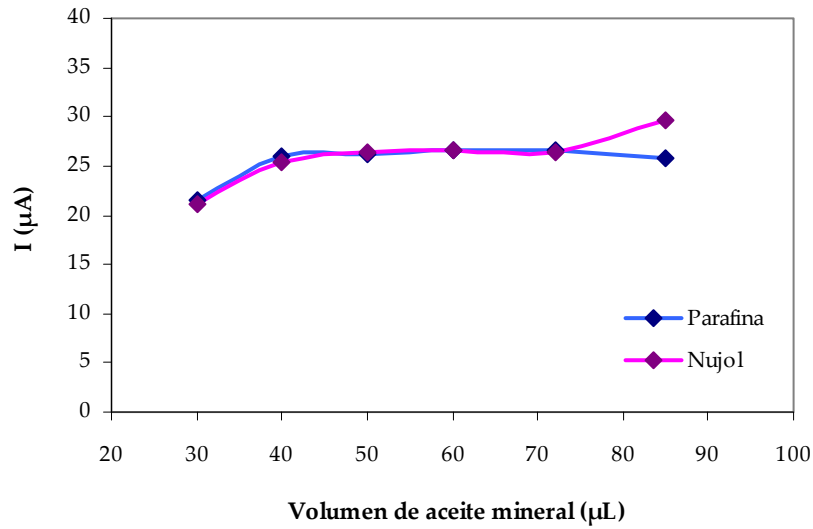
HBBH y 80 mg de polvo de grafito UF, a la que se fue añadiendo diferentes cantidades de parafina para formar la pasta: 30, 40, 50, 60, 72 y 85  $\mu\text{L}$  de parafina ( $d = 0,845 \text{ g/mL}$ ). El aspecto obtenido después de la homogeneización de los tres constituyentes de la pasta de carbono (2-HBBH, grafito UF y parafina) era adecuado en las seis pastas preparadas permitiendo el relleno de los electrodos y su compactación.

Se realizaron medidas por voltamperometría de impulso diferencial con los electrodos preparados en el medio electrolítico formado por la reguladora  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  (pH 5,5), fijando el potencial y el tiempo de reducción en 0 V y 180 s, respectivamente y el tiempo de acumulación en 180 s, después de una etapa previa de desoxigenación del electrolito durante 180 s. El resto de parámetros electroquímicos fijados fueron la amplitud de impulso y la velocidad de barrido que se fijaron en 100 mV y 100 mV/s, respectivamente. Por otro lado, y para determinar la influencia de la naturaleza del aglutinante en la deposición de  $\text{Ag}^+$ , se elaboraron electrodos de pasta de carbono empleando esta vez nujol como aglutinante en las mismas proporciones carbono-aglutinante preparadas en el caso de la parafina. Los resultados obtenidos para estos electrodos en presencia de 100  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Ag}^+$  se muestran representados en la **Figura V.22**, en la que se puede observar que tanto la parafina como el nujol presentaron un comportamiento similar en el rango estudiado, no detectándose variaciones con el porcentaje de aceite mineral usado.

Estos resultados permitieron concluir que la naturaleza del aglutinante no influía significativamente en la respuesta del electrodo desarrollado. Para continuar con los estudios, se escogió un volumen de 50  $\mu\text{L}$  de parafina adicionados a la mezcla de 20 mg de 2-HBBH y 80 mg de polvo de grafito UF. De esta forma, esta mezcla queda definida en porcentaje en peso como: 29,70% de parafina, 14,06% de 2-HBBH y 56,24% de polvo de grafito UF.

#### **V.3.3.10. Influencia del tamaño del electrodo**

Con el fin de estudiar la influencia del tamaño del electrodo de pasta de carbono modificado sobre la respuesta electroquímica, se utilizaron para el relleno de la pasta dos puntas de teflón diferentes cuyas dimensiones se detallan en la **Tabla V.13**.



**Figura V.22.** Influencia de la cantidad de aceite mineral en la mezcla 2-HBBH/polvo de grafito (20 mg/80 mg) sobre la intensidad de la señal (Condiciones experimentales:  $Ag^+$  100  $\mu g/L$ ; Electrolito:  $KH_2PO_4/NaOH$  0,1 mol/L (pH 5,5);  $t_{purga}=80$  s;  $t_{ac}=180$  s;  $t_{red}=180$  s;  $E_{red}=0$  V;  $t_{eq}=5$  s;  $v_{ag}=2000$  rpm;  $U_s=10$  mV;  $t_s=0,1$  s;  $P=100$  mV;  $t_p=40$  ms)

**Tabla V.13.** Efecto del tamaño del electrodo en la señal electroquímica ( $Ag^+$  100  $\mu g/L$ ;  $t_{ac}$  180 s;  $t_{red}$  180 s;  $E_{red}$  0 V)

Dimensiones de electrodos de pasta de carbono (mm)				I ( $\mu A$ )
Diámetro interno	Diámetro externo	Profundidad de la cavidad	Longitud de la punta	
2,90	6,84	1,25	50,00	27,43
2,87	6,96	0,54	50,15	27,15

Como puede verse, estas dos puntas sólo se diferenciaban en la profundidad de la cavidad donde se colocaba la pasta de carbono. Así, se realizaron medidas voltamperométricas de una disolución conteniendo 100  $\mu g/L$  de  $Ag^+$  en las condiciones establecidas hasta el momento, empleando para la acumulación y la reducción un

tiempo de 180 s. Comparando los valores obtenidos para la señal electroquímica utilizando dos puntas de superficies similares pero de profundidades distintas, se pudo observar que no había diferencias significativas entre ambas, lo que indicó que en el proceso electroquímico estudiado, la reacción ocurría preferentemente en la superficie del electrodo, no influyendo el volumen de pasta que éste contenía.

#### **V.3.3.11. Comportamiento del electrodo diseñado a pH ácidos**

Debido al interés en aplicar el método desarrollado en muestras de aguas naturales, conociendo la presencia de aniones halogenuros que forman compuestos insolubles con el ión plata y después de hacer algunos ensayos previos donde se observó la interferencia de los iones cloruro a valores de pH ligeramente ácidos (pH 5-5,5), se pensó que trabajar con el electrolito a valores de pH más bajos podría evitar ese tipo de interferencias que eran muy probables.

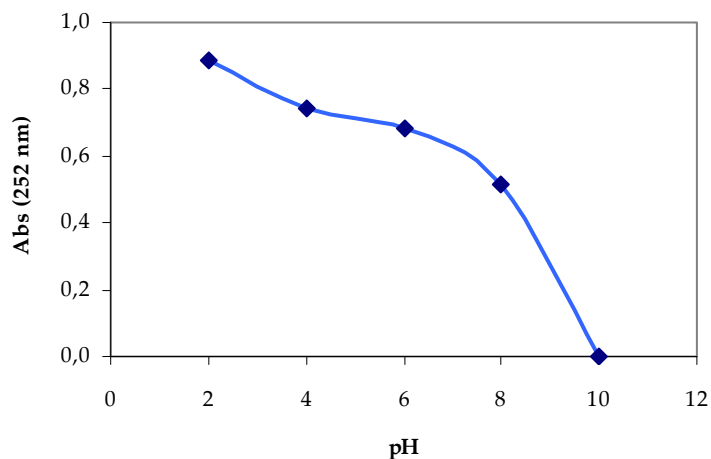
Así, y antes de estudiar el comportamiento electroquímico del electrodo diseñado a pH ácidos, se estudió la formación del complejo metálico  $\text{Ag}^+$ -2-HBBH en un rango amplio de valores de pH. Para ello se prepararon disoluciones conteniendo el reactivo y el metal en la proporción estequiométrica antes determinada, añadiendo  $4 \cdot 10^{-5}$  mol/L de  $\text{Ag}^+$  y  $8 \cdot 10^{-5}$  mol/L de la 2-HBBH en un matraz de 25 mL y ajustando el pH de estas disoluciones entre 2 y 10 mediante adición de  $\text{HNO}_3$  o  $\text{NaOH}$ , ambos de calidad suprapur. Se midieron las diferentes disoluciones obtenidas frente a blancos preparados de la misma manera en disoluciones acuoetanólicas en ausencia del metal a 252 nm.

Los valores de absorbancia del complejo metálico obtenido para cada uno de los valores de pH estudiados se encuentran representados en la **Figura V.23**. A partir de estos resultados, pudo comprobarse que la formación del complejo era posible a valores ácidos de pH, estando incluso más favorecida que a pH neutro o básico.

A continuación, y en las condiciones establecidas por el método se pasó a estudiar el efecto de valores ácidos de pH para el electrolito sobre la intensidad de la señal electroquímica de 100  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Ag}^+$  empleando varios ácidos para ajustarlo a los

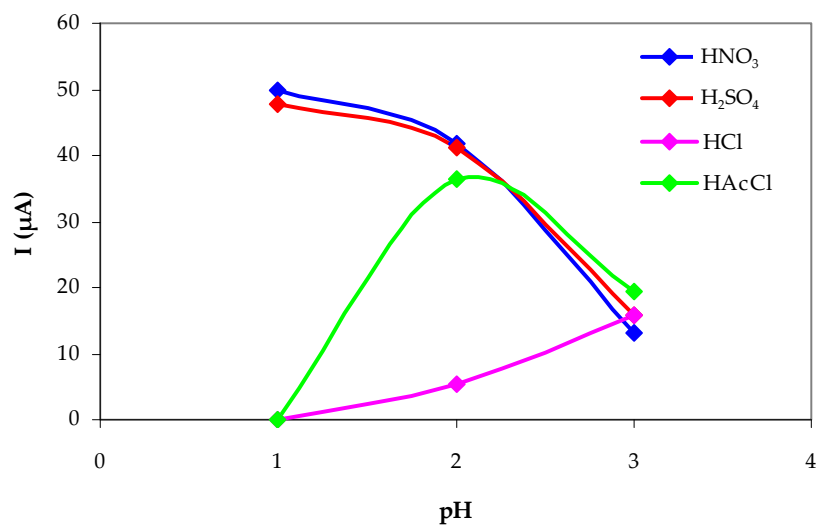


valores 1, 2 y 3. Los ácidos empleados fueron ácido nítrico, clorhídrico, sulfúrico y cloroacético, todos de calidad suprapur.



**Figura V.23.** Influencia del pH en la formación del complejo  $Ag^+$ -2-HBBH (2-HBBH  $8 \cdot 10^{-5}$  mol/L;  $Ag^+$   $4 \cdot 10^{-5}$  mol/L)

En la **Figura V.24** aparecen los resultados obtenidos donde puede observarse que los ácidos nítrico y sulfúrico tienen el mismo efecto siendo el pH 1 el valor que proporcionó los mejores resultados. Por otro lado, con estos dos ácidos y bajo las mismas condiciones experimentales, se realizaron los mismos experimentos para los electrodos de pasta de carbono sin modificar. De estos resultados se pudo comprobar que la señal podría mejorarse considerablemente ajustando el pH de la disolución electrolítica al valor 1 mediante adición de ácido sulfúrico o nítrico. En función de estos resultados, se observó que se podía trabajar en medio más ácido que el ofrecido por la reguladora utilizada de fosfato, proporcionando resultados más sensibles, tanto con ácido nítrico como con ácido sulfúrico. No obstante, y dado que el ácido nítrico es más utilizado en la conservación de las muestras de aguas naturales, se propuso como alternativa al empleo de la disolución reguladora, el empleo de ácido nítrico para ajustar el pH de la muestra a valores muy ácidos (pH =1) cuando así fuera necesario.



**Figura V.24.** Influencia de la naturaleza del ácido regulador del pH de la muestra y su valor sobre la intensidad de la señal (Condiciones experimentales:  $\text{Ag}^+$  100  $\mu\text{g/L}$ ;  $t_{\text{purga}}=180$  s;  $t_{\text{ac}}=180$  s;  $t_{\text{red}}=180$  s;  $E_{\text{red}}=0$  V;  $t_{\text{eq}}=5$  s;  $v_{\text{ag}}=2000$  rpm;  $U_s=10$  mV;  $t_s=0,1$  s;  $P=100$  mV;  $t_p=40$  ms)

De todos los resultados obtenidos en los estudios de la influencia de cada uno de las variables experimentales, químicas e instrumentales, sobre la intensidad de la señal de  $\text{Ag}^+$ , se han establecido las condiciones óptimas para su determinación mediante la aplicación del método propuesto empleando el electrodo de pasta de carbono modificado con el ligando 2-HBBH. Todas estas condiciones se recogen en la **Tabla V.14** que figura a continuación.

**Tabla V.14.** Resumen de las condiciones más adecuadas para la medida de  $Ag^+$  por AdCSV con electrodo de pasta de C modificado con 2-HBBH

Variable	Intervalo estudiado	Valor seleccionado
Medio electrolítico con disolución reguladora	B.R., Hydrion, HEPES, AcH/Ac, NH <sub>4</sub> Ac/HCl, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /NaOH	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /NaOH
	0,01 - 1 mol/L	0,1 mol/L
	pH: 4,5 - 7	5,5
Medio electrolítico sin disolución reguladora	HNO <sub>3</sub> , HCl, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , HAcl	HNO <sub>3</sub>
	pH: 1 - 3	1
E <sub>red</sub>	0 - (-0,2) V	0 V
t <sub>red</sub>	30 - 600 s	depende de la C <sub>Ag<sup>+</sup></sub> (máximo 400 s) 180 s
t <sub>ac</sub>	30 - 900 s	depende de la C <sub>Ag<sup>+</sup></sub> (máximo 600 s) 180 s
t <sub>eq</sub>	5 - 30 s	5 s
U <sub>s</sub>	2 - 12 mV	10 mV
P	10 - 100 mV	100 mV
v <sub>ag</sub>	1000 - 3000 rpm	2000 rpm
% 2-HBBH	3,11 - 31,09	14,06%
% Parafina	20,23 - 41,81	29,70%
% Polvo de CUF		56,24%

#### V.3.4. Regeneración del electrodo

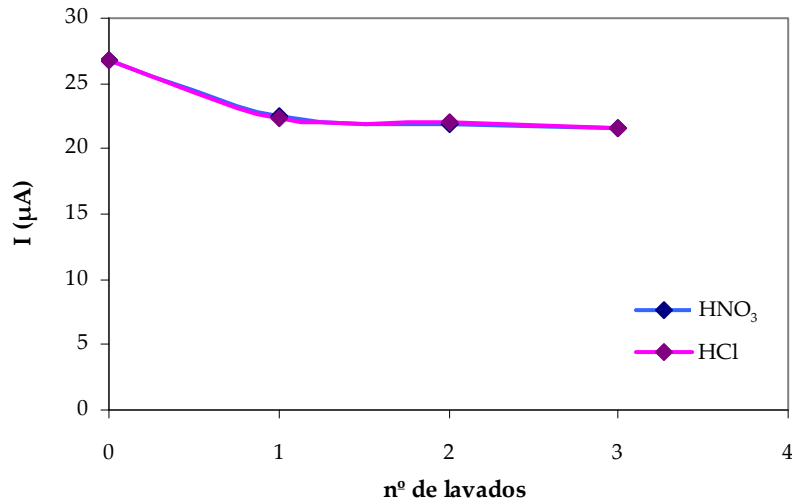
La eliminación del analito de la superficie para la regeneración de la misma es una etapa muy importante para poder realizar aplicaciones analíticas sucesivas con el electrodo modificado. En este trabajo, se probaron varios métodos para la renovación

de la superficie del electrodo (regeneración química, electroquímica y mecánica) formado por 14,06% del ligando 2-HBBH; 56,24% de carbono UF y 29,70% de parafina.

Después de realizar la primera medida con el electrodo de pasta de carbono estudiado, en presencia de 100 µg/L de Ag<sup>+</sup>, se probó el procedimiento de limpieza habitual para regenerar su superficie para la próxima medida. Para ello, se agitó el electrodo en una disolución ácida en la celda electroquímica, para redissolver la cantidad del analito que se podría haber quedado acumulado en la superficie del electrodo después del proceso de medida realizado. Se agitó el electrodo dos veces en una disolución de HCl 0,1 mol/L durante 5 minutos y luego en la disolución del electrolito formado por KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/NaOH 0,1 mol/L (pH 5,5) durante 10 min después de haber lavado todo el entorno con agua Milli-Q. Se registró el fondo en el mismo electrolito de lavado realizando también en este caso un barrido en el sentido positivo, en las mismas condiciones y en el mismo rango de potenciales que en el caso de medida en presencia del analito. Después de este lavado, se detectó resto de Ag<sup>+</sup> por aparición de la señal característica en presencia de dicho metal pero esta vez con una intensidad más baja. Después de repetir este procedimiento de limpieza por segunda vez se consiguió un fondo limpio y se pasó a medir una nueva disolución conteniendo la misma cantidad de Ag<sup>+</sup> analizada con el electrodo pasta de carbono fresco, para comprobar el efecto del procedimiento de limpieza realizado sobre la respuesta electroquímica. El resultado que se obtuvo fue que la señal de la reoxidación de Ag<sup>+</sup> conseguida con la superficie regenerada era más baja que la señal obtenida con la superficie fresca. El mismo resultado se obtuvo también empleando una disolución 0,1 mol/L de HNO<sub>3</sub> como disolución de limpieza para el electrodo en cuestión, lo que indicaba que el procedimiento de limpieza utilizado disminuía la sensibilidad del electrodo hacia los iones Ag<sup>+</sup>. Este fenómeno puede deberse a la protonación de los sitios activos del agente complejante en la superficie.

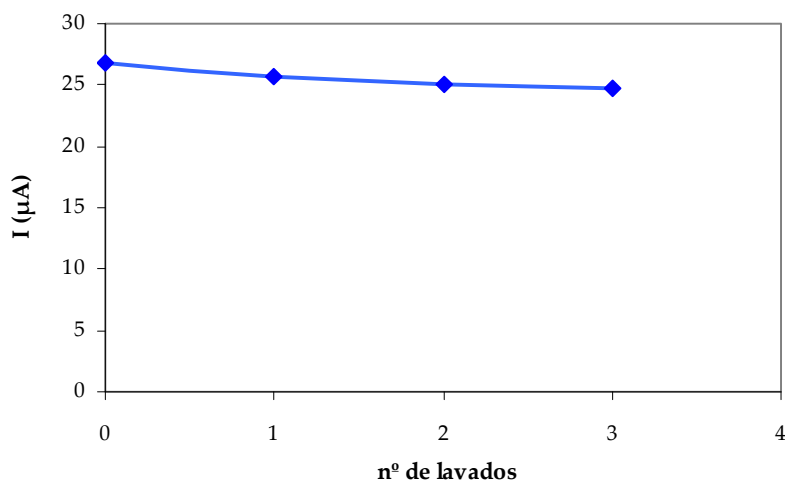
En la **Figura V.25**, se muestran representados los resultados obtenidos con las dos disoluciones utilizadas para la regeneración de la superficie del electrodo de pasta de carbono estudiado. Como puede apreciarse, la intensidad de la señal disminuyó después del primer lavado tanto con HCl 0,1 mol/L (un 19,1%) como con HNO<sub>3</sub> 0,1

mol/L (19,5%), y después permaneció prácticamente constante independientemente del número de lavados realizados.



**Figura V.25.** Influencia de la regeneración química del electrodo con HNO<sub>3</sub> y HCl sobre la intensidad de la señal (Condiciones experimentales: Ag<sup>+</sup> 100 µg/L; Electrolito: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/NaOH 0,1 mol/L (pH 5,5); t<sub>purga</sub>=180 s; t<sub>ac</sub>=180 s; t<sub>red</sub>=180 s; E<sub>red</sub>=0 V; t<sub>eq</sub>=5 s; v<sub>ag</sub>=2000 rpm; U<sub>s</sub>=10 mV; t<sub>s</sub>=0,1 s; P=100 mV; t<sub>p</sub>=40 ms)

También se probó la regeneración electroquímica del electrodo. De esta forma, y una vez utilizado el electrodo, éste fue sumergido en una disolución del electrolito sin Ag<sup>+</sup>, y se aplicó un potencial de 0 V durante 180 s, seguido de un barrido en sentido anódico con el fin de reducir los restos de plata que pudiera estar acumulada en la superficie del electrodo durante la medida anterior [Li y col., 2005]. Luego se procedió a analizar 100 µg/L de Ag<sup>+</sup> con el electrodo de pasta de carbono regenerado, en las mismas condiciones indicadas en el apartado anterior y se observó la reproducibilidad de la señal de intensidad. En la **Figura V.26**, quedan reflejados los resultados obtenidos donde se puede observar una disminución de 7,7% de la intensidad de la señal después de cuatro experimentos sucesivos.



**Figura V.26.** Influencia de la regeneración electroquímica del electrodo sobre la intensidad de la señal (Condiciones experimentales:  $\text{Ag}^+$  100  $\mu\text{g/L}$ ; Electrolito:  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  0,1 mol/L (pH 5,5);  $t_{\text{purga}}=180$  s;  $t_{\text{ac}}=180$  s;  $t_{\text{red}}=180$  s;  $E_{\text{red}}=0$  V;  $t_{\text{eq}}=5$  s;  $v_{\text{ag}}=2000$  rpm;  $U_s=10$  mV;  $t_s=0,1$  s;  $P=100$  mV;  $t_p=40$  ms)

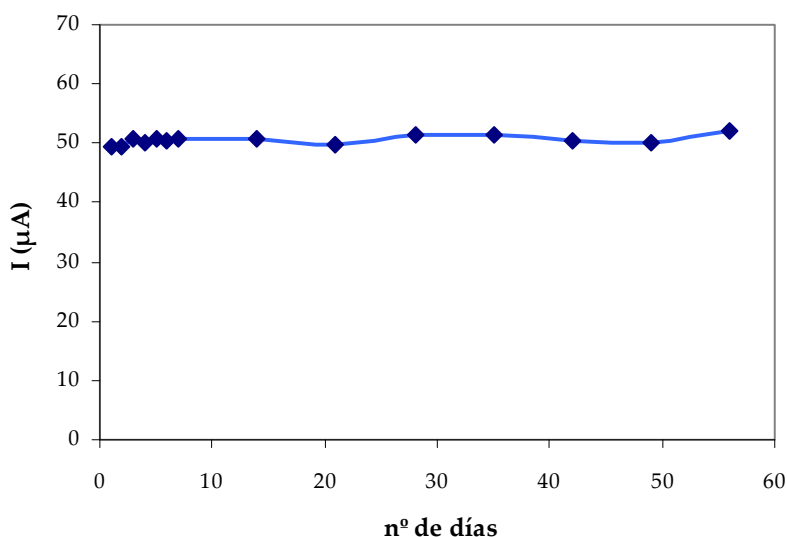
Por todo ello, se decidió utilizar la regeneración mecánica del electrodo mediante renovación manual de la superficie retirando con una espátula la pasta usada, o la parte superficial de ella, y sustituyéndola por pasta nueva [Mohadesi y Taher, 2007]. Con este método se obtuvieron medidas reproducibles y se consiguió una eliminación completa de los restos de  $\text{Ag}^+$  entre medidas.

### V.3.5. Estabilidad de la pasta de carbono

Una vez establecidas las condiciones óptimas y a fin de conocer la estabilidad del ligando en la pasta de carbono modificada, se estudió la variación de la señal electroquímica de  $\text{Ag}^+$  utilizando varios electrodos preparados con la misma pasta (14,06% de 2-HBBH; 56,24% de carbono UF y 29,70% de parafina) y que fueron almacenados durante varios días. Este estudio se realizó para 100  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Ag}^+$

empleando un tiempo de acumulación de 180 s, un tiempo de reducción de 180 s y un potencial de reducción de 0 V. El pH del electrolito fue ajustado a un valor de 1 con una disolución de HNO<sub>3</sub> suprapur.

En la **Figura V.27**, puede apreciarse como la intensidad del pico de la reoxidación de Ag<sup>+</sup> permanecía constante con un valor de intensidad de 50,59±0,72 incluso después de tener almacenado el electrodo unas 8 semanas. Puede decirse que el reactivo 2-HBBH en la pasta de carbono tiene una gran estabilidad con el tiempo pudiendo usarse dicha pasta hasta 2 meses sin ninguna alteración de la respuesta electroquímica.



**Figura V.27.** Estabilidad de la pasta de carbono modificada con 2-HBBH (Condiciones experimentales: Ag<sup>+</sup> 100 µg/L; electrolito de pH 1 con HNO<sub>3</sub>;  $t_{purga}$ =180 s;  $t_{ac}$ =180 s;  $t_{red}$ =180 s;  $E_{red}$ =0 V;  $t_{eq}$ =5 s;  $v_{ag}$ =2000 rpm;  $U_s$ =10 mV;  $t_s$ =0,1 s;  $P$ =100 mV;  $t_p$ =40 ms)

### V.3.6. Parámetros analíticos del método propuesto

Una vez que el método de análisis de plata por AdCSV mediante el empleo de electrodo de C fue puesto a punto, se pasaron a definir las propiedades analíticas que

lo caracterizan, tales como reproducibilidad, intervalo de linealidad, límite de detección e interferencias de la determinación.

#### **V.3.6.1. Reproducibilidad del método propuesto**

El estudio de la reproducibilidad del método propuesto se realizó midiendo sucesivamente una disolución de 100 µg/L de Ag<sup>+</sup> con el electrodo de pasta de carbono preparado como se ha descrito anteriormente. Así, para realizar la determinación se colocó la muestra en la celda electroquímica, se aplicó un tiempo de acumulación de 180 s, y un tiempo de reducción de 180 s para la reducción de la plata acumulada a un potencial de 0 V. Después de cada experimento se renovó la superficie retirando la pasta del extremo del electrodo y se sustituyó por pasta nueva. Se realizaron 12 experimentos limpiando bien la celda y el soporte de los electrodos, enjuagándolos con una disolución de ácido nítrico (Suprapur, Merck) al 0,5 % entre una medida y otra, para asegurar la eliminación de los restos del analito que pudiesen quedar. Los resultados de este estudio se recogen en la **Tabla V.15**, en la cual puede observarse que la precisión de las medidas fue muy satisfactoria con un valor del 0,95% para un 95% de intervalo de confianza. De esta forma, puede concluirse que el electrodo estudiado produce señales analíticas muy reproducibles para la detección de Ag<sup>+</sup>.

#### **V.3.6.2. Recta de calibrado**

Una vez que se obtuvieron señales reproducibles con el electrodo de pasta de carbono estudiado, se procedió a realizar la recta de calibrado en las condiciones óptimas establecidas. Las condiciones experimentales fueron de 180 s para el tiempo de purga, tiempo de acumulación y tiempo de reducción y 0 V para el potencial de reducción. Se midieron concentraciones de 2 a 140 µg/L de Ag<sup>+</sup> en un electrolito de pH 1, siendo los resultados obtenidos los recogidos en la **Figura V.28**. Como se puede apreciar en dicha figura, la intensidad de pico se ve incrementada linealmente con la concentración de Ag<sup>+</sup> presentando un rango lineal de 2 a 100 µg/L en las condiciones experimentales empleadas. A partir de 100 µg/L se produjo una desviación de la

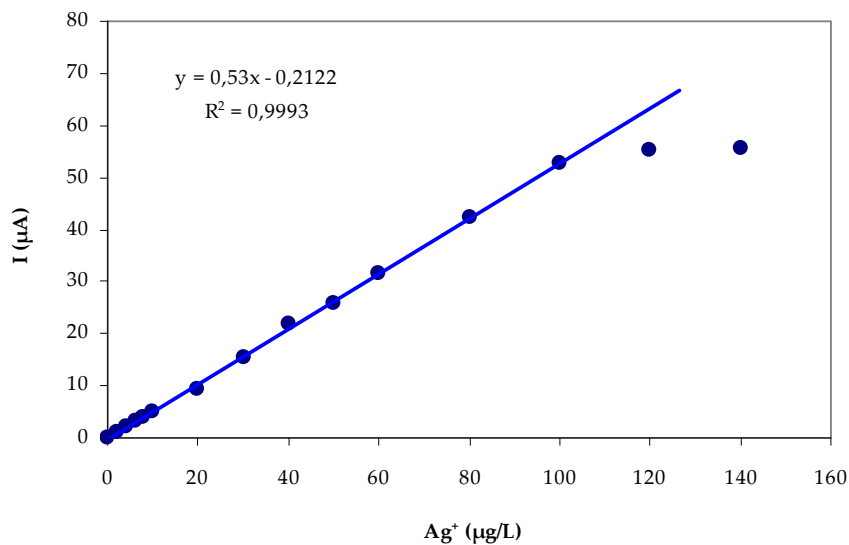


linealidad, posiblemente debido a la saturación de los sitios de enlace por efecto del exceso de complejo  $\text{Ag}^+$ -2-HBBH sobre la superficie del electrodo.

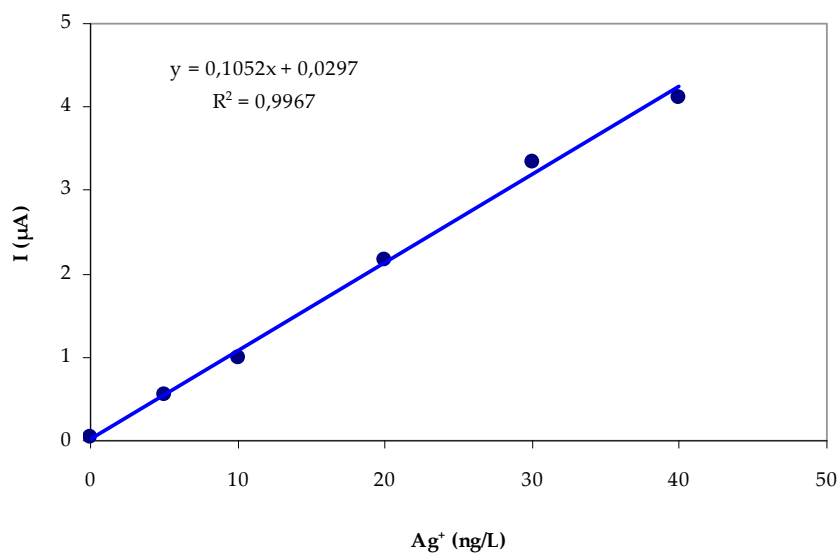
**Tabla V.15.** Reproducibilidad de la señal voltamperométrica obtenida en el análisis de 100  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Ag}^+$  mediante el método propuesto

Parámetros	Valores
Intensidad ( $\mu\text{A}$ )	50,59; 49,55; 49,76; 50,64; 50,73; 51,50; 50,29; 50,44; 50,22; 48,40; 50,15; 50,16
nº experimentos	12
Grados de libertad (n-1)	11
Intervalo de confianza	95%
t	2,201
Media	50,20
s	0,75
RSD (%)	1,50
Precisión (%)	0,95

Para implementar el método en disoluciones con subtrazas de plata (del orden de  $\text{ng/L}$ ) en muestras de aguas naturales de bajo contenido en este metal, se realizó una recta de calibrado para concentraciones menores de  $\text{Ag}^+$  (**Figura V.29**), entre 5 y 40  $\text{ng/L}$ , empleando una etapa de purga con  $\text{N}_2$  de 180 s, un tiempo de acumulación de 600 s y un tiempo de reducción de 420 s.



**Figura V.28.** Recta de calibrado para la determinación de  $\text{Ag}^+$  por el método propuesto (0-100  $\mu\text{g/L}$ ) (Condiciones experimentales: electrolito de  $\text{pH}=1$  con  $\text{HNO}_3$ ;  $t_{\text{purga}}=180$  s;  $t_{\text{ac}}=180$  s;  $t_{\text{red}}=180$  s;  $E_{\text{red}}=0$  V;  $t_{\text{eq}}=5$  s;  $v_{\text{ag}}=2000$  rpm;  $U_s=10$  mV;  $t_s=0,1$  s;  $P=100$  mV;  $t_p=40$  ms)



**Figura V.29.** Recta de calibrado para la determinación de  $\text{Ag}^+$  por el método propuesto (0-40  $\text{ng/L}$ ) (Condiciones experimentales: electrolito de  $\text{pH}=1$  con  $\text{HNO}_3$ ;  $t_{\text{purga}}=180$  s;  $t_{\text{ac}}=600$  s;  $t_{\text{red}}=420$  s;  $E_{\text{red}}=0$  V;  $t_{\text{eq}}=5$  s;  $v_{\text{ag}}=2000$  rpm;  $U_s=10$  mV;  $t_s=0,1$  s;  $P=100$  mV;  $t_p=40$  ms)

### V.3.6.3. Limite de detección y cuantificación

El límite de detección fue calculado de acuerdo con la ecuación  $L.D.=3\sigma/p$  y el límite de cuantificación según la ecuación  $L.D.=10\sigma/p$  [IUPAC, 1997], donde  $\sigma$  es la desviación estándar de la señal del blanco y  $p$  es la pendiente de la recta de calibrado.

Se realizaron cinco análisis diferentes de una muestra de blanco en las condiciones óptimas aplicadas en la primera curva de calibrado, obteniéndose como límite de detección un valor de 1,12 ng/L de  $Ag^+$  y como límite de cuantificación un valor de 3,72 ng/L de  $Ag^+$  para un tiempo de acumulación de 180 s y de reducción de 180 s. La intensidad de la señal electroquímica obtenida para la disolución del blanco fue de  $6,65\pm 0,20$  nA, para un tiempo de acumulación de 180 s y de reducción de 180 s.

De igual manera, se calculó el límite de detección y cuantificación del método desarrollado para 600 s de acumulación y 420 s de reducción, obteniéndose un límite de detección de 0,1 ng/L y un límite de cuantificación 0,34 ng/L. En este caso, se midieron siete muestras de blanco formado por el electrolito obteniéndose una señal cuya intensidad fue  $30,68\pm 3,54$  nA, para un tiempo de acumulación de 600 s y de reducción de 420 s.

### V.3.6.4. Interferencias de los metales

En este apartado, se estudiaron las posibles interferencias que pueden presentar otros metales en la determinación de  $Ag^+$  por el método propuesto cuando se encuentran en una concentración 100 veces superior a la del metal en cuestión. Para ello, se prepararon disoluciones conteniendo una concentración de 100  $\mu g/L$  de  $Ag^+$  en presencia de una concentración de 10 mg/L de cada uno de los iones metálicos interferentes y se estudió la variación de la señal electroquímica de  $Ag^+$  en las condiciones óptimas del método. Los metales estudiados y los resultados obtenidos aparecen recogidos en la **Tabla V.16** en la que se puede observar que:

**Tabla V.16.** Influencia de metales interferentes en el análisis de plata (100 µg/L) por el método propuesto

Especie interferente	I (µA)	Recuperación (%)	Error relativo (%)
Sin interferente	50,95	100	-
Tl <sup>+</sup>	50,63	99,36	-0,65
Mn <sup>2+</sup>	50,16	98,44	-1,59
Ni <sup>2+</sup>	49,18	96,52	-3,61
Cr <sup>6+</sup>	52,55	103,14	+3,04
Co <sup>2+</sup>	65,87	129,27	+22,64
Fe <sup>3+</sup>	52,98	103,98	+3,83
Zn <sup>2+</sup>	51,25	100,58	+0,58
Cd <sup>2+</sup>	67,13	131,75	+24,10
V <sup>5+</sup>	52,80	103,63	+3,50
Al <sup>3+</sup>	51,00	100,10	+0,10
Bi <sup>3+</sup>	51,38	100,83	+0,82
Hg <sup>2+</sup>	42,68	83,75	-19,40
As <sup>5+</sup>	64,51	126,61	+21,02
Cu <sup>2+</sup>	53,25	104,51	+4,31
Pb <sup>2+</sup>	51,13	100,34	+0,34

- No se detectaron interferencias en la determinación de Ag<sup>+</sup> por la presencia de los iones metálicos: Tl<sup>+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Cr<sup>6+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, V<sup>5+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Bi<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup> y Pb<sup>2+</sup>, encontrándose el error de las medidas por debajo del 5%.
- La adición de los metales Cd<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup> y As<sup>5+</sup> produjo un incremento de la intensidad de la señal en un 24,10; 22,64 y 21,02%, respectivamente, debido probablemente a un efecto catalítico de estas especies.
- En sentido opuesto, la presencia de Hg<sup>2+</sup> dio lugar a una interferencia negativa en la medida del ión Ag<sup>+</sup> disminuyendo la respuesta del electrodo en un

19,4%. Este efecto era de esperar, ya que este metal puede ser complejoado por el ligando 2-HBBH, por lo que disminuye la capacidad de complejación del ion plata en su presencia.

Sin embargo, estas interferencias encontradas no fueron significativas pues estos metales no se suelen encontrar en las aguas naturales a las concentraciones estudiadas.

#### V.3.6.5. Influencia de la presencia de cloruros en la muestra

Uno de los compuestos más usuales que se pueden encontrar en las agua son las sales de cloruro. Su presencia puede producir la precipitación de la plata, y con ello disminuir la cantidad de ion en disolución. Los métodos electroquímicos suelen medir la concentración de metal libre o lábil, lo que permite hacer estudios de especiación.

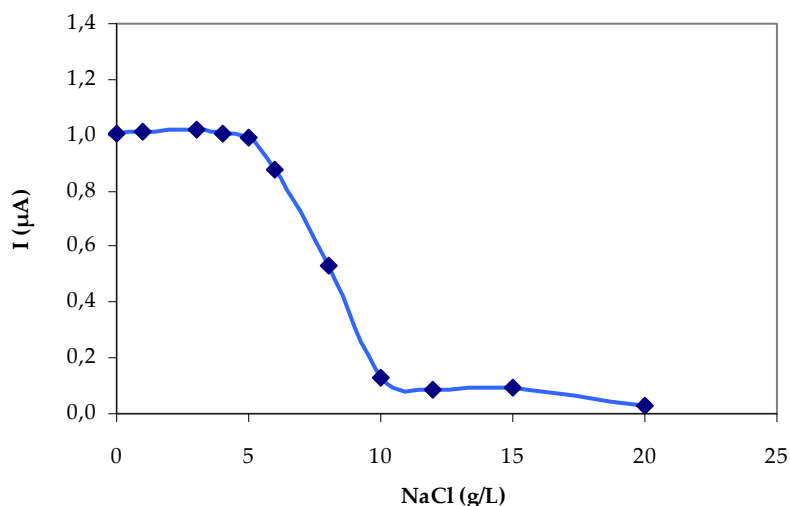
Con objeto de comprobar la capacidad que tenía el electrodo diseñado de poder medir la  $Ag^+$  libre en disolución, se procedió a estudiar la respuesta electroquímica incrementando la concentración de sal en el electrolito, lo que provocaría una disminución en la concentración del ión por efecto de la formación de los compuestos de cloruro con plata.

Para ello, se prepararon disoluciones de  $Ag^+$  de 10 ng/L (0,21 nmol/L), a las que se añadieron concentraciones diferentes de NaCl de calidad suprapur y se ajustó el pH de las muestras a 1 mediante una disolución de ácido nítrico suprapur. La determinación de  $Ag^+$  se realizó aplicando un tiempo de acumulación de 600 s y un tiempo de reducción de 420 s a 0 V.

Los resultados obtenidos se han representado en la **Figura V.30**, en la que se puede apreciar que el efecto de la complejación/precipitación de la plata con el cloruro comenzó a producirse a partir de una concentración de NaCl de 5 g/L cuando la concentración de metal era de 10 ng/L, dando lugar a una disminución de la concentración de  $Ag^+$  libre, y con ello una disminución de la señal electroquímica.

A partir de estos resultados, puede comprobarse que el método diferencia el metal libre del metal total disuelto, lo que puede ser aplicable en metodologías de

especiación, al igual que ocurre con la mayoría de las técnicas electroquímicas. No obstante, se podrá aplicar a la determinación del metal en disolución si su complejación es despreciable o cuando el carácter de los complejos que forme sea lábil.



**Figura V.30.** Relación entre la señal electroquímica de  $Ag^+$  y la presencia de cloruros en la muestra (Condiciones experimentales:  $Ag^+$  10 ng/L; pH=1 ( $HNO_3$ );  $t_{purga}$ =180 s;  $t_{ac}$ =600 s;  $t_{red}$ =420 s;  $E_{red}$ =0 V;  $t_{eq}$ =5 s;  $v_{ag}$ =2000 rpm;  $U_s$ =10 mV;  $t_s$ =0,1 s;  $P$ =100 mV;  $t_p$ =40 ms)

### V.3.6.6. Validación del método propuesto

El método desarrollado fue validado mediante el análisis de una muestra de referencia certificada SLEW-3 de agua de estuario, cuya salinidad era de 15 g/L. Por ello, y para favorecer la medida de la plata total la muestra fue diluida, incrementando la labilidad de los compuestos de plata. Se realizaron dos medidas de la muestra diluida 4 veces (salinidad 3,75 g/L) y se determinó la concentración de metal. Los resultados fueron muy satisfactorios, siendo el error relativo de la determinación de 1,33% (Tabla V.17).

**Tabla V.17.** Aplicación del método propuesto a la determinación de Ag<sup>+</sup> en la muestra de referencia

Material de referencia	Concentración de Ag <sup>+</sup> (ng/L)		Error relativo (%)
	Valor certificado	Método propuesto (MCPE + DPASV) (n=2)	
SLEW-3	3	2,96 ± 0,10	-1,33

De igual manera, la aplicabilidad del método propuesto fue estudiada de manera satisfactoria en muestras de agua de río. Se analizaron tres muestras de agua tomadas del río Guadalquivir (M1, M2 y M3). Estas muestras fueron filtradas “in-situ” empleando cartuchos de nylon de 0,45 µm de tamaño de poro y acidificadas a pH<2 con HNO<sub>3</sub> suprapur. Los parámetros físico-químicos de estas muestras se recogen en la **Tabla V.18**, donde se puede ver como los valores de salinidad estuvieron por debajo de 5 g/L, lo que hace posible su análisis sin necesidad de realizar diluciones.

Los resultados obtenidos se compararon con los valores de concentración calculados mediante la técnica ICP-MS. Como puede apreciarse en la **Tabla V.19**, no existen diferencias significativas entre los valores obtenidos por el método propuesto y el método utilizado como referencia, ya que los errores relativos fueron inferiores al 4%.

**Tabla V.18.** Parámetros físico-químicos de las muestras analizadas

Muestra	pH	OD	T (°C)	Salinidad (g/L)
M1	7,41	3,08	21,90	0,60
M2	7,82	5,09	18,60	1,20
M3	7,60	2,20	20,20	0,40

**Tabla V.19.** Aplicación del método propuesto a la determinación de Ag<sup>+</sup> en las muestras de agua de río

Muestra	Concentración de Ag <sup>+</sup> (ng/L)		Error relativo (%)
	ICP-MS	Método propuesto (MCPE + DPASV) (n=2)	
M1	16,40	16,96 ± 1,19	+3,41
M2	16,80	17,05 ± 0,95	+1,49
M3	47,50	47,16 ± 0,41	-0,72

### V.3.7. Aplicabilidad del método propuesto a la determinación de plata coloidal. Especiación de plata iónica y plata coloidal

Como se ha comentado anteriormente, la plata tanto en su estado iónico como coloidal suele usarse para la desinfección de agua, como es el caso de agua de piscinas o aguas residuales urbanas, entre otras. Así, debido a la importancia de la determinación de la concentración de estas especies en este tipo de aguas y con objeto de conocer si el método de determinación propuesto era sensible a las partículas de plata coloidal, se estudió su posible aplicabilidad. Se pensó en la posible capacidad de la plata coloidal de ser acumulada en el electrodo de pasta de C durante la etapa de reducción debido a la carga superficial positiva de las partículas coloidales y a la carga negativa del electrodo durante el proceso de reducción. De esta forma, tanto la plata iónica como la plata coloidal son acumuladas en el electrodo y están en su estado reducido justo antes del momento de la redisolución, lo que permitiría su determinación.

Para ello, se realizaron varios experimentos en las condiciones óptimas del método para ambas especies de plata: iónica y coloidal, cambiando el potencial de medida y el barrido de potencial aplicado para la redisolución de la especie acumulada en la superficie del electrodo, empleando en todos los casos una etapa de acumulación en condiciones de circuito abierto, sin aplicación de ningún tipo de potencial, después



de purgar las muestras con nitrógeno durante 180 s. El tiempo de acumulación y el de medida empleados fueron de 180 s.

En la **Tabla V.20** se encuentran resumidas las condiciones de potencial de estos experimentos junto con los resultados obtenidos para una concentración de 100 µg/L de metal. Como puede observarse, ambas especies se preconcentran y pueden medirse por redisolución voltamperométrica mediante el método propuesto. Comparando los valores de intensidad de la señal electroquímica, la máxima respuesta para la plata coloidal se obtuvo aplicando un potencial de reducción de -0,4 V y un barrido anódico de -0,4 a 0,7 V.

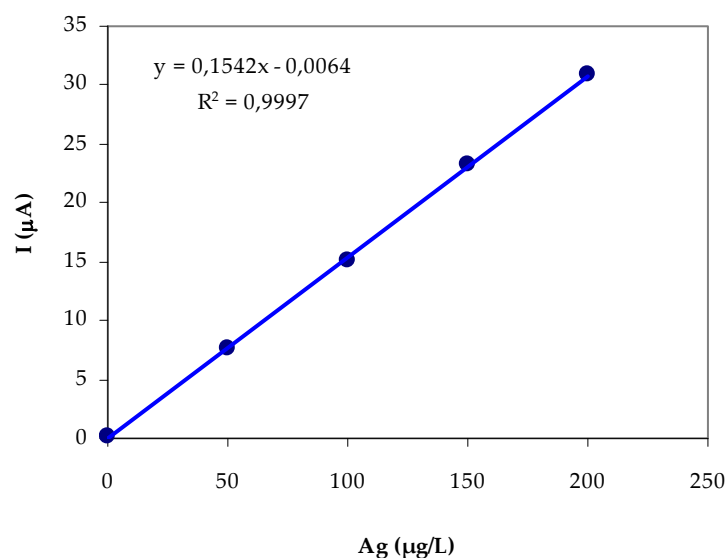
**Tabla V.20.** Determinación de plata iónica y coloidal a diferentes condiciones de potencial

Especie analizada	Etapa de acumulación	Etapa de reducción (E <sub>red</sub> )	Barrido de redisolución		Señal	
			E <sub>i</sub> (V)	E <sub>f</sub> (V)	E (V)	I (µA)
Ag <sup>+</sup> (Iónica)	<b>Circuito abierto</b>	<b>-0,4 V</b>	<b>-0,4</b>	<b>+0,7</b>	<b>241</b>	<b>46,04</b>
	Circuito abierto	0 V	0	+0,7	257	48,74
	Circuito abierto	0 V	-0,4	+0,7	245	50,30
	Circuito abierto	-	+1	-1	430	0,79
Ag (Coloidal)	<b>Circuito abierto</b>	<b>-0,4 V</b>	<b>-0,4</b>	<b>+0,7</b>	<b>240</b>	<b>15,17</b>
	Circuito abierto	0 V	0	+0,7	245	3,72
	Circuito abierto	0 V	-0,4	+0,7	236	7,15
	Circuito abierto	0,1 V	0	+0,7	264	1,45
	Circuito abierto	0,1 V	+1	-1	171	4,03
	Circuito abierto	-	0	+0,7	296	0,95
	Circuito abierto	0,35 V	+1	-1	445	0,32
	0,1 V	-	0	+0,7	252	1,50

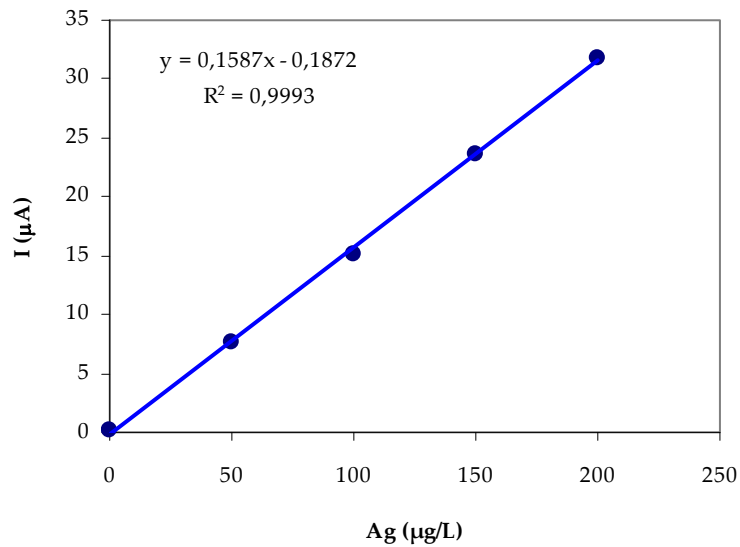
En estas condiciones, la plata iónica también presenta una respuesta bastante buena y similar a la obtenida en las condiciones óptimas. Por lo tanto, se puede medir

en estas condiciones la plata total de una muestra de agua y la fracción iónica de este metal, después de filtrar dicha muestra mediante filtros de tamaño de poro adecuado que separen la plata coloidal. Por diferencia se puede determinar la concentración de plata coloidal. Una vez obtenida la señal de la plata coloidal, se pasó a comprobar si su intensidad era proporcional a la concentración de plata en la disolución. Para ello, se estudiaron dos tipos de disoluciones: plata coloidal comercial estabilizada con citrato de sodio (Sigma Aldrich) y plata coloidal preparada en el laboratorio disolviendo una cantidad de plata en polvo (Sigma Aldrich) para obtener la concentración requerida sin adición de ningún tipo de estabilizador. Ambas disoluciones contenían partículas de plata en dispersión de tamaño de partícula de 20 nm.

Se prepararon diferentes concentraciones de plata de 50, 100, 150 y 200  $\mu\text{g/L}$ , que fueron medidas por el método propuesto, estando los resultados recogidos en las **Figuras V.31** y **V.32**, donde se puede ver claramente que la respuesta era proporcional a la concentración añadida con resultados similares para ambas muestras.



**Figura V.31.** Recta de calibrado para la determinación de disolución de plata coloidal preparada en el laboratorio sin estabilizador



**Figura V.32.** Recta de calibrado para la determinación de plata coloidal comercial estabilizada con citrato de sodio

### V.3.8. Validación de la especiación de plata

La especiación de plata coloidal/ plata iónica fue validada mediante análisis de las dos disoluciones de plata utilizadas en el estudio anterior, una comercial estabilizada con citrato de sodio (M1) y otra preparada en el laboratorio sin estabilizador (M2), ya que se conoce que estas disoluciones suelen contener una fracción pequeña de plata iónica disuelta. La concentración de plata total fue determinada directamente por el método propuesto mediante la técnica de adición estándar. La fracción de plata iónica fue determinada en las mismas condiciones después de filtrar ambas muestras, a través de un filtro "Nucleopore Track-Etch Membrane" cuyo tamaño de poro era de 15 nm, realizando el análisis del filtrado obtenido mediante el método desarrollado. El contenido en plata coloidal fue calculado por diferencia entre la concentración total y la concentración iónica de la plata. Por otra parte, se midieron estas muestras y sus filtrados por ICP-MS para

comparar los resultados obtenidos por ambos métodos. En la **Tabla V.21** se ven reflejados los valores de concentración de las muestras analizadas donde se puede observar que no hay diferencias significativas entre los resultados obtenidos con el método propuesto y el método utilizado para la validación con errores relativos inferiores al 3%.

**Tabla V.21.** Validación del análisis de la especiación de plata coloidal y plata iónica

Especie de Ag determinada		Análisis por ICP-MS	Método propuesto	Error relativo (%)
M1	Ag <sub>T</sub> (mg/L)	17,01 ± 0,02	17,19 ± 0,02	+1,10
	Ag <sub>I</sub> (µg/L)	3,85 ± 0,06	3,94 ± 0,02	+2,33
	Ag <sub>NP</sub> (mg/L)	17,00 ± 0,06	17,19 ± 0,03	+1,07
M2	Ag <sub>T</sub> (mg/L)	18,64 ± 0,07	18,13 ± 0,05	-2,71
	Ag <sub>I</sub> (µg/L)	66,64 ± 1,20	67,88 ± 0,93	+1,87
	Ag <sub>NP</sub> (mg/L)	18,57 ± 1,20	18,06 ± 0,93	-2,75

Ag<sub>T</sub>: Plata total; Ag<sub>I</sub>: Plata en forma iónica; Ag<sub>NP</sub>: Nanopartículas de plata

### V.3.9. Comparación del método propuesto para la determinación de plata en aguas con otros métodos propuestos en la bibliografía

En la **Tabla V.22** se recogen diferentes metodologías descritas en la bibliografía, empleando los métodos voltamperométricos con distintos tipos de electrodos para la determinación de Ag<sup>+</sup> en muestras de diferente naturaleza. En esta comparativa se incluyen los métodos que hacen uso de los electrodos químicamente modificados, ya que son el tipo de electrodos de estudio de este trabajo.

Como puede observarse comparando estos métodos, siempre existe alguna limitación. Algunos aportan valores altos para el límite de detección y otros utilizan elevados tiempos de acumulación, alargando demasiado los análisis para alcanzar buenos límites de detección y la mayoría de estos métodos no son aplicables a agua de mar.

Cabe destacar que el método más reciente para la determinación de plata mediante electrodo de pasta de carbono por DPASV que se ha encontrado en la bibliografía, aplicable a muestras de agua de mar, es el publicado por Javanbakht y col. en 2009, que emplea Feniltiourea/sílice (Tu-SBA-15) para la modificación del electrodo de pasta de carbono, alcanzando un límite de detección de 0,53 ng/L de Ag<sup>+</sup> empleando un tiempo de acumulación de 5 min [Javanbakht y col., 2009].

Como puede comprobarse, el método desarrollado en este trabajo proporciona un límite de detección también bajo (1,12 ng/L), encontrándose dentro de los más pequeños, necesitando un tiempo de deposición de 3 min, el cual no es muy elevado. Aumentando el tiempo de acumulación se pueden determinar ultratrazas de Ag<sup>+</sup> y alcanzar un límite de detección más bajo (0,1 ng/L para 10 min de acumulación). El rango de linealidad es válido hasta 100 µg/L (934 nmol/L), y además no se observan interferencias significativas de otros metales a las concentraciones usuales en las que pueden existir en muestras de aguas naturales. Este método permite la determinación de la plata iónica total en aguas de baja salinidad, la determinación de plata iónica libre o lábil en muestras con concentraciones salinas significativas y permite aplicar un esquema de especiación que determine la presencia de plata iónica y plata coloidal.

**Tabla V.22.** Estudio comparativo de metodologías de análisis de Ag<sup>+</sup> por Voltamperometría

Aplicación	Electrodo	Ligando modificador	Técnica	L.D. (µg/L) (t <sub>ac</sub> )	Referencia
Productos comerciales de Cd	GCE	-	ASV	0,22 (20 min)	Temmerman y Verbeek, 1972
Nitrato de amonio (pureza para análisis)	MGCE	Diciclohexil-18-corona-6/Nafion-117 (DC18C6/Nafion)	ASV	2·10 <sup>-4</sup> (30 min)	Dong y Wang, 1988
Agua residual	MCPE	Resinas quelatantes	ASV	0,032 (5 min)	Li y col., 1990
Agua residual de recubrimientos	CPE	-	P, CV	10,79	Pei y col., 1991
Agua natural, de río, de lago, y subterránea	CFE	-	CV, LSV	0,3 (10 min)	Wang y col., 1996

**Cont. Tabla V.22.** Estudio comparativo de metodologías de análisis de Ag<sup>+</sup> por Voltamperometría

Aplicación	Electrodo	Ligando modificador	Técnica	L.D. (µg/L) (t <sub>ac</sub> )	Referencia
Agua de lago y de laguna	MGE	DL-ditiotreitolo (DTT)	CV	64,72 (5 min)	Zeng y col., 2003
Agua residual, aleaciones de Zn	MCPE	Violeta de alizarina	CV, ASV	0,01 (3 min)	Li y col., 2005
Agua residual con adición de Ag, agua de grifo, de río y películas radiográficas	1) CPE 2) CWE	[bis 5-(4-nitrofenil azo)salicilaldimino] 1,8-diamino, 3,6-dioxo octano (BNSAO)	PT	1) 45,31 2) 84,14	Mashhadizadeh y col., 2006
Agua residual	MPE	Politiofeno (PTH)	DPASV, CV	60 (2 min)	Zeji y col., 2007
Películas fotográficas de rayos X y agua natural	MCPE	3-amino-2-mercapto quinazolin-4(3H)-ona	CV, DPASV	0,4 (12 min)	Mohadesi y Taher, 2007
Agua de mar, de grifo y agua contaminada	MCPE	Feniltiourea/sílice (Tu-SBA-15)	DPASV	5,4·10 <sup>-4</sup> (5 min)	Javanbakht y col., 2009
Películas fotográficas de rayos X y aleaciones	MCCE	4-(2-piridilazo)-resorcinol (PAR)	DPASV, CV	0,12 (12 min)	Rohani y Taher, 2010
<b>Agua de río</b>	<b>MCPE</b>	<b>2-hidroxibenzaldehido benzoilhidrazona (2-HBBH)</b>	<b>DPASV, CV</b>	<b>1,12·10<sup>-3</sup> (3 min) 10<sup>-4</sup> (10 min)</b>	<b>Este trabajo</b>

ASV: Voltamperometría de redisolución anódica; CFE: Electrodo de fibra de carbono; CPE: Electrodo de pasta de carbono; CV: Voltamperometría cíclica; CWE: Electrodo de alambre recubierto de membrana de PVC; DPASV: Voltamperometría de redisolución anódica de impulso diferencial; GCE: Electrodo de carbono vitrificado; LSV: Voltamperometría de redisolución con barrido lineal; MCCE: Electrodo de cerámica con carbón modificado; MCPE: Electrodo de pasta de carbono modificado; ME: Electrodo de mercurio; MGCE: Electrodo de carbono vitrificado modificado; MGE: Electrodo de oro modificado; MPE: Electrodo de platino modificado; P: Potenciometría; PT: Valoración potenciométrica.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Adams** R. N. Carbon Paste Electrodes. *Analytical Chemistry* 30, 1576-1576 (1958).
- Afkhami** A., Bagheri H., Khoshsafar H., Saber-Tehrani M., Tabatabaee M. y Shirzadmehr A. Simultaneous trace-levels determination of Hg(II) and Pb(II) ions in various samples using a modified carbon paste electrode based on multi-walled carbon nanotubes and a new synthesized Schiff base. *Analytica Chimica Acta* 746, 98-106 (2012a).
- Afkhami** A., Madrakian T., Sabounchei S. J., Rezaei M., Samiee S. y Pourshahbaz M. Construction of a modified carbon paste electrode for the highly selective simultaneous electrochemical determination of trace amounts of mercury(II) and cadmium(II). *Sensors and Actuators B* 161, 542-548 (2012b).
- Agraz** R., Sevilla M. T. y Hernández L. Chemically modified electrode for the simultaneous determination of trace metals and speciation analysis. *Analytica Chimica Acta* 273, 205-212 (1993).
- Aleixo** L. M., Souza M. F. B., Godinho O. E. S., Neto G. O. y Gushikem Y. Development of a chemically modified electrode based on carbon paste and functionalized silica gel for preconcentration and voltammetric determination of mercury(II). *Analytica Chimica Acta* 271, 143-148 (1993).
- Araujo** R. G. O., Vignola F., Castillo I. N. B., Welz B., Vale M. G. R., Smichowski P., Ferreira S. L. C. y Becker-Ross H. Determination of silver in airborne particulate matter collected on glass fiber filters using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sampling. *Microchemical Journal*, doi:10.1016/j.microc.2012.05.009 (2012).
- Ashkenani** H. y Taher M. A. Use of ionic liquid in simultaneous microextraction procedure for determination of gold and silver by ETAAS. *Microchemical Journal* 103, 185-190 (2012).
- ATSDR**, Agency for Toxic Substances and Disease Registry ToxFAQs. Silver (CAS # 7440-22-4) (1999).
- Barriada** J. L., Tappin A. D., Evans E. H. y Achterberg E. P. Dissolved silver measurements in seawater. *TRAC-Trends in Analytical Chemistry* 26, 809-817 (2007).
- Bielmyer** G. K.; Brix K. V. y Grosell M. Is Cl<sup>-</sup> protection against silver toxicity due to chemical speciation?. *Aquatic Toxicology* 87, 81-87 (2008).
- Cheek** G. T. y Nelson R. F. Applications of chemically modified electrodes to analysis of metal ions. *Analytical Letters* 11, 393-402 (1978).

**Cortese-Krott** M. M., Münchow M., Pirev E., Heßner F., Bozkurt A., Uciechowski P., Pallua N., Kröncke K. - D. y Suschek C. V. Silver ions induce oxidative stress and intracellular zinc release in human skin fibroblasts. *Free Radical Biology & Medicine* 47, 1570-1577 (2009).

**Daşbaşı** T., Saçmacı Ş., Şahan S., Kartal Ş. y Ülgen A. Synthesis, characterization and application of a new chelating resin for on line separation, preconcentration and determination of Ag(I) by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2012.09.017> (2012).

**Deng** P.-H., Feng Y.-I. y Fei J.-J. A new electrochemical method for the determination of trace molybdenum(VI) using carbon paste electrode modified with sodium dodecyl sulphate. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 661, 367-373 (2011).

**Dong** S. y Wang Y. A nafion/crown ether film electrode and its application in the anodic stripping voltammetric determination of traces of silver. *Analytica Chimica Acta* 212, 341-347 (1988).

**El Mhammedi** M. A., Achak M. y Chtaini A.  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ -modified carbon-paste electrode for the determination of trace lead(II) by square-wave voltammetry. *Journal of Hazardous Materials* 161, 55-61 (2009b).

**El Mhammedi** M. A., Achak M., Najih R., Bakasse M. y Chtaini A. Micro-extraction and trace determination of cadmium by square wave voltammetry at the carbon paste electrode impregnated with  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . *Materials Chemistry and Physics* 115, 567-571 (2009a).

**Essumang** D. K. y Nortsu B. K. Analysis of silver in the water column of the Pra and Eture estuaries in Ghana. *Chemistry and Ecology* 24, 297-303 (2008).

**Estévez-Hernández** O., Naranjo-Rodríguez I., Hidalgo-Hidalgo de Cisneros J. L. y Reguera E. Evaluation of carbon paste electrodes modified with 1-furoylthioureas for the analysis of cadmium by differential pulse anodic stripping voltammetry. *Sensors and Actuators* 123, 488-494 (2007).

**ETC Group**. Medicina nanológica: aplicaciones médicas de las nanotecnologías: ¿cual es su impacto en las comunidades marginadas? USA. 10 p. [www.etcgroup.org](http://www.etcgroup.org) (2006).

**Etienne** M., Bessiere J. y Walcarius A. Voltammetric detection of copper(II) at a carbon paste electrode containing an organically modified silica. *Sensors and Actuators B* 76, 531-538 (2001).

**Filho** N. L. D. y Carmo D. R. Study of an organically modified clay: Selective adsorption of heavy metal ions and voltammetric determination of mercury(II). *Talanta* 68, 919-927 (2006).

**Gao** Z., Li P. y Zhao Z. Determination of iron with chemically-modified carbon-paste electrodes. *Talanta* 38, 1177-1184 (1991).



**Gao Z.**, Li P., Wang G. y Zhao Z. Preconcentration and differential-pulse voltammetric determination of iron with Nafion-1,10-phenanthroline-modified carbon paste electrodes. *Analytica Chimica Acta* 241, 137-146 (1990).

**Gerondi F.** y Arruda M. A. Z. Thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry for determination of silver in biological materials. *Talanta* 97, 395-399 (2012).

**González P.**, Cortínez V. A. y Fontán C. A. Determination of nickel by anodic adsorptive stripping voltammetry with a cation exchanger modified carbon paste electrode. *Talanta* 58, 679-690 (2002).

**Hu C.**, Wu K., Dai X. y Hu S. Simultaneous determination of lead(II) and cadmium(II) at a diacetyldioxime modified carbon paste electrode by differential pulse stripping voltammetry. *Talanta* 60, 17-24 (2003).

**Hubmann J.**, Buffle J. y Monnier D. Determination of trace amounts of silver(I) by polarographic, Anodic stripping and Chronopotentiometric methods at a mercur electrode. Studies in aqueous and nonaqueous media. *Analytica Chimica Acta* 62, 393-404 (1972).

**Issa Y. M.**, Ibrahim H. y Shehab O. R. New copper(II)-selective chemically modified carbon paste electrode based on etioporphyrin I dihydrobromide. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 666, 11-18 (2012).

**IUPAC.** McNaught A. D. y Wilkinson A. Compendium of Chemical Terminology, 2<sup>nd</sup> ed. (the "Gold Book"). Oxford. Blackwell Scientific Publications (1997).

**Javanbakht M.**, Divsar F., Badiei A., Fatollahi F., Khaniani Y., Ganjali M. R., Norouzi P., Chalooosi M. y Ziarani G. M. Determination of picomolar silver concentrations by differential pulse anodic stripping voltammetry at a carbon paste electrode modified with phenylthiourea-functionalized high ordered nanoporous silica gel. *Electrochimica Acta* 54, 5381-5386 (2009).

**Kalcher K.** Chemically modified carbon paste electrodes in voltametry analysis. *Electroanalysis* 2, 419-433 (1990).

**Kalcher K.**, Grabec I., Raber G., Cai X., Tavcar G. y Ogorevc B. The vermiculite-modified carbon paste electrode as a model system for preconcentrating mono- and divalent cations. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 386, 149-156 (1995b).

**Kalcher K.**, Kauffmann J.-M., Wang J., Švancara I., Vytřas K., Neuhold C. y Yang Z. Sensors based in carbon paste in electrochemical analysis: A review with particular emphasis on the period 1990-1993. *Electroanalysis* 7, 5-22 (1995a).

**Karimi** M. A., Mohammadi S. Z., Mohadesi A., Hatefi-Mehrjardi A., Mazloun-Ardakani M., Sotudehnia K. L. y Kabir A. A. Determination of silver(I) by flame atomic absorption spectrometry after separation/preconcentration using modified magnetite nanoparticles. *Scientia Iranica F* 18, 790-796 (2011).

**Khodari** M., Abou Krishna M. M. y Fandy R. Determination of Ag(I) with chemically modified carbon paste electrode based on 2,3-dicyano 1,4-naphthoquinone. *Talanta* 41, 2179-2182 (1994).

**Kissinger** P. T. y Heineman R. W.; Laboratory techniques in electroanalytical chemistry. *Dekker Marcell Dekker, New York* (1984).

**Kleinberg** J. Treatise on inorganic chemistry. Elsevier publishing company, Netherlands. Vol. 1 (1956).

**Kramer** D., Cullen J. T., Christian J. R., Johnson W. K. y Pedersen T. F. Silver in the subarctic northeast Pacific Ocean: Explaining the basin scale distribution of silver. *Marine Chemistry* 123, 133-142 (2011).

**Kula** P., Zuzana Navrátilová Z., Kulová P. y Kotoucek M. Sorption and determination of Hg(II) on clay modified carbon paste electrodes. *Analytica Chimica Acta* 385, 91-101 (1999).

**Kumar** S. A. y Chen S. M. Electroanalysis of NADH Using Conducting and Redox Active Polymer/Carbon Nanotubes Modified Electrodes-A Review. *Sensors* 8, 739-766 (2008).

**Labar** Ch. y Lamberts L. Anodic stripping voltammetry with carbon paste electrodes for rapid Ag(I) and Cu(II) determinations. *Talanta* 44, 733-742 (1997).

**Labuda** J., Korgová H. y Vanicková M. Theory and application of chemically modified carbon paste electrode to copper speciation determination. *Analytica Chimica Acta* 305, 42-48 (1995).

**Li** P., Gao Z., Xu Y., Wang G. y Zhao Z. Determination of trace amounts of silver with a chemically modified carbon paste electrode. *Analytica Chimica Acta* 229, 213-219 (1990).

**Li** Y. H., Xie H. Q. y Zhou F. Q. Alizarin violet modified carbon paste electrode for the determination of trace silver(I) by adsorptive voltammetry. *Talanta* 67, 28-33 (2005).

**Liang** P. y Peng L. Determination of silver(I) ion in water samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry after preconcentration with dispersive liquid-liquid microextraction. *Microchimica Acta* 168, 40-45 (2010).

**Libuse** T., Sona K., Vojtech A., Jaromir H. y Rene K. Immobilization of metallothionein to carbon paste electrode surface via anti-MT antibodies and its use for biosensing of silver. *Biosensors and Bioelectronics* 26, 2201-2207 (2011).

**Lorenzo** E. y **Abruña** H. D. Determination of silver with polymer-modified electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 328, 111-125 (1992).

**Lu** X., **Wang** Z., **Geng** Z., **Kang** J. y **Gao** J. 2,4,6-tri(3,5-Dimethylpyrazoyl)-1,3,5-triazine modified carbon paste electrode for trace Cobalt(II) determination by differential pulse anodic stripping voltammetry. *Talanta* 52, 411-416 (2000).

**Lubert** K.-H., **Beyer** L., **Casabó** J., **Pérez-Jiménez** C. y **Escríche** L. Coordination of silver(I) at the surface of carbon paste electrodes modified with 2,5,8-trithia[9]-m-cyclophane as studied by cyclic voltammetry. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 475, 73-81 (1999).

**Luoma** S. N.; **Ho** Y. y **Bryan** G. W. Fate, bioavailability and toxicity of silver in estuarine environments. *Marine Pollution Bulletin* 31, 44-54 (1995).

**Marino** G., **Bergamini** M. F., **Teixeira** M. F. S. y **Cavalheiro** E. T. G. Evaluation of a carbon paste electrode modified with organofunctionalized amorphous silica in the cadmium determination in a differential pulse anodic stripping voltammetric procedure. *Talanta* 59, 1021-1028 (2003).

**Mashhadizadeh** M. H., **Mostafavi** A., **Allah-Abadi** H. y **Sheikhshoai** I. New Schiff base modified carbon paste and coated wire PVC membrane electrode for silver ion. *Sensors and Actuators B* 113, 930-936 (2006).

**Mashhadizadeh** M. H., **Khani** H., **Shockravi** A. y **Sadeghpour** M. Determination of ultratrace levels of lead (II) in water samples using a modified carbon paste electrode based on a new podand. *Materials Science and Engineering C* 31, 1674-1680 (2011).

**Mohadesi** A. y **Taher** M. A. Stripping voltammetric determination of silver(I) at carbon paste electrode modified with 3-amino-2-mercapto quinazolin-4(3H)-one. *Talanta* 71, 615-619 (2007).

**Molina** H. T., **Pinilla** M. J. M. y **Hernández** H. L. Voltammetric determination of lead with a chemically modified carbon paste electrode with diphenylthiocarbazone. *Analytica Chimica Acta* 309, 117-122 (1995).

**Nawaz** M., **Han** M. Y., **T. I. Kim**, **Manzoor** U. y **Amin** M. T. Silver disinfection of *Pseudomonas aeruginosa* and *E. coli* in rooftop harvested rainwater for potable purposes. *Science of the Total Environment* 431, 20-25 (2012).

**Ndungu** K. Dissolved silver in the Baltic Sea. *Environmental Research* 111, 45-49 (2011).

**Nguyen** P. K. Q. y **Lunsford** S. K. Electrochemical response of carbon paste electrode modified with mixture of titanium dioxide/zirconium dioxide in the detection of heavy metals: Lead and cadmium. *Talanta* 101, 110-121 (2012).

- Pathak** S. P. y Gomal K. Evaluation of bactericidal efficacy of silver ions on Escherichia coli for drinking water disinfection. *Environmental Science and Pollution Research* 19, 2285-2290 (2012).
- Pei** J., Yin Q. y Zhong J. Potentiometric determination of trace silver based on the use of a carbon paste electrode. *Talanta* 38, 1185-1189 (1991).
- Peng** J. J. -Y., Botelho M. G. y Matinlinna J. P. Silver compounds used in dentistry for caries management: A review. *Journal of dentistry* 40, 531-541 (2012).
- Pingarrón** J. M. y Batanero P. Química Electroanalítica. Síntesis S.A. Madrid, 131-339 (1999).
- Prabhu** S. V., Baldwin P. R. y Kryger L. Preconcentration and determination of lead(II) al crown ether and cryptand containing chemically modified electrodes. *Electroanalysis* 1, 13-21 (1989).
- Quang** D. V., Sarawade P. B., Jeon S. J., Kim, S. H., Kim J. K., Chai Y. G. y Kim H. T. Effective water disinfection using silver nanoparticle containing silica beads. *Applied Surface Science* 266, 280-287 (2013).
- Ravichandran** K. y Baldwin R. P. Chemically Modified Carbon Paste Electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 126, 293-300 (1981).
- Rezaei** B., Ghiaci M. y Sedaghat M. E. A selective modified bentonite-porphyrin carbon paste electrode for determination of Mn(II) by using anodic stripping voltammetry. *Sensors and Actuators B* 131, 439-447 (2008).
- Rohani** T. y Taher M. A. Preparation of a carbon ceramic electrode modified by 4-(2-pyridylazo)-resorcinol for determination of trace amounts of silver. *Talanta* 80, 1827-1831 (2010).
- Safavi** A., Pakniat M. y Maleki N. Design and construction of a flow system for determination of Cu(II) ions in water by means of a chemically modified carbon paste electrode. *Analytica Chimica Acta* 335, 275-282 (1996).
- Sanchez** A., Morante-Zarcelero S., Perez-Quintanilla D., Sierra I., del Hierro I. Determination of Hg(II) in natural waters using a carbon paste electrode modified with hybrid mesostructured silica nanoparticles. *Sensors and Actuators B* 163, 38-43 (2012).
- Sañudo-Wilhelmy** S. A. y Flegal A. R. Anthropogenic silver in the Southern California bight: A new tracer for sewage in coastal waters. *Environmental Science and Technology* 26, 2147-2151 (1992).
- Shamsipur** M. Tashkhourian J., Hemmateenejad B. y Sharghi H. Application of artificial neural network to simultaneous potentiometric determination of silver(I), mercury(II) and copper(II) ions by an unmodified carbon paste electrode. *Talanta* 64, 590-596 (2004).

**Silvestry-Rodriguez N.**, Sicairos-Ruelas E. E., Gerba C. P. y Bright K. R. Silver as a Disinfectant. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 191, 23-45 (2007).

**Sugawara K.**, Tanaka S. y Taga M. Voltammetry of silver(I) using a carbon-paste electrode modified with 2,2'-dithiodipyridine. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 304, 249-255 (1991).

**Svancara I.**, Galík M. y Vytras K. Stripping voltammetric determination of platinum metals at a carbon paste electrode modified with cationic surfactants. *Talanta* 72, 512-518 (2007).

**Svancara I.**, Vytras K., Baeck J. y Zima J. Carbon paste electrode in modern electroanalysis. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 31, 311-345 (2001).

**Svobodova-Tesarova E.**, Baldrianova L., Stoces M., Svancara I., Vytras K., Hocevar S. B. y Ogorevc B. Antimony powder-modified carbon paste electrodes for electrochemical stripping determination of trace heavy metals. *Electrochimica Acta* 56, 6673-6677 (2011).

**Sweeney A. M.** y Sanudo-Wilhelmy S. A. Dissolved metal contamination in the East River-Long Island sound system: potential biological effects. *Marine Pollution Bulletin* 48, 663-670 (2004).

**Tanaka S.** y Yoshida H. Stripping Voltammetry of silver(I) with a carbon-paste electrode modified with Thiocrown compounds. *Talanta* 36, 1044-1046 (1989).

**Tappin A. D.**, Barriada J. L., Braungardt C. B., Evans E. H., Patey M. D. y Achterberg E. P. Dissolved silver in European estuarine and coastal waters. *Water Research* 44, 4204-4216 (2010).

**Temmerman E.** y Verbeek F. Anodic stripping voltammetry of silver in cadmium at the glassy carbon electrode. *Analytica Chimica Acta* 58, 263-272 (1972).

**Villalba M. M.** y Davis J. New directions for carbon-based detectors: exploiting the versatility of carbon substrates in electroanalysis. *Journal of Solid State Electrochemistry* 12, 1245-1254 (2008).

**Walcarius A.**, Despas C. y Bessiere J. Selective monitoring of Cu(II) species using a silica modified carbon paste electrode. *Analytica Chimica Acta* 385, 79-89 (1999).

**Wang J.** y Martinez T. Accumulation and voltammetric measurement of silver at zeolite-containing carbon-paste electrodes. *Analytica Chimica Acta* 207, 95-102 (1988).

**Wang J.**, Lu J. y Farias P. A. M. Remote electrochemical monitoring of trace silver. *Analytica Chimica Acta* 318, 151-157 (1996).

**Wen X.**, Kong L., Chen M., Deng Q., Zhao X. y Guo J. A new coupling of spectrophotometric determination with ultrasound-assisted emulsification dispersive liquid-liquid microextraction of trace silver. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 97, 782-787 (2012).

**Wopschall R. H.** y Shain I. Effects of adsorption of electroactive species in stationary electrode polarography. *Analytical Chemistry* 39, 1514-1527 (1967).

**Yang C. J.**, Liang C. H. y Liu X. Tarnishing of silver in environments with sulphur contamination. *Anti-Corrosion Methods and Materials* 54, 21-26 (2007).

**Yang G.**, Fen W., Lei C., Xiao W. y Sun H. Study on solid phase extraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry for the determination of nickel, silver, cobalt, copper, cadmium and lead with MCI GEL CHP 20Y as sorbent. *Journal of Hazardous Materials* 162, 44-49 (2009).

**Yu H.-M.**, Sun W., Chen M.-L., Tian Y. y Wang J.-H. Carbon Nanotubes-Loaded Silica Gel for Preconcentration of Trace Silver with Detection by Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* 38, 1721-1726 (2010).

**Zeji H.**, Hidalgo-Hidalgo de Cisneros J. L., Naranjo-Rodríguez I. y Tamsamani K. R. Stripping voltammetry of silver ions at polythiophene-modified platinum electrodes. *Talanta* 71, 1594-1598 (2007).

**Zeng B.**, Ding X., Pan D. y Zhao F. Accumulation and stripping behavior of silver ions at DL-dithiothreitol self-assembled monolayer modified gold electrodes. *Talanta* 59, 501-507 (2003).



## *CAPÍTULO VI*

---

### *CAPÍTULO VII. CONTAMINACIÓN METÁLICA EN EL RÍO MGHOGHA Y EL LITORAL DE LA CIUDAD DE TÁNGER (MARRUECOS)*

---





## ***CAPÍTULO VI. CONTAMINACIÓN METÁLICA EN EL RÍO MGHOGHA Y EL LITORAL DE LA CIUDAD DE TÁNGER (MARRUECOS)***

---

La actividad industrial es la principal fuente de riqueza de los países desarrollados y los que están en vía de desarrollo. Sin embargo, en la mayor parte de los casos, el crecimiento industrial va acompañado de problemas de contaminación y la degradación del medio natural debido a los vertidos de aguas residuales contaminadas. El aumento de industrias y el crecimiento de la población en todo el mundo han provocado un enorme crecimiento de residuos contaminantes, los cuales han de ser gestionados de forma adecuada con el fin de evitar la transferencia de la contaminación al medio natural [Azapagic y col., 2004; Benhamou y col., 2007; Sutton y col., 2011; Saint-Laurent y col., 2011; Garnier y col., 2012].

Uno de los casos más preocupantes de transferencia de contaminación es la presencia de compuestos tóxicos procedentes de la industria en el litoral marino mediante vertidos directos de efluentes industriales o domésticos, y/o indirectos mediante el transporte de los contaminantes a través de los ríos y arroyos que vierten en las zonas costeras. Todos estos vertidos provocan que en las masas de aguas

litorales se detecte la presencia de contaminación de muy diversa naturaleza con diferentes niveles de contaminantes químicos y bacteriológicos, sales inorgánicas disueltas y materia orgánica en fase particulada y disuelta de procedencia continental, así como concentraciones variables de compuestos tóxicos permanentes o bioacumulables, entre los que destacan los metales pesados [Sundaray y col., 2011; Wang y col., 2012], sobre todo cobre, plomo y cinc,... y compuestos orgánicos como hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) y bifenilos policlorados (BPCs) [Sponza y Oztekin, 2011; Hong y col., 2011; Gan y col., 2011; Mu y col., 2012; Montuori y Triassi, 2012] dependiendo del tipo de actividad industrial desarrollada. Estos compuestos, cuando sus concentraciones sobrepasan ciertos niveles, pueden llegar a ser un factor de riesgo para el medio marino y para la salud humana.

El presente trabajo de investigación tiene como propósito hacer un estudio de la contaminación metálica en el río Mghogha y la bahía de Tánger (Marruecos), producida por diversos vertidos procedentes de la zona industrial de esta ciudad así como por la actividad marítima.

## VI.1. EL SECTOR DEL AGUA EN MARRUECOS

Marruecos es un país que se encuentra situado en el extremo noroccidental de África con una extensión de 446.550 kilómetros cuadrados. Limita con Argelia al este, el Mar Mediterráneo y España al norte, Mauritania al sur y el Océano Atlántico al oeste. Tiene una larga costa que se extiende entre el Mar Mediterráneo y el Océano Atlántico a lo largo de 3.446 km. Se encuentra separado de España por menos de 20 km de mar. Su población es de 31.992.592 habitantes, correspondiendo un 55,1% a población urbana [Cerezo Monje y col., 2011].

Este país se caracteriza por un clima mediterráneo árido o semiárido en la mayor parte de su territorio, el cual sufre la escasez de agua igual que muchos países mediterráneos debido al agotamiento y la degradación de los recursos hídricos. La utilización inadecuada de estos recursos, provoca una disminución drástica de los

niveles de aguas subterráneas y la degradación de la calidad del agua, como se ha demostrado en varios acuíferos de Marruecos [Bouchaou y col., 2009].

Marruecos se caracteriza por un número limitado de recursos hídricos, ya que no todos pueden ser movilizados. Los recursos de aguas renovables se evalúan en cerca de 22.200 millones de m<sup>3</sup>, aunque los que pueden ser técnica y económicamente movilizados no sobrepasan los 13.000 millones de m<sup>3</sup>. Los sectores de la agricultura y la irrigación consumen cerca del 80% de los recursos movilizados, el 20% restante es para otros usos como doméstico, turístico e industrial. La tendencia de los recursos hídricos per cápita es cada vez más preocupante, siendo descendente debido al crecimiento demográfico. Según datos de la dirección de Investigación y Planificación del Ministerio de Medio Ambiente, la disponibilidad por habitante y año en 1960 era de 2560 m<sup>3</sup>/hab/año; mientras que hoy en día, se sitúa en los 720 m<sup>3</sup>/hab/año y se estima que para el año 2020 este potencial habrá disminuido hasta los 520 m<sup>3</sup>/hab/año, lo cual es alarmante ya que se trata de una cifra situada muy por debajo del umbral de 1.000 m<sup>3</sup>/hab/año considerado como el indicador que define el estrés hídrico de un país. Además, ese potencial está amenazado por la sobreexplotación de la mayoría de las capas subterráneas y la contaminación generada por los desechos urbanos e industriales así como por el uso cada vez más intenso de abonos químicos y pesticidas en la agricultura [Menchaca Martínez, 2010; Cerezo Monje y col., 2011].

Cabe destacar que en Marruecos, el 80% de las aguas residuales domésticas e industriales de las zonas urbanas y rurales, se liberan en el medio ambiente sin ningún tipo de tratamiento previo [Cerezo Monje y col., 2011]. Los ríos y arroyos reciben directamente el 30% de la contaminación total generada por el hombre [Barakat y col., 2012]. Diversos estudios han demostrado que varios estuarios y ríos se encuentran contaminados por metales pesados procedentes de los residuos liberados por el hombre [Ben Bouih y col., 2005; González y col., 2007; Achab y col., 2007; Amri y col., 2007; Anajjar y col., 2008; Zourarah y col., 2008; Bloundi y col., 2009; Mhamdi y col., 2010; Naoura y col., 2011].

En la zona costera mediterránea de Marruecos, los principales problemas ambientales relacionados con las aguas residuales urbanas, residuos sólidos urbanos y

residuos industriales, se encuentran en las ciudades de la costa de Tánger (población 640.000), Tetuán (población 454.000), Nador (población 215.000) y Al Hoceima (población 139.000) [DG Environment European Comission, 2006].

En este país existe un complicado equilibrio entre recursos y necesidades hídricas y financieras, una sobreexplotación de las capas subterráneas y los esfuerzos de saneamiento líquido suponen un reto en la gestión integral del ciclo del agua. Por ello, el Gobierno está llevando a cabo diferentes políticas para hacer frente al déficit hídrico, que en parte es debido a la alta demanda de agua y a los bajos recursos que posee. Esto es consecuencia de que la oferta es baja debido a las condiciones climáticas del país y a la consecuente degradación de los recursos hídricos. La demanda es cada vez más elevada debido al aumento de la población y al estado en expansión de las actividades que se están desarrollando en el país, como el desarrollo de la irrigación privada, el crecimiento del sector turístico y el desarrollo industrial [Cerezo Monje y col., 2011; Sardinha y col., 2012].

Las reformas adoptadas por el Gobierno consisten en la puesta en marcha de una gestión integrada de los recursos hídricos a través de las Agencias de Cuencas Hidráulicas, la regulación tarifaria de los usos del agua, la racionalización de las inversiones del Estado y el control de los impactos de los residuos urbanos e industriales sobre el medio ambiente.

Es importante mencionar que un número importante de actividades ambientales reciben asistencia extranjera, la mayoría de las cuales están relacionadas con las aguas residuales urbanas. Por ejemplo, el Plan Nacional de Saneamiento que está desarrollando Marruecos, está apoyado por la Unión Europea y por el Banco Mundial. Las ayudas que hay específicas para el desarrollo de este sector son [Cerezo Monje y col., 2011]:

★El **Fondo Nacional de Descontaminación (FODEP)**: en marcha desde 1998, en colaboración con el Ministerio de Energía, Minas, Agua y Medio Ambiente y la Agencia Alemana de Cooperación Financiera (KFW), con el fin de motivar a las empresas industriales y artesanales para que inviertan en descontaminación y/o de

economía de recursos y que introduzcan la dimensión ambiental en la gestión de las unidades industriales y artesanales según el estándar internacional.

★El **Banco Africano de Desarrollo (BAD) (2010)**: lleva a cabo la financiación de proyectos de agua y saneamiento en Marruecos dentro del proyecto de mejora de la alimentación en agua potable de la zona costera Rabat-Casablanca; también financia el suministro de agua potable en zonas rurales en la provincia de Taza y Fez.

★La **Agencia Japonesa de Cooperación Internacional (2010)**: con la financiación de proyectos para el tratamiento de aguas usadas y abastecimiento de agua potable.

★El **Banco Mundial (BM) (2010)**: con la financiación de proyectos para la gestión de los recursos hídricos, mejora de los sistemas de agua de regadío y de la gestión de agua del río Oum Er Rbia, y mejora del acceso al agua, desarrollo de colectores y tratamiento de aguas usadas. Todo este desarrollo se enfoca en las provincias de Nador, Driouch, Safi, Youssoufia, Errachidia, Sidi Bennour, etc y otras 11 ciudades de la cuenca Oum Erraba situadas en las provincias de Azilal, Beni Mellal, Khouribga, Safi, Youssoufia y Settat.

★La **Agencia Francesa de Desarrollo (AFD) (2010)**: con la financiación de proyectos para mejorar el rendimiento de la red de agua potable de la ciudad de Oujda.

★El **Banco Internacional de Reconstrucción y Desarrollo (BIRD) (2010)**: con la financiación del proyecto de las canalizaciones regionales de alimentación para agua potable y el proyecto de saneamiento Oum Er Rbia.

★La **Embajada de Alemania en Marruecos (2010)**: lleva a cabo la financiación de un proyecto de abastecimiento de agua potable en el Douar Laghdira (Larache).

En Marruecos hay más de 100 estaciones de depuración sobre todo en ciudades pequeñas y medianas del interior del país, pero sólo el 20% de las aguas usadas que se recolectan son tratadas. La estación depuradora más grande, Amendis (Grupo Veolia Environment) se encuentra en Tánger, en la zona noroeste del puerto, con una capacidad de 167.000 m<sup>3</sup>/día, que está en funcionamiento desde 2009. La función de esta estación es la de hacer un primer tratamiento de las aguas residuales para después

verterlas al océano Atlántico mediante un emisario marino. Cabe mencionar otras estaciones de depuración, las cuales se encuentran en [Cerezo Monje y col., 2011]:

- Marrakech (118.000 m<sup>3</sup>/día): tratamiento primario por lodos activados.
- Meknes (96.000 m<sup>3</sup>/día): tratamiento primario por laguna.
- Agadir (51.000 m<sup>3</sup>/día): tratamiento secundario por decantación anaeróbica-percolación de infiltración, tratamiento terciario de una parte de los desechos para su reutilización.
- Settat (17.000 m<sup>3</sup>/día): tratamiento terciario por laguna.
- Beni Mellal (11.000 m<sup>3</sup>/día): tratamiento secundario por lodos activados.
- Deroua (2.000 m<sup>3</sup>/día): tratamiento primario por laguna.

Por todo ello, se precisa avanzar aún más en la gestión del agua en este país.

## VI.2. ZONA DE ESTUDIO: CIUDAD DE TÁNGER (MARRUECOS)

La provincia de Tánger se encuentra en el noroeste de Marruecos, con una superficie de 1.195 Km<sup>2</sup>. Se caracteriza por un clima subtropical, suave y húmedo, por las influencias oceánicas, con una pluviometría media de 800 mm/año y unas temperaturas que oscilan entre 0 y 40 °C, predominando los vientos del este que alcanzan una media de 7 a 20 km/h, siendo también frecuentes los del oeste.

La Bahía de Tánger está enmarcada entre el Atlántico y el Mediterráneo, en la costa sur del Estrecho de Gibraltar, entre el Cabo de Judíos (35° 48' 28" N; 5° 51' W) en el oeste y el Cabo de Malabata (35° 41' 21" N; 5° 45' 2" W) en el este. Esta bahía se encuentra rodeada de extensas playas y parajes montañosos repletos de bosques con una frondosa vegetación, zona de paso de las aves migratorias, de gran interés medioambiental (Figura VI.1) [Molina, 2008].

Esta ciudad destaca por su relevante situación geoestratégica, que le confiere una gran importancia desde el punto de vista territorial, configurándose como el soporte de un entramado de flujos y conexiones entre dos continentes, Europa y África, y entre dos mares, Atlántico y Mediterráneo. Durante las últimas décadas, se ha registrado un desarrollo económico y social en el entorno de la zona portuaria. Este

crecimiento se ha hecho de forma dispersa a lo largo del litoral donde la ocupación de este espacio se ha realizado de una manera desordenada. La provincia de Tánger tiene una tasa de urbanización muy superior a la media nacional (62%). Este hecho puede ser atribuido a dos factores principales: un alto crecimiento de la población y un éxodo rural incontrolado [Piniella, 2009].



*Figura VI.1. Bahía de Tánger (Marruecos)*

Tánger es la ciudad industrial más grande del norte de Marruecos, con una población de aproximadamente más de 1 millón de habitantes y una tasa de crecimiento anual de 2,6% (año 2004) [Piniella, 2009]. Recibe aguas de cuatro ríos: Souani, Mghogha, Mlaleh y Chatt [Achab y col., 2007] que pasan por el centro del área metropolitana de Tánger (Figura VI.2). Hasta el año 2007 no disponía de ningún sistema de alcantarillado y todas las aguas residuales se descargaban directamente en ríos cercanos sin ningún tratamiento previo [Rodríguez-Barroso y col., 2009]. Estos ríos con un pobre aspecto estético apenas llevan caudal de agua, excepto en invierno, nunca han sido usados para el abastecimiento de agua y siempre han servido como una vía principal para la escorrentía urbana y aguas residuales industriales en la bahía de Tánger [Benhamou y col., 2007]. En 2006, las autoridades de la ciudad de Tánger comenzaron a construir sistemas de alcantarillado con desagüe en el oeste de la bahía,



alcanzando un 40% de las descargas de aguas residuales a finales de 2007 [Empresa Amendis, 2005]. Esta situación ha creado una gran amenaza para la salud pública y ha impactado las condiciones biológicas y geoquímicas de los cuatro ríos, y de la bahía [Rodríguez-Barroso y col., 2010]. Frente a este problema ambiental, se propuso la implantación de una estación de depuración de aguas residuales en 2007. Esta estación se encuentra en funcionamiento desde 2009 permitiendo tratar aproximadamente 218.000 m<sup>3</sup> de aguas residuales por día. Después de un tratamiento primario por decantación y tratamiento de lodos, las aguas tratadas son vertidas en el mar a una distancia de 2 Km a través de un emisario submarino en el estrecho de Gibraltar [Empresa Amendis, 2009].

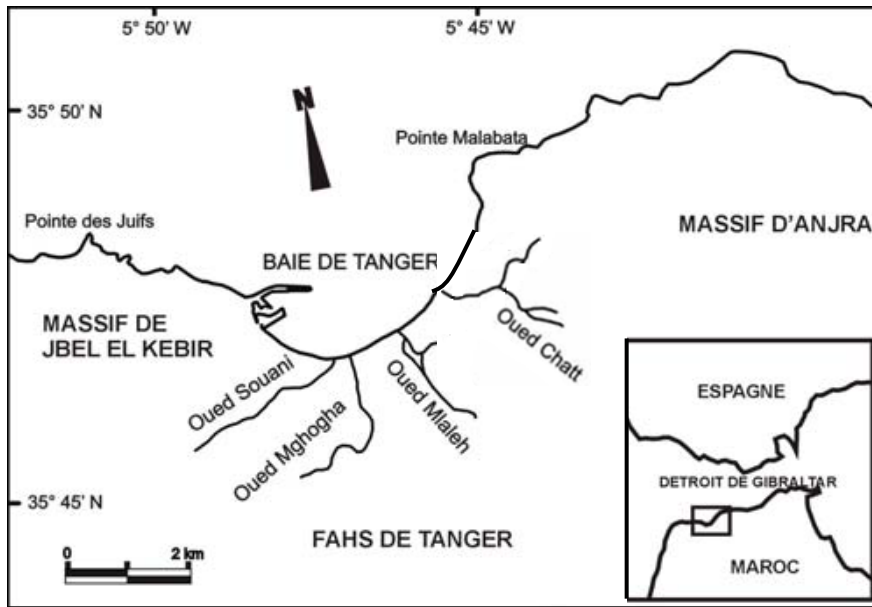


Figura VI.2. Mapa de la Bahía de Tánger [Achab y col., 2005]

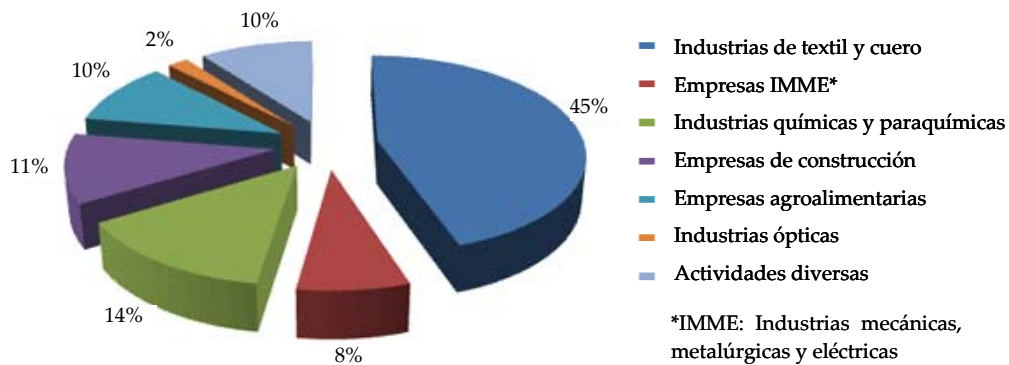
La zona industrial de Tánger, conocida también como zona industrial de Mghogha o de "Route de Tétouan" (Figura VI.3), se encuentra al sureste de la ciudad, en la cual existen gran variedad de empresas e industrias, englobadas en la Asociación

de la Zona Industrial de Tánger, AZIT, creada en 1990. La zona ocupa 138 hectáreas y cuenta con más de 180 empresas en diversos sectores: metalurgia, cerámica, textil, agroalimentación, construcción, etc., algunas desde los años 70 (Figura VI.4) [Agaz, 2010].



Figura VI.3. Esquema de la ubicación de las empresas de la zona industrial de Tánger, pertenecientes a "L'Association des Co-propiétaires de la Zone Industrielle de Tánger, L'AZIT" (ver Tabla A.11.6 en Anexo 11)

Los vertidos producidos por estas industrias son diversos y la mayoría no están sujetos a ningún tipo de control medioambiental. Consisten principalmente en vertidos de las industrias textiles (32%), de las industrias derivadas de la agricultura y la alimentación (19%) y de diversas industrias químicas y del metal. Con un menor volumen, se encuentran en la zona las industrias de la piel y el plástico [Bouzid y col., 2008].



*Figura VI.4. Distribución sectorial de las empresas de la AZIT (Enero 2012)*

A lo largo del “Grand Canal” como también se llama al río Mghogha existen diferentes colectores (**Figura VI.5**), los cuales vierten directamente sobre sus aguas, sin ningún tipo de pretratamiento, pudiéndose comprobar “in-situ” los aportes contaminantes que llegan a sus aguas, las cuales terminan desembocando en la playa de la ciudad de Tánger. El caudal de este canal es muy variable, dependiendo de los aportes naturales y antropogénicos que recibe a lo largo del año.

De la relación de industrias pertenecientes a la AZIT, se estima que algunos de los posibles vertidos aportados por las mismas pueden corresponder a los siguientes grupos de contaminantes: efluentes con elevada concentración de sulfuros y cromo, efluentes ácidos o básicos con materia orgánica y sólidos en suspensión, blanqueadores, hipoclorito, peróxido, colorantes, catalizadores, detergentes, emulsionantes, disolventes, contaminación atmosférica de SO<sub>x</sub>, CO, NO<sub>x</sub>, fluoruros, escorias básicas relativamente ricas en fósforo, escorias de Al, escorias salinas, resinas ácidas, compuestos orgánicos de azufre, compuestos clorados y compuestos órgano estánicos entre otros (ver **Tabla A.11.6** en **Anexo 11**), según información general relativa a cada una de estas actividades [**Aouarram, 2010**]. Estos residuos implican a menudo sustancias venenosas, que tiene consecuencias más o menos graves sobre el medio ambiente continental y marino y sobre su biodiversidad, pero sobre todo sobre

la salud humana. No obstante, las instituciones del país conscientes de este problema, están realizando diversas actuaciones para mejorar esta situación, con las propuestas de diversas iniciativas al respecto.



*Figura VI.5. Vertidos existentes en el río Mghogha en la zona industrial de Tánger*

### VI.3. ESTUDIOS PREVIOS DE CONTAMINACIÓN EN EL LITORAL DE TÁNGER

Como consecuencia de las actividades antropogénicas, el litoral mediterráneo de Tánger es vulnerable a la contaminación química y orgánica, como resultado de muchas aguas residuales urbanas e industriales, que afectan a la calidad de sus aguas y estropean la zona marítima costera. Desde el punto de vista ambiental, existen pocos trabajos científicos dedicados a la evaluación de la contaminación metálica en la zona.

El Hatimi y col. estudiaron las concentraciones de metales pesados en sedimentos de las regiones cercanas a las descargas de aguas residuales domésticas e industriales ubicadas a lo largo de los ríos de Tánger (Souani y Mghogha) encontrando que las concentraciones de los metales eran superiores en el sector occidental de la bahía, particularmente entre el puerto y las desembocaduras de los ríos, debido a las descargas sólidas y líquidas de la zona (Cr (100-269 mg/kg), Zn (165-1533 mg/kg), Pb (19,6-610 mg/kg), Ni (34,33-127 mg/kg), Cu (22-90 mg/kg) y Cd (0,21-0,74 mg/kg)) [El Hatimi y col., 2002].

Posteriormente, Benhamou y col. estudiaron la contaminación en los sedimentos de los cauces de los ríos Souani y Mghogha que desembocan en la Bahía de Tánger. Para ello, se efectuaron análisis de compuestos de carácter orgánico (materia orgánica, carbono orgánico), y diversos metales (Fe, Mn, Cu, Cr, Pb, Zn, Ni y Cd). Los resultados obtenidos mostraron la existencia de elevada contaminación de tipo orgánica en los puntos intermedios de ambos ríos, mientras que los niveles de metales pesados resultaron ser bajos según los niveles guía incluidos en las "Recomendaciones para la caracterización y la gestión del material de dragado en los puertos españoles" definidos por el CEDEX [Benhamou y col., 2007].

No obstante, el análisis geoquímico de los datos evidenció la presencia de una asociación metálica (Pb, Zn, Cu y Cd) de origen antrópico, definida para los puntos de muestreo próximos a las industrias, que además se correlacionaba con las estaciones que tuvieron altos niveles de materia orgánica [Achab y col., 2007].

También son escasos los trabajos sobre la evaluación de la calidad de las aguas, destacando los datos recogidos en la Tesis Doctoral de Blinda [Blinda, 2007] en la que se recogen los datos de aguas y sedimentos de diez estaciones, repartidas por toda la zona norte de Marruecos, de las cuales sólo un punto era de la zona de Tánger. Se analizaron metales como Pb, Zn, Cu, Cr, Ni, Cd y Hg. En las aguas no se encontró presencia de contaminación metálica, sin embargo fue en los sedimentos donde se detectaron niveles elevados de Pb y Ni y en menor grado de Zn y Cr. El análisis físico-químico puso de manifiesto la carga contaminante de los residuos de las ciudades de Tánger y Tetuán.

Por su parte, Douhri y Sayah detectaron contaminación química y orgánica en tres sitios que reciben aguas residuales: Ghandouri (aguas residuales industriales), Merkala (aguas residuales urbanas e industriales) y el Puerto (aguas residuales además del las actividades marítimas y tráfico) utilizando biomarcadores enzimáticos en dos tipos de invertebrados marinos [Douhri y Sayah, 2009].

Más recientemente, El Arrim y col. estudiaron la contaminación metálica en las aguas y los sedimentos superficiales de la Bahía de Tánger y de los ríos principales que desembocan en ella: Mghogha, Souani, Mlaleh y Chatt, analizando los metales: Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn. Las concentraciones de estos elementos metálicos encontradas en las aguas superficiales de la bahía de Tánger: Cd (2,3-2,6 µg/L), Cu (71,3-74,3 µg/L), Pb (99-105 µg/L), Zn (3,5-22 µg/L), Fe (16-40,3 µg/L), Mn (0,11-3,01 µg/L) y Ni (4-18,7 µg/L) [El Arrim y col., 2010], y en los sedimentos superficiales de la misma: Cu (9-58 mg/kg), Pb (8-82 mg/kg), Zn (14-348 mg/kg), Cr (33-110 mg/kg) y Ni (14-52 mg/kg) [Achab y col., 2007], eran más bajas que las encontradas en los ríos. La concentración de estos elementos parece estar relacionada con las descargas de efluentes domésticos e industriales (productos tóxicos, detergentes, metales pesados,...) que llegan directamente a la bahía por los ríos (Souani y Mghogha) y también con la actividad portuaria (derrames de petróleo, productos químicos,...).

En la presente Tesis Doctoral se aborda la evaluación de la contaminación metálica del río Mghogha, por ser el de mayor importancia hidrológica y por los vertidos que recibe de las actividades antropogénicas e industriales de la ciudad, así como por el impacto que sus aguas producen en la desembocadura y en la Bahía de Tánger. Cabe destacar que el río Mghogha es el más grande de los ríos de la ciudad de Tánger con una extensión de cuenca de 74 km<sup>2</sup>, una longitud de 17 km, y por tanto sustenta a gran número de barrios que vierten las aguas residuales en su cauce. La pendiente media es de 1,2% y suele disponer de muy poco caudal, de hecho son los vertidos de las diferentes industrias instaladas en su cauce las que aumentan su caudal. Tanto en su tramo alto donde se ubica la zona industrial como en el último tramo antes de su desembocadura en la bahía, está construido parcialmente por hormigón [Benhamou y col., 2007].

Estos estudios se abordaron en tres etapas:

- Evaluación de los contenidos metálicos de los sedimentos de los fondos del río Mghogha desde la zona industrial de Tánger hasta la desembocadura. La importancia de este estudio radica en que a pesar de que la mayoría de las veces los sedimentos actúan como sumidero de diferentes contaminantes, en ocasiones los contaminantes pueden resuspenderse y los sedimentos pueden convertirse en fuente de aporte de los mismos. Por ello, se estudió la fracción fácilmente lixiviable de los metales para conocer su biodisponibilidad y para dilucidar si se encuentran en concentraciones que puedan resultar perjudiciales.

- Evaluación de la calidad de las aguas de la playa de Tánger afectadas por las aguas continentales que recibe, especialmente las del río Mghogha, así como por la actividad marítima de la costa.

- Evaluación del nivel de contaminación de las aguas y los sedimentos de la costa a una cierta distancia de la playa, realizando la especiación metálica con objeto de definir su potencial disponibilidad hacia la biota, estudiando así la dispersión de los contaminantes hacia el exterior.

Cabe señalar que estas investigaciones se realizaron en el marco de la cooperación científica en temas medioambientales entre la Universidad de Cádiz y la Universidad de Abdelmalek Essaâdi.

#### **VI.4. ANÁLISIS DE LOS METALES PESADOS EN EL RÍO MGHOGHA Y EL LITORAL DE LA CIUDAD DE TÁNGER**

##### **VI.4.1. Toma de muestras**

La toma de muestras es una etapa muy importante en el proceso de resolución de problemas analíticos. Su objetivo es la obtención de una porción de material cuyo volumen sea lo suficientemente pequeño como para que pueda ser transportado con facilidad y manipulado en el laboratorio sin que por ello deje de representar con exactitud al material de donde se procede. La toma de muestra debe realizarse con

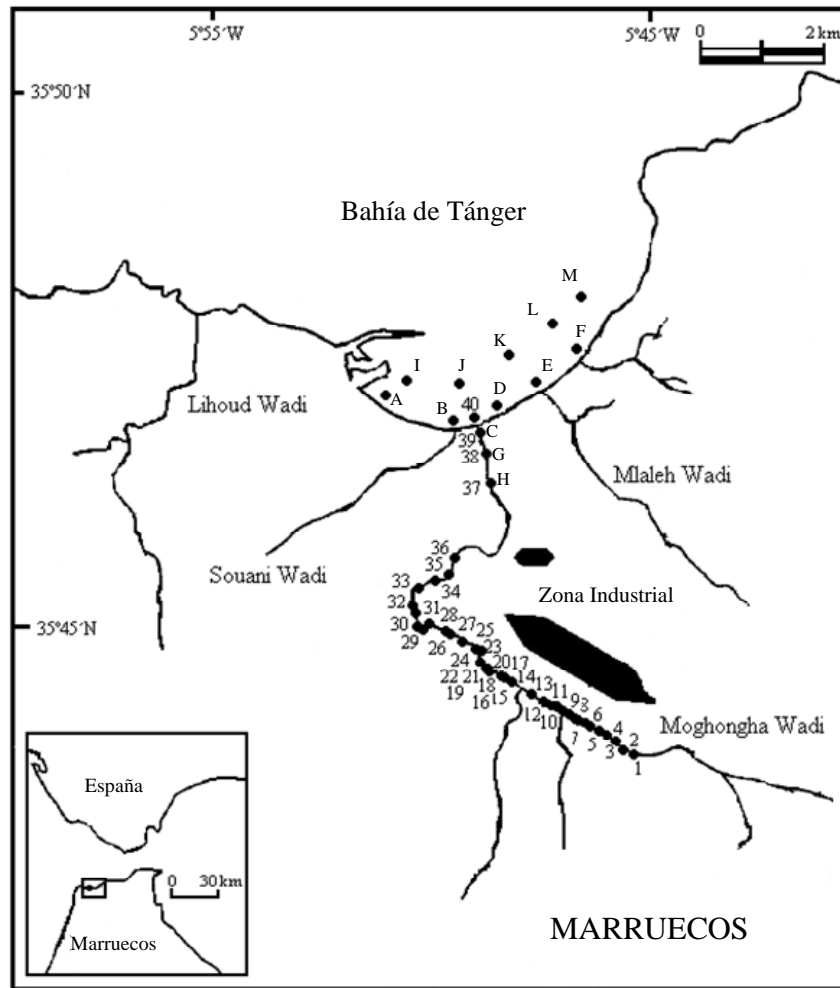
mucho cuidado, con objeto de garantizar que el resultado analítico represente la composición real, utilizando equipos y metodologías adecuados que eviten errores durante el proceso.

Para la realización del presente trabajo se planificó un muestreo en tres etapas para evaluar la contaminación metálica en la bahía de Tánger. En primer lugar, se estudiaron los niveles metálicos en el río Mghogha que recibe las aguas residuales de la zona industrial cercana (2003). Para este ecosistema se seleccionaron los sedimentos como depósitos de metales pesados por el bajo caudal del río debido a la aridez y la escasez de lluvias en la zona. En segundo lugar, como este río desemboca en la playa de la ciudad y como los metales fácilmente lixiviables de sus sedimentos pueden llegar a la costa y contaminar las aguas y los sedimentos de la misma, se abordó el estudio de los niveles metálicos en la playa en unos puntos cercanos a la orilla (2006) y otros más alejados de la costa, a cierta distancia de la orilla (2008) (**Figura VI.6**).

#### **VI.4.1.1. Toma de muestras de sedimentos**

Durante el primer muestreo (Octubre, 2003), se realizó la toma de muestras de sedimentos en el río Mghogha de forma paralela a la zona industrial de la ciudad de Tánger, por ser la zona de influencia más cercana y donde se producen directamente los vertidos de las diversas industrias (puntos 1 a 37). Igualmente se tomaron 3 muestras en la desembocadura del río en la playa (puntos 38, 39 y 40), con objeto de controlar la evolución de los vertidos desde el foco hasta la zona de mezcla con el agua de mar. En total se obtuvieron 40 muestras diferentes, las cuales quedan recogidas en el esquema de la **Figura VI.6**. Debido al bajo nivel de agua en la mayoría de los tramos de río, las muestras de sedimentos fueron tomadas directamente con pala de acero inoxidable, y almacenadas en bolsas de plástico con cierre hermético y numeradas. Fácilmente se pudo comprobar el estado de contaminación de las muestras, pues el aspecto del río evidenciaba la presencia de contaminación (**Figura VI.7**). Cabe destacar la presencia de puntos visibles con aportes de aguas residuales sobre todo en la zona más cercana al área industrial y en los últimos puntos (puntos 36 a 39) más cercanos a la ciudad.





*Figura VI.6. Puntos de muestreo en el río Mghogha y en la costa de la bahía de Tánger*

En el tercer muestreo (Noviembre, 2008), las muestras de sedimentos en la costa fueron obtenidas desde una embarcación, mediante una draga tipo “Van Veen” para las extracciones en profundidad (**Figura VI.8**). Se decidió tomar una muestra de sedimento en el punto A en la zona portuaria por ser un lugar con mayor contaminación. Además la bibliografía describe la zona noroccidental de la bahía con fondos arcillosos, que son los que presentan capacidad para retener metales. Por el

contrario, la zona oriental se caracteriza por su naturaleza rocosa y/o arenosa, como consecuencia de un régimen hidrodinámico elevado [Ahab y col., 2005] que no existe en la zona portuaria. Aún así, se trató de obtener una muestra comparativa en el punto M para ver la influencia más alejada del puerto y del río. Sin embargo, en este segundo punto la naturaleza del fondo no permitió obtener la muestra con la draga. Por ello, se tomaron dos muestras de sedimentos de la zona portuaria, en la zona del punto A (A1 y A2).



*Figura VI.7. Puntos de toma de muestras de sedimentos en el río Mghogha*



*Figura VI.8. Toma de muestras de sedimento en la costa de Tánger (punto A)*

Todas las muestras de sedimentos, tras ser separadas del agua “in-situ”, fueron envasadas en bolsas de plástico con doble cierre hermético y conservadas en neveras de plástico con bloques de hielo hasta su llegada al laboratorio. Una vez allí, se guardaron en el congelador a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su pretratamiento y su posterior análisis.

#### VI.4.1.2. Toma de muestras de agua

Se estudió la zona de la desembocadura del río Mghogha a lo largo de la costa, con objeto de evaluar la influencia de los vertidos realizados en la zona industrial sobre la calidad de estas aguas costeras (Marzo, 2006). Se tomaron 8 muestras de agua en estaciones equidistantes de la desembocadura, repartidos a izquierda y derecha de la misma, así como en la propia desembocadura (A, B, C, D, E, F, G y H) (**Figura VI.6**).

Las muestras de agua de los puntos cercanos a la orilla se tomaron mediante un tubo de teflón (*tubo 6429-25 de Cole-Parmer Instrument Co. Illinois U.S.A*) acoplado a una bomba peristáltica (*Masterflex 7521-00, cabezal 07518-10*) siguiendo el protocolo “manos sucias/ manos limpias” para el cual se requirió la colaboración de tres personas, una de ellas sostenía una pértiga telescópica (**Figura VI.9**) de 4 m a la que se había sujetado el tubo de teflón y su cometido era mantener el extremo de entrada de agua en las aguas superficiales, las otras dos personas fueron las encargadas de realizar la toma de muestra propiamente dicha. La primera de ellas, “manos sucias”, debía sostener el extremo de salida del agua y facilitar el material que iba a ser utilizado en cada momento, así como realizar las operaciones de encendido y apagado de la bomba peristáltica empleada para succionar el agua. La otra persona, “manos limpias”, debía mantener el mínimo contacto con todo el material y sólo tomaba los recipientes en los que se iba a recoger la muestra utilizando guantes de plástico en todo momento (**Figura VI.10**). En cada punto de muestreo, se enjuagó todo el sistema de bombeo durante unos minutos con el agua antes de tomar la muestra definitiva. Las muestras destinadas al análisis de metales disueltos fueron filtradas en continuo con este sistema de bombeo.



*Figura VI.9. Empleo del sistema de pértiga para la toma de muestra (Punto H)*



*Figura VI.10. Sistema "limpio" de muestreo*

La toma de muestras de agua en la costa a una cierta distancia de la playa se realizó en barco siguiendo una ruta paralela a la orilla (Noviembre, 2008). Se tomaron 5 puntos de la costa (I, J, K, L y M) y un sexto punto correspondiente a la desembocadura del río Mghogha estudiado en el muestreo anterior (G) (**Figura VI.6**), con objeto de evaluar la carga contaminante que llega a la costa.

Esta vez las muestras de agua se tomaron con ayuda de una botella de teflón tipo Nansen de 2 L de capacidad limpiada previamente en el laboratorio, que permitía tomar muestras aproximadamente a 1 m de profundidad. En cada punto de muestreo, la botella se enjuagó cuatro veces con el agua antes de tomar la muestra definitiva de la misma siguiendo los protocolos de limpieza que requiere el análisis de trazas metálicas en aguas. En la misma embarcación se procedió al filtrado de las aguas “in-situ” (**Figura VI.11**). Cabe señalar que las condiciones meteorológicas de este muestreo no fueron muy favorables, con vientos racheados y leves precipitaciones.

En ambos muestreos se tomaron dos tipos diferentes de muestras: agua sin filtrar para evaluar el contenido metálico total y agua filtrada para la determinación del contenido metálico disuelto. Esta diferenciación se realiza debido a que la biodisponibilidad metálica es diferente en ambos casos, siendo la fracción disuelta la que suele presentar mayor biodisponibilidad en comparación con la fracción particulada. Así, se tomaron de cada punto las siguientes muestras:

- 500 mL de agua sin filtrar que se acidificaron con 1 mL de HNO<sub>3</sub> (Merck, calidad Suprapur) al llegar al laboratorio y se dejaron a temperatura ambiente unas dos semanas antes de ser congeladas, para que el ácido pudiera lixiviar los metales que podían haberse adsorbido en las paredes del recipiente de plástico, y se conservaron a -20 °C hasta su análisis. Para el análisis de Fe se acidificaron las muestras de agua mediante adición de 2 mL/L de HCl (Merck, calidad Suprapur).

- 500 mL de agua filtrada “in-situ” a través de cartuchos de filtración con filtros de membrana de 0,45 micras de tamaño de poro (Whatman groundwater filter capsule, 0,45 µm 29705-92, Cole-Parmer Instrument Co. Illinois U.S.A.), conectados en línea con la bomba peristáltica y el recipiente recolector (**Figura VI.11**), y almacenada en botes de teflón, a la que se trató de igual manera que la anterior, adicionando una concentración de 2 mL/L de HNO<sub>3</sub> (Merck, calidad Suprapur) para el análisis de los metales Zn, Cd, Pb, Cu, Ni, Co y Hg, y 2 mL/L de HCl (Merck, calidad Suprapur) para el análisis de Fe. Posteriormente se conservaron a -20 °C hasta su análisis.

- 100 mL de agua sin filtrar para realizar las medidas de los parámetros físico-químicos “in-situ”.
- 100 mL de agua sin filtrar para realizar las medidas de carbono orgánico total (COT).

El agua se depositó en las botellas de toma de muestra que se cerraron y se guardaron en bolsas de plástico de cierre hermético. Todas las muestras tomadas fueron refrigeradas en neveras de plástico a temperatura inferior a 4 °C con bloques de hielo y transportadas al laboratorio en idénticas condiciones.



*Figura VI.11. Filtración de las muestras de agua y medidas de parámetros “in-situ” en la costa de Tánger*

#### VI.4.1.3. Protocolo de limpieza del material

Con objeto de evitar la contaminación de las muestras, el material y los recipientes de toma de muestra se sometieron al protocolo de ultralimpieza [Allen, 2000] que se describe a continuación:

**- Botes de polietileno de baja densidad para el análisis de los metales**

1. Se enjuagan con agua desionizada (Milli-Q).
2. Se llenan con ácido clorhídrico 3 mol/L y se tapan.
3. Se colocan en el interior de un depósito, en el que previamente se han puesto cinco bolsas de plástico opaco nuevas.
4. Una vez dentro del depósito, éste se llena con ácido clorhídrico 0,1 mol/L. Se cierra cada una de las bolsas y se tapa el depósito.
5. Se precinta el depósito con cinta de embalar para evitar en lo posible la salida de vapores procedentes del ácido. Se anota la fecha, ya que deben permanecer así por un tiempo mínimo de seis semanas.
6. Antes de la toma de muestra se quita el precinto y se abren las bolsas de plástico. Mediante la colaboración de dos personas se enjuagan los botes con agua Milli-Q y se guardan en dos bolsas de plástico de autocierre, una dentro de otra. Se necesita la colaboración de dos personas ya que una solamente manipula los botes sacándolos del depósito con ácido clorhídrico 0,1 mol/L e introduciéndolos en las bolsas (*mano limpia*), mientras que la otra persona manipula las bolsas y el agua Milli-Q (*mano sucia*); ambas personas deben emplear doble juego de guantes de plástico.

**- Tubos de teflón para la toma de muestras**

1. Mediante bomba peristáltica se llenan los tubos con HCl 3 mol/L, cerrándolos uniendo los dos extremos del tubo mediante un trozo de tubo flexible.
2. Se guardan dentro de bolsas de plástico nuevas hasta su uso, donde se lavan varias veces con el agua que se pretende muestrear antes de tomar la muestra definitiva.

**- Cartuchos de filtración**

1. Se llenan los cartuchos con metanol mediante la bomba peristáltica y se mantienen con el metanol durante 24 horas.

2. Se vacía el metanol de los filtros y se hace pasar agua Milli-Q para limpiar los restos de metanol que hayan podido quedar en el interior de los cartuchos. Se llenan con agua Milli-Q y se mantienen así durante otras 24 horas.

3. Se llenan de ácido clorhídrico 0,5 mol/L y se dejan así durante una semana.

4. Se vacían y se enjuagan con agua Milli-Q para eliminar los restos de ácido. Hay que asegurarse que no queda nada de ácido clorhídrico en el interior de los cartuchos. Se dejan llenos de agua Milli-Q durante 24 horas.

5. Se vacían y se llenan con ácido nítrico 0,5 mol/L. Los cartuchos se mantienen llenos de este ácido dentro de bolsas con cierre hermético que a su vez se guardan en el interior de una doble bolsa opaca hasta la toma de muestras. Antes de utilizarlos, estos cartuchos se lavan "in-situ" varias veces con el agua antes de tomar la muestra definitiva de la misma.

Los reactivos utilizados en esta limpieza pueden ser reutilizados unas cinco veces sin que se perjudique la calidad de limpieza del material.

#### **- Material de plástico**

Entre las condiciones de extrema limpieza hay que destacar el lavado al que fue sometido todo el material empleado en el laboratorio (matraces, pipetas, puntas de micropipetas, portafiltros, embudos, probetas, etc...). A continuación se detallan los procedimientos y secuencias de lavado seguidos:

1. El material se lava en primer lugar con agua y jabón y se enjuaga con agua corriente y luego con agua Milli-RO.

2. Se deja en un baño de clorhídrico 3 mol/L durante unos cuatro o cinco días.

3. Se enjuaga varias veces con agua Milli-Q y se deja en un baño cerrado de ácido nítrico 3 mol/L, no más de cuatro días para evitar que tomen un color amarillo y se deterioren. Este ácido se prepara utilizando agua desionizada (Milli-Q) como disolvente y se renueva, al menos, una vez al mes en función de su uso.



4. Se enjuaga con agua Milli-Q y se deja secar en el interior de una campana de flujo laminar.

5. Una vez seco se guarda en bolsas de plástico herméticas hasta su utilización.

#### **VI.4.2. Metodología de análisis de las muestras de sedimentos**

##### **VI.4.2.1. Pretratamiento de las muestras**

En el pretratamiento de las muestras de sedimentos antes de ser analizadas, deben considerarse dos aspectos relacionados entre sí:

##### **a) Secado**

Las condiciones de temperatura y tiempo de secado son parámetros importantes que se deben controlar en el pretratamiento de las muestras, especialmente la temperatura. Dependerá de los elementos metálicos que se pretenden analizar. Hay diversidad de criterios a la hora de elegir este parámetro, se usan valores de temperatura que oscilan desde la temperatura ambiente hasta 110 °C. Si se desea analizar elementos como el mercurio, se emplean temperaturas más bajas que no sobrepasen los 60 °C dada su volatilidad y la de sus compuestos. No obstante parece que no existen pérdidas para elementos no volátiles (antimonio, cadmio, cobre, cromo, níquel, plomo, cinc,...) a 105 °C durante 24 horas [Sakata y Shimoda, 1982; Montiel y Welte, 1984; Calmano y col., 1993; El Falaki y col., 1994; Tkalin y col., 1996; Bilos y col., 1998; Winger y Lasier, 1998; OSPAR Agreement, 2002-2016].

Se ha demostrado que los sedimentos secados al aire son homogéneos, lo que facilita la toma de submuestras representativas, y que muchos metales pesados y otros elementos traza son estables y se conservan invariables durante meses e incluso durante años [Ure, 1994]. No obstante, en las recomendaciones de OSPAR se indica que el secado al aire puede provocar contaminación de la muestra [OSPAR Agreement, 2002-2016].

## b) Tamizado

Las determinaciones del contenido de los metales pesados no se realizan en los sedimentos totales, sino en su fracción de tamaño inferior a 63  $\mu\text{m}$ , que incluye arcillas (<2  $\mu\text{m}$ ) y limos (2-63  $\mu\text{m}$ ). En esta fracción se concentran la práctica totalidad de la materia orgánica y de los metales pesados según los estudios de diversos autores [Förstner y Salomons, 1980; Förstner y Wittmann, 1981; Sakai y col., 1986]. Los sedimentos se pasan a través de un tamiz de nylon de 63  $\mu\text{m}$  de paso de luz de malla para separar la fracción más fina y al mismo tiempo se consigue la homogeneización del material a estudiar [Förstner y Salomons, 1980; Salomons y Förstner, 1984; Horowitz y Elrick, 1987; Calmano y Ahlf, 1996; Monhen, 1997; Vesk y Allaway, 1997; Uriarte y col., 1998]. El tamizado puede realizarse de dos formas: o con la muestra húmeda o después de su secado.

### VI.4.2.2. Granulometría

Uno de los factores que más influyen en la composición geoquímica de los sedimentos es la granulometría de las muestras. En general a medida que aumenta el tamaño de grano disminuyen las concentraciones de metales [Drifmeyer y Odum, 1975; De Groot y col., 1982; Horowitz y Elrick, 1987].

Los sedimentos están formados por un conjunto de materiales de tamaños muy variables, cuya proporción da la textura del mismo. En la **Tabla VI.1** se muestra la clasificación de sedimentos desde el punto de vista granulométrico según diferentes autores. El objetivo de la caracterización granulométrica es conocer la distribución de tamaños de grano que existen, los cuales pueden ser de mayor interés como aporte de metales pesados. Se ha demostrado que los metales pesados tienden a acumularse en la fracción fina del sedimento constituida por cieno y arcilla [Förstner y Wittman, 1979; Salomons y Förstner, 1984; Araújo y col., 1988; Páez-Osuna y Osuna-Lopez, 1987; Sakai y col., 1986]. Loring [Loring, 1988] propuso utilizar esta fracción (< 63  $\mu\text{m}$ ) para el análisis de elementos metálicos reafirmando lo planteado por Salomons [Salomons

y Förstner, 1984] sobre las ventajas de emplear esta fracción, entre las que se encuentran:

- Los metales traza se encuentran presentes fundamentalmente en las partículas de arcilla y limo o cieno.
- Esta fracción es casi equivalente al material en suspensión que es el modo de transporte más importante de sedimentos.
- El tamizado no altera las concentraciones de metales, especialmente si se hace por vía húmeda con agua del área.
- Numerosos estudios han sido realizados con esta fracción lo que facilita la comparación de los resultados.

**Tabla VI.1.** Clasificación granulométrica de los sedimentos (en  $\mu\text{m}$ )

Arcilla	Cieno-Limo	Arena	Grava	Referencia
<4	2-62	62-125 (muy fina) 125-250 (fina) 250-2000 (media /gruesa)	>2000	<b>Buchanan y Kain, 1971</b>
<2	2-50 2-63	50-2000 63-2000	>2000	<b>Bellair y Pomerol, 1977</b>
<2	2-63	>63		<b>Müller y col., 1980</b>
<2	2-60	>60		<b>Helios-Rybicka, 1983</b>
<2,8	2,8-44	44-1400	>1400	<b>Amore y col., 1983</b>

En este trabajo y para la realización del análisis granulométrico, todas las muestras de sedimentos se secaron en la estufa P-SELECTA a una temperatura entre 40 y 60 °C durante 24 horas, ya que según diversos autores las pérdidas de los elementos químicos más volátiles como son el arsénico y el mercurio son mínimas en esas condiciones [Pillary y col., 1971; Iskandar y col., 1972; Aggett y Giennys, 1985; Campos y col., 1990; Jarvis y col., 1992]. Una vez secas, se tomaron unos 50 g de la muestra y se dividieron en tres fracciones según el tamaño de partícula (Grava, arena y

limo+arcilla) (**Figura VI.12**) utilizando dos tamices CISA: uno con bastidor de acero inoxidable y otro con malla de nylon, cuya abertura nominal es de 2 mm y 63  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Se tomaron por separado los pesos de material retenido en cada uno de ellos y que, en su suma, deben corresponder al peso total de la muestra estudiada, y se almacenaron hasta su posterior análisis.



*Figura VI.12. Fraccionamiento de la muestra en grava, arena y limo+arcilla*

#### **VI.4.2.3. Caracterización mineralógica**

En este trabajo se ha establecido la naturaleza mineralógica de las muestras de sedimentos a través de su estudio por difracción de Rayos X. El equipo utilizado fue un difractómetro de Rayos X, modelo Philips PW 1830 (condiciones de trabajo: 40 Kw, 40 mA). Para este estudio se empleó la fracción arcillosa de las muestras ya que muchos minerales de arcilla tienen generalmente una forma plana y pueden ser fácilmente orientadas. Esta fracción fue pulverizada en molino de bola para su homogeneización y prensada en forma de pastilla para su análisis por difracción de Rayos X.

#### **VI.4.2.4. Materia orgánica en los sedimentos**

La materia orgánica de un sedimento es el conjunto de materiales más o menos alterados químicamente, denominados sustancias húmicas [Craig, 1986; Calmano y

col., 1993; Förstner, 1993; Grousset y col., 1999]. Estas sustancias tienen una gran influencia en las propiedades químicas y físicas de los sedimentos, tales como capacidad de retención de agua, capacidad de intercambio iónico, etc. Una de las características fundamentales de las sustancias húmicas es su habilidad de interactuar con la arcilla, iones metálicos, óxidos e hidróxidos, para formar asociaciones solubles o insolubles, destacando la formación de complejos metálicos [Stevenson, 1982].

El contenido de la materia orgánica en los sedimentos se determina, generalmente, por la pérdida de peso que se produce al calcinar la muestra entre 400 y 600 °C [Dean, 1974; Peiro, 1988] utilizando la fracción de tamaño de partículas <2 mm. Así, y para la determinación de este parámetro se tomaron por duplicado 0,5 g de cada una de las muestras convenientemente homogeneizadas para evitar agregaciones y heterogeneidad de este tamaño de partícula, se colocaron en crisoles de porcelana previamente tarados y se calcinaron en un horno mufla a 550 °C durante 30 minutos. Se dejaron enfriar los crisoles dentro de un desecador, y una vez a temperatura ambiente, se sacaron y se pesaron volviendo a repetir el proceso de la calcinación hasta peso constante. La diferencia entre peso inicial y calcinado representa el contenido de la materia orgánica de las muestras estudiadas. Este parámetro suele oscilar entre un 0,5% para muestras con poco contenido en carbono orgánico y un 12% para muestras con una carga orgánica considerable. Es importante evaluar este parámetro ya que la retención de metales en los sedimentos suele producirse a través de la formación de derivados orgánicos.

#### **VI.4.2.5. Análisis de metales pesados**

Como se ha comentado anteriormente, para la determinación de los metales pesados en las muestras de sedimentos, se utiliza la fracción más fina de los mismos (<63 µm). Así, se evaluaron metales como Zn, Pb, Cd, Cu, Fe, Hg, Ni, Co, Cr y As debido a su importancia tanto como metales tóxicos, metales esenciales o metales frecuentemente encontrados en muestras medioambientales. Los protocolos de extracción empleados fueron validados utilizando muestras de referencias. Para la determinación del contenido total de los metales se analizaron dos muestras de

sedimentos de referencia: uno de estuario 1646a y otro marino GBW 07313, mientras que la extracción secuencial BCR se validó analizando una muestra de sedimento de aguas naturales BCR-701 como muestra de referencia (ver **Anexo 8**).

Dependiendo del tipo y de la concentración del metal en los extractos de las muestras de sedimentos, se utilizaron varias técnicas de análisis: espectroscopía de absorción atómica con llama (FAAS) (equipo Solaar M-Series Unicam Thermo Elemental, Reino Unido) para el análisis de Fe dadas las concentraciones altas que presentó este metal en las muestras estudiadas y con generación de vapor frío (CVAAS) para la determinación de Hg (equipo Unicam 939 AA Spectrometer, con accesorio Unicam VP90). El resto de los metales se determinaron mediante la espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) (equipo Iris Intrepid Thermo Elemental) utilizando las condiciones instrumentales de mayor sensibilidad.

A continuación se describen los protocolos analíticos empleados en este trabajo para la extracción y el análisis del contenido metálico total, así como la especiación metálica en las muestras estudiadas.

#### **a) Contenido metálico total**

Para la determinación del contenido metálico total de las muestras de sedimentos, se aplicó un procedimiento de digestión ácida empleando radiación infrarroja. Para ello, se pesaron 0,2 g de fracción fina (<63  $\mu\text{m}$ ) del sedimento y se colocaron en una placa de teflón donde se añadieron unos 5 mL de HF al 48% para digerir el sedimento. Se dejó evaporar hasta sequedad aplicando radiación infrarroja. Se volvió a añadir otros 5 mL de HF al 48% y se volvió a llevar a sequedad de la misma manera. Se repitió el mismo procedimiento utilizando 5 mL de ácido nítrico al 65%, dos veces sucesivas. La extracción del residuo seco y digerido se llevó a cabo mediante agitación magnética y calefacción a  $85 \pm 2$  °C durante una hora después de adicionarle 20 mL de ácido clorhídrico 3,86 mol/L. Se dejó enfriar la disolución obtenida hasta temperatura ambiente y se filtró con papel de filtro Albet 1238 lavando varias veces el

filtro con agua desionizada (Milli-Q). Se enrasó el filtrado obtenido hasta 50 mL con agua Milli-Q y se guardó en recipientes de polietileno a 4 °C hasta su análisis.

Por otra parte, y para comprobar que la digestión ácida permitía alcanzar una digestión completa de las muestras, se decidió aplicar a las mismas la digestión asistida por microondas. Para ello, se colocaron 0,1 g de la fracción muy fina en vasos de teflón a los que se añadieron 0,6 mL de HF al 48%, 2 mL de ácido nítrico y 0,8 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, todos de calidad Suprapur, y se dejaron 12 horas en contacto con la muestra. Transcurrido el tiempo de extracción, se calentaron las muestras en microondas durante 20 min a una temperatura de 180 °C. Una vez frías, se añadieron unos 5 mL de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> al 5% y se calentaron de nuevo a 100 °C durante 5 min. Después de alcanzar la temperatura ambiente, se enrasó el contenido de los vasos con agua desionizada (Milli-Q) utilizando matraces de teflón de 50 mL de capacidad. Las muestras obtenidas se almacenaron en recipientes de polietileno y se refrigeraron a 4 °C hasta su posterior análisis.

#### **b) Concentración metálica en la fase lixiviable**

La fase lixiviable de un sedimento incluye los metales débilmente retenidos, debido a interacciones electrostáticas y especies que pueden ser liberadas por procesos de intercambio iónico. Los reactivos que se suelen utilizar para obtener esta fracción son electrolitos en disolución acuosa, tales como sales de ácidos fuertes y bases o sales de ácidos débiles a pH 7. En la bibliografía se recoge el uso de extractantes como MgCl<sub>2</sub>, acetato amónico, BaCl<sub>2</sub>, Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, etc... [Gleyzes y col., 2002]. En este trabajo se ha propuesto el empleo de acetato amónico a pH 7, descrito en la bibliografía como uno de los más adecuados. El empleo de cationes divalentes puede a priori parecer más efectivo que el empleo de cationes monovalentes, pero se ha demostrado que el uso del ión NH<sub>4</sub><sup>+</sup> facilita el desplazamiento de los iones que se encuentran en posiciones de intercambio difíciles (posiciones de intercambio de vermiculita). Los complejos metálicos formados con los iones acetato son ligeramente más estables que por ejemplo los formados como cloro complejos. Todo esto favorece el intercambio y reduce los procesos de readsorción o precipitación de los metales

extraídos. Además, debido a la capacidad reguladora de pH de este extractante, las variaciones en este parámetro durante el proceso de extracción son reducidas. No obstante, en algunos casos puede extraerse el contenido metálico de la fase sólida asociada a la fracción de carbonatos.

El procedimiento de la extracción consistió en colocar en un erlenmeyer una cantidad de 5 g de la fracción arcillo-limosa (<63  $\mu\text{m}$ ), a la que se adicionaron 33 mL de acetato amónico 1 mol/L y se agitó con un agitador de desplazamiento horizontal modelo Promax 2020 (Heidolph, Alemania), durante 7 minutos. El líquido sobrenadante se decantó y se recogió en un matraz de 100 mL. Se repitió la extracción y la decantación dos veces más, teniendo en cuenta que durante las agitaciones era preciso volver a suspender el sólido. Finalmente se enrasó la disolución de lixiviados con acetato amónico 1 mol/L y se almacenó en frío hasta su análisis.

### c) Análisis de la especiación metálica

Para la especiación metálica de los sedimentos, se sometieron las muestras al proceso de extracción secuencial propuesto por el "Bureau Community of Reference" BCR (Programa de Medición y Ensayo de la Comisión Europea) [Davidson y col., 1999; Ure y col., 1993] para el análisis de metales traza en sedimentos y que fue posteriormente mejorado por la Comisión Europea [Quevauviller y col., 1997; López-Sánchez y col., 1998; Rauret y col., 1999; Sahuquillo y col., 1999], con la finalidad de eliminar posibles fuentes de falta de reproducibilidad. Por ello, se tuvieron en cuenta todas estas sugerencias de modificación del protocolo original en el análisis de las muestras de sedimento estudiadas en este trabajo.

La extracción secuencial se basa en un proceso en tres etapas en las cuales se emplean diversos agentes extractantes: ácido acético en la primera fase, cloruro de hidroxilamonio en la segunda y acetato amónico en la tercera. Por último, el residuo obtenido es tratado mediante digestión ácida para evaluar el contenido metálico de la fase residual (**Figura VI.13**).



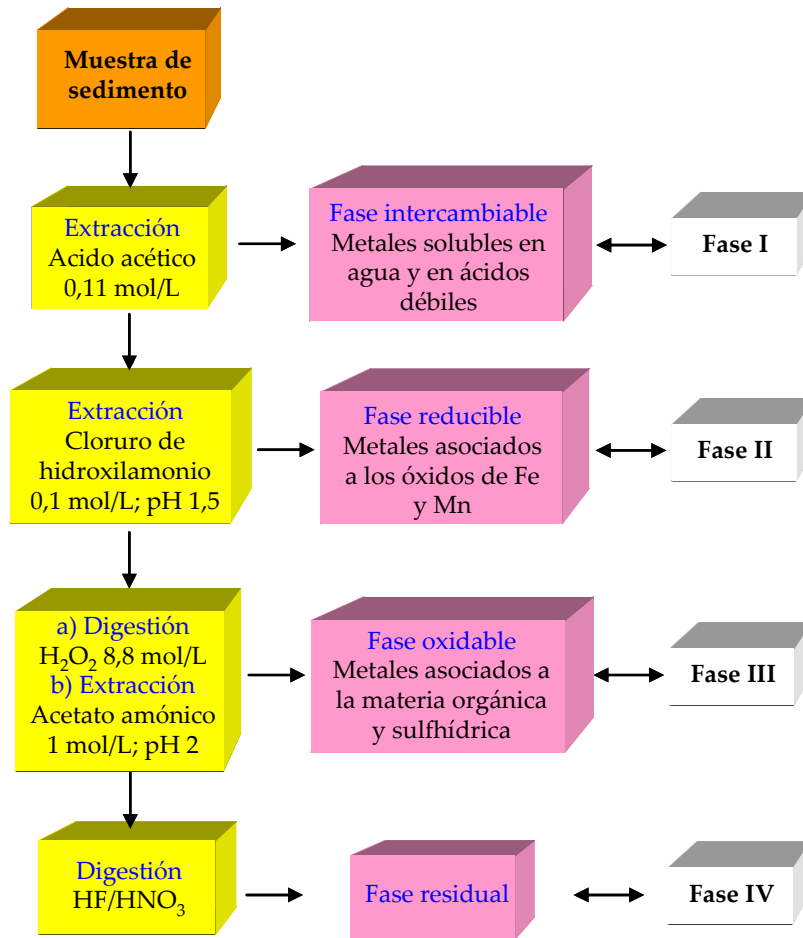


Figura VI.13. Esquema de extracción secuencial “BCR” para el análisis de metales en sedimentos

De esta manera, y aplicando las etapas del protocolo de extracción secuencial BCR a las muestras de sedimento, se obtuvieron cuatro fases líquidas:

- **Fase I o Fase intercambiable:** incluye los metales solubles en aguas y en ácidos débiles, intercambiables o enlazados a carbonatos, que pueden pasar fácilmente a la columna de agua en determinadas condiciones, por ejemplo cuando el pH disminuye. Es la fracción que contiene los enlaces metal-sedimento más lábiles

y, por tanto, la más fácilmente disponible desde el punto de vista medioambiental.

- **Fase II o Fase reducible:** contiene los metales que son fácilmente reducibles, normalmente asociados a los óxidos de hierro y manganeso. Estos metales pueden ser liberados a la columna de agua si el sedimento cambia de un estado oxigenado a uno anóxico, hecho que podría ser causado por la actividad de microorganismos presentes en el sedimento.
- **Fase III o Fase oxidable:** incluye aquellos metales asociados a la materia orgánica y sulfhídrica que son fácilmente oxidables. Estos metales pueden pasar al agua bajo condiciones oxidantes. Dichas condiciones pueden ocurrir cuando el sedimento es resuspendido (bien mediante dragados, corrientes, inundaciones o mareas) y las partículas entran en contacto con el agua bien oxigenada.
- **Fase IV o Fase residual:** se obtiene mediante digestión ácida del residuo de la fase III.

A continuación se describe detalladamente la metodología empleada en cada una de las fases del protocolo de extracción secuencial BCR aplicado en este trabajo.

✦ **Fase I: Fase intercambiable (metales intercambiables y solubles en agua y en ácidos débiles)**

Se pesó 1 g de fracción fina de sedimento seco (<63  $\mu\text{m}$ ) en un tubo de centrífuga de 250 mL y se adicionaron 40 mL de ácido acético 0,11 mol/L. Se realizó la extracción agitando mecánicamente durante 16 horas, a temperatura ambiente y a una velocidad de 150 traslaciones por minuto mediante un agitador mecánico (Promax 2020, (Heidolph, Alemania)). El contenido del bote se centrifugó durante 30 minutos a 4500 rpm y 4 °C para separar el extracto del residuo sólido. Con ayuda de una micropipeta se separó el líquido sobrenadante y se guardó en botes de poliestireno. El extracto se analizó inmediatamente o se conservó a 4 °C hasta su posterior análisis. El residuo se lavó con 20 mL de agua Milli-Q agitando durante 15 minutos a 150 traslaciones por

minuto y se centrifugó a la misma velocidad y durante el mismo tiempo empleados en la etapa de extracción. Se desechó el agua de lavado sobrenadante y se pasó a la siguiente fase.

**✦ Fase II: Fase reducible (metales fácilmente reducibles y asociados a óxidos de Fe y Mn)**

Se continuó la extracción añadiendo 40 mL de cloruro de hidroxilamonio 0,5 mol/L, recién preparado y estabilizado a pH 1,5 con ácido nítrico al residuo de la fase I. Se agitó la muestra mecánicamente durante 16 horas a 150 traslaciones por minuto inmediatamente después de añadir el extractante y de romper el residuo por vibración mediante ultrasonidos. Una vez finalizada la extracción y siguiendo el mismo procedimiento descrito para la fase I, se separó el extracto del residuo y se lavó este último preparándolo para la extracción de la fase III de la muestra de sedimento.

**✦ Fase III: Fase oxidable (metales fácilmente oxidables y asociados a materia orgánica y sulfhídrica)**

En esta fase se adicionó al residuo del paso II colocado en el bote de centrifuga, 10 mL de peróxido de oxígeno 8,8 mol/L en pequeñas cantidades para evitar pérdidas debidas a la reacción violenta. Después de romper el residuo por vibración, se tapó el bote ligeramente con su propio tapón sin enroscarlo y se dejó a temperatura ambiente durante 1 hora con una agitación manual ocasional. Se continuó la digestión durante 1 hora más a una temperatura de 85 °C en un baño de agua (Precistern de 20 L 6000141/6000388), agitando manualmente de forma ocasional durante la primera media hora y luego se destapó el bote y se evaporó el líquido por calentamiento adicional sin agitación hasta reducir su volumen a menos de 3 mL. A continuación, se añadieron otros 10 mL de peróxido de hidrógeno 8,8 mol/L y se dejó a temperatura ambiente durante 1 hora con agitación ocasional, evaporando durante 1 hora más a 85 °C hasta reducción del volumen del líquido a 1 mL sin llevarlo a sequedad. Una vez frío, se añadieron al residuo unos 50 mL de acetato amónico 1 mol/L (pH 2), se resuspendió mediante agitación manual o por vibración mediante ultrasonidos y se

dejó en agitación durante 16 horas. Al finalizar la extracción y después de centrifugar el contenido del bote, durante 30 min a 4000 rpm y 4 °C, se separó y guardó la fase líquida en los botes de poliestireno a 4 °C hasta su análisis. Se lavó el residuo siguiendo el mismo procedimiento anteriormente descrito, se colocó en una placa de teflón y se secó en estufa a 105 °C durante 24 horas, preparándolo para la extracción de la fase IV de la muestra del sedimento.

#### ✦ Fase IV: Fase residual

Para la obtención de esta fase se pesó el residuo procedente de la fase III, y se aplicó el mismo procedimiento de digestión ácida con radiación infrarroja utilizado en el análisis del contenido metálico total descrito anteriormente. En este caso, la disolución del filtrado se enrasó en un matraz de 25 mL, debido al menor contenido metálico del residuo.

### VI.4.3. Metodología de análisis de las muestras de agua

#### VI.4.3.1. Parámetros físico-químicos

Se han considerado una serie de parámetros físico-químicos que sirven para caracterizar y modelizar los sistemas costeros, sobre todo en aquellos lugares en los que entran en contacto corrientes de agua dulce con el agua de mar, como es el caso de los sistemas de estuario. La trazabilidad del agua procedente de los cursos fluviales en las áreas de mezcla con el agua de mar puede seguirse con estas variables geoquímicas. Las aguas dulces presentan valores de pH y salinidad, sobre todo, inferiores a los del agua de mar. Por otro lado, los metales pueden interaccionar con la materia particulada, así como con la materia orgánica disuelta (formación de complejos), por lo que es importante tener en cuenta la presencia de sólidos en suspensión y carbono orgánico disuelto.

El **pH** es un parámetro muy importante para definir la movilidad de los metales que, en general, se encuentran disueltos a pH extremadamente ácido, mientras que a pH muy básico pueden volver a movilizarse bajo la forma de aniones solubles o

formando hidroxicomplejos. El pH es un factor a tener en cuenta cuando se pretende determinar la especiación química y la solubilidad de diferentes sustancias orgánicas e inorgánicas en aguas naturales, siendo además un factor abiótico que regula procesos biológicos mediados por enzimas. La subida del pH de las aguas produce la precipitación de la mayoría de los metales pesados posibilitando su retención en los sedimentos. Los valores de pH en las aguas naturales varían habitualmente entre 7,2 y 7,6. En las aguas muy calcáreas puede alcanzar valores algo mayores, sin embargo en las aguas procedentes de terrenos pobres en silicatos o calizas, el pH tiene un valor próximo a 7. El agua de mar es ligeramente alcalina, con un valor de pH entre 7,5 y 8,4 el cual depende de la temperatura; si ésta aumenta, el pH disminuye y tiende a la acidez. Para la vida acuática es recomendable un pH entre 6 y 7,2.

La **salinidad** de las aguas naturales es un parámetro considerado significativo, ya que la cantidad de sales presentes en disolución afecta a determinados procesos físicos importantes, así como a otras propiedades del agua, tales como: densidad, viscosidad, tensión superficial, presión osmótica, punto de fusión y ebullición y solubilidad de gases. Este parámetro indica el grado de mineralización de las aguas naturales y se suele utilizar para evaluar la influencia de las aguas costeras en las aguas continentales próximas al litoral.

La **temperatura** es un factor igual de importante que el pH y la salinidad, tiene una relación directa con la densidad y la viscosidad del agua, estas últimas decrecen con el incremento de la temperatura, así como la presión de vapor de saturación en superficie cuyo valor aumenta con la temperatura, y la solubilidad de los gases (la solubilidad del oxígeno disminuye al aumentar la temperatura). En general un aumento de la temperatura acelera la velocidad de las reacciones químicas y bioquímicas y suele favorecer los procesos de redisolución y resuspensión de los sedimentos, además de acelerar la velocidad de las reacciones químicas y bioquímicas.

Los niveles de **oxígeno disuelto** en aguas naturales y residuales dependen de la actividad física, química y bioquímica del sistema de aguas. El análisis de este parámetro es una prueba clave de la contaminación en las muestras. Las aguas corrientes superficiales no contaminadas suelen estar bien oxigenadas ( $\approx 7-8$  mg/L).

Normalmente, un nivel bajo de oxígeno disuelto indica contaminación con materia orgánica, aguas sépticas, mala calidad del agua e incapacidad para mantener determinadas formas de vida.

El **carbono orgánico en las aguas** puede ser utilizado como parámetro de trazabilidad de fuentes y sumideros de compuestos de naturaleza orgánica e indicativos también del grado de actividad biológica microscópica en el agua. Su determinación es de interés en relación con la formación de complejos metálicos con los metales presentes en el agua modificando su disponibilidad. Valores normales para este parámetro están alrededor de 0,5 y 3 mg/L para las aguas de distribución y 1 a 5 mg/L en aguas de estuario [Morris, 1984].

En este trabajo, los parámetros físico-químicos de las muestras de agua: pH, salinidad, temperatura y oxígeno disuelto fueron medidos "in-situ" en cada uno de los puntos muestreados con ayuda de una sonda multiparamétrica (Sens-ION 156, Hach Co., Estados Unidos) previamente calibrada en el laboratorio.

El contenido de carbono orgánico total (COT) se calculó por diferencia entre el contenido de carbono total (CT) e inorgánico total (CIT) obtenidos utilizando un analizador de carbono (Analytik jena© multi N/C 3100, Alemania).

$$\text{COT} = \text{CT} - \text{CIT}$$

El CT se mide mediante calcinación de la muestra a alta temperatura (800 °C). El carbono procedente de la muestra, tanto orgánico como inorgánico, se oxida a CO<sub>2</sub> en presencia de un catalizador de platino y posteriormente se transporta a través de un flujo continuo de O<sub>2</sub> a un detector de infrarrojos donde se determina a partir de un calibrado realizado con una mezcla de carbonato/bicarbonato.

El CIT se determina sometiendo la muestra a unas condiciones determinadas de acidez (ácido ortofosfórico, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 10%) y temperatura (10 °C) en presencia de O<sub>2</sub>, de modo que, todo el carbono inorgánico es convertido en CO<sub>2</sub> el cual se mide con el mismo detector que el carbono total. En estas condiciones el carbono orgánico no es oxidado, y por tanto sólo se mide carbono inorgánico.

### VI.4.3.2. Pretratamiento de las muestras de agua

#### a) Digestión de las muestras de agua para el análisis del contenido metálico total

Con el fin de determinar el contenido total de los metales en las aguas muestreadas, se aplicó a las muestras de agua no filtrada el Método EPA 3015, consistente en la digestión asistida por microondas para muestras acuosas que contienen sólidos en suspensión. Para ello, se depositó en un vaso de digestión de teflón de 100 mL de capacidad, previamente lavado con una disolución 1:1 HCl/HNO<sub>3</sub> al 10%, un volumen de 45 mL de la muestra previamente descongelada, a la que se añadieron unos 5 mL de ácido nítrico de calidad Suprapur (Merck, Alemania). De la misma manera, se preparó en uno de los vasos de digestión, un blanco de preparación constituido por 45 mL de agua desionizada (Milli-Q) y 5 mL de ácido nítrico concentrado Suprapur. La concentración real de los metales en las aguas digeridas se calcula teniendo en cuenta el factor de dilución de la muestra por adición de ácido nítrico.

Se colocaron los vasos de teflón en las camisas para su cierre a presión y después en el carrusel del equipo de digestión por microondas (Ethos 1600 Microwave Heating (Milestone, Italia). El aparato de microondas se programó de acuerdo a las especificaciones del fabricante e instrucciones de uso del mismo. Se escogió una secuencia de calentamiento que le permitía a la muestra alcanzar 160±4 °C en 20 minutos, y luego le permitía alcanzar lentamente 165-170 °C durante los siguientes 10 minutos. Este programa se logró aplicando en la primera fase una potencia de 650 W y 400 W en la segunda. Después del proceso de digestión, la muestra se dejó enfriar durante una hora con el ventilador del equipo hasta alcanzar una temperatura inferior a 60 °C antes de abrir la camisa a presión. Una vez a temperatura ambiente, se pesaron los vasos de digestión, y si la masa registrada después de la digestión disminuía en más del 10% de la inicial, se desechaba el contenido del vaso correspondiente. Si después de haberse enfriado la muestra se observaba materia en suspensión entonces se procedía a filtrar, centrifugar, o dejar sedimentar en un recipiente limpio previo al análisis.

#### **b) Digestión de las muestras de agua para el análisis del contenido metálico disuelto**

Para la determinación del contenido metálico disuelto las muestras filtradas se digirieron por irradiación UV empleando un digestor Metrohm modelo 705 UV (Metrohm, Herisau, Suiza) con control de temperatura y refrigeración por agua. Para ello, se colocaron unos 15 mL de cada muestra de agua filtrada y acidificada (2 mL/L de HNO<sub>3</sub> Suprapur) en tubos de cuarzo y se les añadieron unos 50 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% de calidad Suprapur (Merck, Alemania). La digestión se mantuvo durante 2 a 3 horas dependiendo de la carga orgánica de las muestras que se deseaba digerir. Una vez a temperatura ambiente, se conservaron las muestras digeridas en recipientes de poliestireno de 50 mL de capacidad a 4 °C hasta su análisis.

#### **VI.4.3.3. Análisis de metales pesados en aguas**

En este trabajo se analizaron en las muestras de agua los contenidos totales y disueltos de los metales Zn, Cd, Cu, Pb, Fe, Ni, Co y Hg. El metal particulado se obtuvo por diferencia. Para estos análisis se utilizaron los siguientes equipos instrumentales:

- 757 VA Computrace Stand (Metrohm, Suiza), controlado mediante el software VA Computrace 2.0, con la interfase 5326 VA Computrace Interfase (Metrohm, Suiza) para el análisis de los metales Zn, Cd, Cu y Pb por voltamperometría de redisolución anódica de impulso diferencial (DP-ASV) y de Fe, Ni y Co por voltamperometría de redisolución catódica adsorptiva de impulso diferencial (DP-AdCSV).
- Absorción Atómica Solar M-series Spectrometer (AAS) acoplado al accesorio HG Accessory Unicam VP90 (Thermo Elemental, Reino Unido) para el análisis de Hg mediante la espectroscopía de absorción atómica por vapor frío (CVAAS).

#### **a) Análisis de Zn, Cd, Pb y Cu**

Las medidas de estos metales se realizaron por duplicado mediante voltamperometría de redisolución anódica de impulso diferencial (DP-ASV) aplicando el método descrito por *Metrohm* [VA Application Notes No. V-83] y la técnica de



adición estándar, permitiendo la determinación simultánea de estos cuatro metales. Los parámetros instrumentales empleados en esta técnica fueron:

- Tiempo de la etapa de purga inicial: 300 s
- Potencial al cual se realiza la deposición: -1,15 V
- Tiempo de la etapa de preconcentración: 120 s
- Velocidad de agitación durante la etapa de preconcentración: 2000 rpm
- Tamaño de la gota del electrodo HMDE: 7 u.a.
- Amplitud de impulso de potencial superpuesto: 0,05 V
- Tiempo de impulso: 0,1 V
- Incremento de potencial en la rampa (salto de potencial): 0,006 V
- Intervalo de tiempo para el salto de potencial: 0,1 s
- Tiempo de equilibrio: 10 s
- Velocidad del barrido: 0,06 V/s

Para el análisis de Zn, Cd, Pb y Cu por DPASV, fue necesario ajustar el pH de las muestras a un valor próximo a 4, por adición de la cantidad adecuada de NH<sub>3</sub> Suprapur, antes de añadir 0,5 mL de la disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico (HAc/NaAc) a pH 4,7.

#### **b) Análisis de Fe**

Para el análisis del hierro en las muestras de agua, se aplicó el método descrito por *Metrohm* para este metal [**VA Application Note No. V-125**] empleando la técnica voltamperométrica de redisolución catódica adsorptiva de impulso diferencial y realizando la adición estándar para la calibración.

Antes de realizar las medidas, se subió el pH de las muestras a un valor próximo a 7 por adición de la cantidad adecuada de NH<sub>3</sub> Suprapur, y después se ajustó al valor óptimo del método para el análisis de Fe mediante la disolución reguladora PIPES (ácido piperazina-1,4-bis(2-etanosulfónico)). El hierro en las muestras de agua fue analizado por duplicado utilizando 1-nitroso-2-naftol (1N2N) como agente

complejante del metal en cuestión. Para ello, se adicionaron a 20 mL de la muestra diluida: 0,4 mL de una disolución 0,002 mol/L del reactivo quelatante (1N2N) disuelto en etanol y 0,8 mL de la reguladora PIPES 0,5 mol/L para regular el pH a 6,9. Las condiciones instrumentales utilizadas en este análisis fueron:

- Tiempo de la etapa de purga inicial: 300 s
- Potencial al cual se realiza la deposición: -0,15 V
- Tiempo de la etapa de preconcentración: 45 s
- Velocidad de agitación durante la etapa de preconcentración: 2000 rpm
- Tamaño de la gota del electrodo HMDE: 7 u.a.
- Amplitud de impulso de potencial superpuesto: 0,05 V
- Tiempo de impulso: 0,04 V
- Incremento de potencial en la rampa (salto de potencial): 0,004 V
- Intervalo de tiempo para el salto de potencial: 0,5 s
- Tiempo de equilibrio: 5 s
- Velocidad del barrido: 0,008 V/s

### c) Análisis de Ni y Co

Las medidas de Ni y Co se realizaron por voltamperometría de redisolución catódica adsorbtiva (DP-AdSV) aplicando el método publicado por Metrohm para la determinación simultánea de estos dos metales [VA Application Note No. V-69]. El procedimiento empleado para el análisis de Ni y Co requiere el uso de la disolución cloruro amónico/amoniaco ( $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_3$ ) como disolución reguladora de pH y el reactivo dimetilglioxima (DMG) como agente complejante de los metales en cuestión. En este caso también fue necesario subir el pH de las muestras a un valor próximo a 9 por adición de  $\text{NH}_3$  Suprapur, antes de ajustarlo al pH del método (pH 9,3) con la disolución reguladora  $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_3$ . Para ello se adicionaron  $5 \cdot 10^{-4}$  mol/L de DMG y 0,2 mol/L de  $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_3$  a 10 mL de la muestra colocada en la celda electroquímica. Se midieron las muestras de agua por duplicado mediante aplicación de la técnica de adición estándar empleando las condiciones instrumentales que se detallan a continuación:

- Tiempo de la etapa de purga inicial: 300 s
- Potencial al cual se realiza la deposición: -0,7 V
- Tiempo de la etapa de preconcentración: 180 s
- Velocidad de agitación durante la etapa de preconcentración: 2000 rpm
- Tamaño de la gota del electrodo HMDE: 4 u.a.
- Amplitud de impulso de potencial superpuesto: 0,05 V
- Tiempo de impulso: 0,04 V
- Incremento de potencial en la rampa (salto de potencial): 0,004 V
- Intervalo de tiempo para el salto de potencial: 0,3 s
- Tiempo de equilibrio: 10 s
- Velocidad del barrido: 0,0132 V/s

#### **d) Análisis de Hg**

El mercurio en las muestras de aguas fue analizado mediante espectroscopía de absorción atómica con generación de vapor frío (CVAAS). Para ello las muestras fueron reducidas con SnCl<sub>2</sub> 0,5% (m/v), preparado disolviendo 0,5 g de SnCl<sub>2</sub> en 3 mL de HCl de calidad Suprapur, con calentamiento en placa, y una vez disuelto se enrasa a 100 mL. Los parámetros instrumentales del equipo utilizado para este análisis fueron los siguientes:

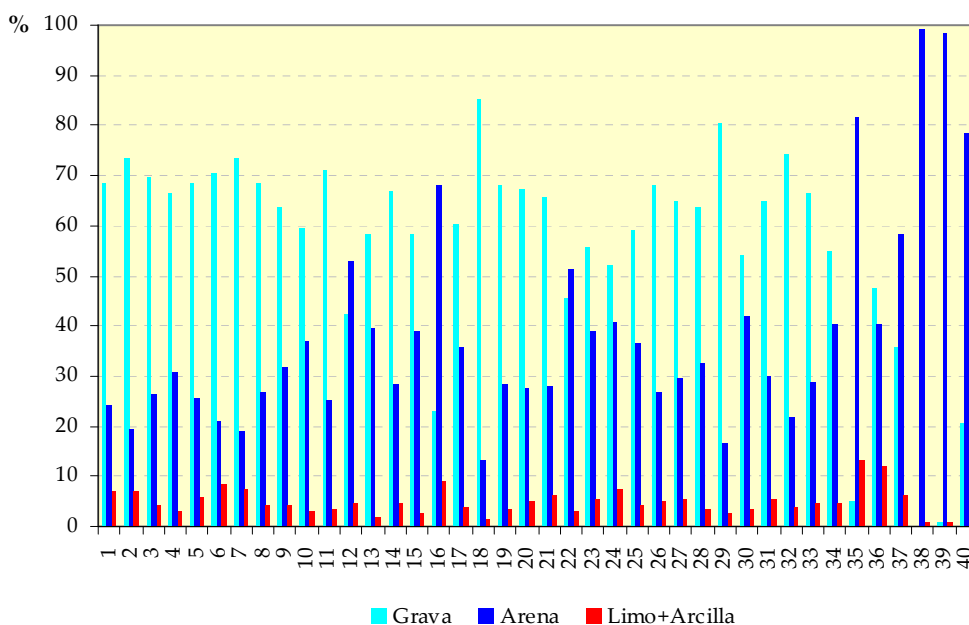
- Caudal de Argón: 100 mL/min
- Caudal de reductor: 3,2 mL/min
- Caudal de muestra/blanco: 7,6 mL/min
- Tiempo de medida: 100 s

Durante la realización de todos estos análisis, las medidas de pH de las disoluciones en el laboratorio se realizaron empleando un pH-metro micropH 2001 equipado con un electrodo combinado de vidrio Ag/AgCl modelo 52-02 y compensador de temperatura (Crisol, España).

#### VI.4.4. Resultados de los análisis de las muestras de sedimentos del río Mghogha

##### VI.4.4.1. Granulometría

Para el estudio granulométrico se dividieron las muestras de sedimentos en tres fracciones según el tamaño de partículas: grava, arena y limo-arcilla. En la **Figura VI.14** (ver datos en la **Tabla A.9.1** del **Anexo 9**) se han representado los resultados obtenidos, que indican que las muestras estudiadas presentaron fundamentalmente una composición de grava y arena, siendo la fracción limo-arcillosa la menos representativa, con un rango entre un 1,65 y un 13,10%. En los puntos de la costa esta última fracción fue aún más pequeña, entre un 0,81 y un 0,89%.



**Figura VI.14.** Granulometría de las muestras de sedimentos

Hay que recordar que desde un punto de vista geoquímico, una fase sólida con una naturaleza limo-arcillosa presenta una mayor retención de metales. Por ello y a partir de estos resultados, cabe esperar que exista poca retención de metales pesados

en la mayoría de las muestras, pues la naturaleza del fondo del canal tiene poca capacidad de adsorción. Esto conducirá a que la posible contaminación metálica existente sea arrastrada por el canal hacia las aguas del litoral.

#### VI.4.4.2. Caracterización mineralógica

En la **Tabla VI.2** se recogen los tipos de minerales encontrados en las muestras. La composición mineralógica consistió principalmente en cuarzo ( $\text{SiO}_2$ ), calcita ( $\text{Ca}(\text{CO}_3)$ ), moscovita ( $\text{KAl}_3\text{Si}_3\text{O}_{10}(\text{OH})_2$ ) y fourmarierita ( $\text{Pb}(\text{UO}_2)_4\text{O}_3(\text{OH})_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ). Esta composición indica una abundancia de sedimentos de naturaleza arenosa rica en restos de conchas (“bioconstrictions”) y otros componentes carbonatados presentes en zonas litorales, ya descrita por otros autores en algunas zonas costeras de Marruecos [**Achab y col., 2007**]. Las muestras de la desembocadura presentaron también cierto contenido en minerales derivados de compuestos inorgánicos del grupo de los halógenos, como halita o clorargirita ( $\text{AgCl}$ )/bromargirita ( $\text{AgBr}$ ), propios de zonas salinas, así como compuestos con azufre (basanita ( $\text{beta-CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ ), carlinita ( $\text{Tl}_2\text{S}$ ) o 2-tioidantoina ( $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2\text{OS}$ )). Esta diferente composición puede afectar a la retención metálica.

Tabla VI.2. Caracterización mineralógica de las muestras de sedimentos

Muestra	Cuarzo	Calcita	Moscovita	Fourmarierita	Nimita	Uranopilita	Barro-Yanadto-Moscovita	Clinoclásica	Clorita-serpentina	Wroewolfeita	Birnessita	Clinocloro Ilb-2 (portador de Cr <sub>2</sub> deshidratado)
	SiO <sub>2</sub>	Ca(CO <sub>3</sub> )	KAl <sub>3</sub> Si <sub>3</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>2</sub>	PHU <sub>2</sub> +6O <sub>3</sub> ·4H <sub>2</sub> O	(Ni <sub>1</sub> Mg <sub>2</sub> Al) <sub>6</sub> (Si <sub>4</sub> Al) <sub>4</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>8</sub>	(UO <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>10</sub> ·12H <sub>2</sub> O	(K,Ba,Na) <sub>3</sub> (Al,Mg,Cr,V) <sub>2</sub> (Si,Al) <sub>4</sub> V <sub>4</sub> O <sub>14</sub> (OH) <sub>2</sub>	Cu <sub>2</sub> +2(AsO <sub>4</sub> )(OH) <sub>2</sub>	(Mg,Al) <sub>3</sub> (Si,Al) <sub>4</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>8</sub>	Cu <sub>2</sub> (OH) <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> )(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub>	Na <sub>0.68</sub> Mn <sub>0.32</sub> O <sub>4</sub> ·1.5H <sub>2</sub> O	Mg(Mg,Al)((Si <sub>2</sub> AlO <sub>6</sub> )(OH) <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
1	x	x					x			x		x
2	x	x					x		x		x	
3	x	x	x									
4	x	x			x		x					
5	x	x	x								x	
6	x	x					x		x			
7	x	x			x		x					
8	x	x					x			x		
9	x	x			x		x		x		x	
10	x	x	x		x							
11	x	x	x	x	x	x						
12	x	x	x		x							x
13	x	x	x		x	x						
14	x	x		x	x	x		x				
15	x	x	x	x								
16	x	x		x	x	x			x			
17	x	x		x	x							
18	x	x	x	x	x			x				
19	x	x	x	x		x						
20	x	x	x		x							

Cont. Tabla VI.2. Caracterización mineralógica de las muestras de sedimentos

Muestra	Cuarzo SiO <sub>2</sub>	Calcita Ca(CO <sub>3</sub> )	Moscovita KAlSi <sub>3</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>2</sub>	Fourmarierita PbU <sub>4</sub> +6O <sub>3</sub> +4H <sub>2</sub> O	Nimita (Ni,Mg,Al) <sub>6</sub> (Si <sub>4</sub> Al) <sub>4</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>8</sub>	Uranopilita (UO <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> (SO <sub>4</sub> )(OH) <sub>10</sub> ·12H <sub>2</sub> O	Bario-Vanadio-Moscovita (K,Ba,Na) <sub>10</sub> (Al,Mg,Cr,V) <sub>2</sub> (Si,Al) <sub>10</sub> 4O <sub>42</sub> (OH) <sub>2</sub>	Clinodasa Cu <sub>11</sub> +2(AsO <sub>4</sub> )(OH) <sub>3</sub>	Clorita-serpentina (Mg,Al) <sub>8</sub> (Si,Al) <sub>4</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>8</sub>	Wroewolfeita Cu <sub>11</sub> (OH) <sub>11</sub> (SO <sub>4</sub> )(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub>	Birnessita Na <sub>2-3</sub> Mn <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ·1.5H <sub>2</sub> O	Clinodoro IIb-2 (portador de Cr, deshidratado) Mg <sub>2</sub> (Mg,Al) <sub>2</sub> (Si,Al) <sub>2</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
21	x	x			x	x						
22	x	x	x	x	x							
23	x	x	x	x				x				
24	x	x	x									
25	x	x	x		x							
26	x	x	x	x								
27	x	x	x	x						x		
28	x	x	x	x	x							
29	x	x	x	x								
30	x	x	x	x								
31	x	x	x	x								
32	x	x	x	x				x				
33	x	x	x	x	x							
34	x	x	x	x		x						
35	x	x	x	x								
36	x	x	x	x		x						
37	x	x	x	x		x						
38	x	x	x									
39												
40	x											

Cont. Tabla VI.2. Caracterización mineralógica de las muestras de sedimentos

Muestra	Gismondina o abractita	Berlinita	Lindackerita	Halita	Zinc-Berlinita	Lipscombbita	Metaschoepita	Chenevixita	Calcopirita	Carlinita	2-Tiohidantioina	Clorargirita/Bromargirita	Basanita
	$\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{AlPO}_4$	$\text{Cu}_2(\text{AsO})_2 \cdot 2(\text{AsO}_4\text{OH})_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	$\text{NaCl}$	$\text{Zn}(\text{NaBePO}_4)$	$\text{Fe}_{0.93}(\text{PO}_4)_2(\text{OH})_2$	$\text{UO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{Cu}^{2+}2\text{Fe}^{2+} \cdot 3(\text{AsO}_4)(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	$\text{CuFeS}_2$	$\text{Tl}_2\text{S}$	$\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_8$	$\text{AgCl} / \text{AgBr}$	$\text{beta-CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$
1													
2													
3	x												
4													
5													
6													
7													
8					x								
9													
10													
11													
12													
13			x										
14													
15													
16													
17													
18													
19													
20													



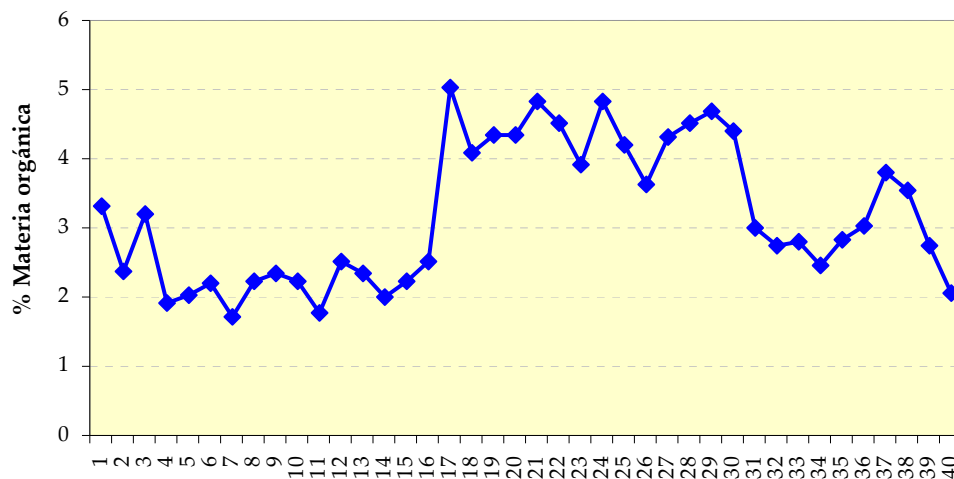
Cont. Tabla VI.2. Caracterización mineralógica de las muestras de sedimentos

Muestra	Cismondina o abractia $\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Berlinita $\text{AlPO}_4$	Lindackerita $\text{Cu}_2(\text{AsO}_4)_2(\text{As}_2\text{O}_7) \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	Halita $\text{NaCl}$	Zinc-Berilonita $\text{Zn}(\text{NaBePO}_4)$	Lipscombita $\text{Fe}_{24}(\text{PO}_4)_2(\text{OH})_2$	Metaschoepita $\text{UO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Chenevixita $\text{Cu}^{2+}2\text{Fe}^{3+}3(\text{AsO}_4)(\text{OH}) \cdot \text{H}_2\text{O}$	Calcopirita $\text{CuFeS}_2$	Carlinita $\text{Ti}_2\text{S}$	2-Tiohidantoína $\text{C}_2\text{H}_4\text{Ni}_2\text{O}_5$	Clorargirita/Bromargirita $\text{AgCl}/\text{AgBr}$	Basanita $\text{beta-Ca}_2\text{SO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$
21													
22													
23													
24													
25						x							
26													
27		x											
28													
29													
30							x						
31													
32													
33			x										
34													
35													
36													
37													
38	x	x							x				
39				x						x			
40												x	x

### VI.4.4.3. Materia orgánica en los sedimentos

Igualmente se analizaron en las muestras de sedimento los contenidos de materia orgánica. Los resultados obtenidos (ver datos en la **Tabla A.9.2 del Anexo 9**) se han representado en la **Figura VI.15**. Como puede apreciarse, las muestras presentaron valores pequeños de materia orgánica, dentro de un rango de 1,72-3,33% para el tramo más interno del canal (puntos: 1-16) y de 2,05-3,80% en el tramo final (puntos: 31-40). En la zona central hay un incremento destacado entre los puntos 16 y 31 (rango 3,62-5,04%), y una subida puntual en los puntos 37 (3,80%) y 38 (3,55%). La subida media en la segunda mitad del río coincide con zonas de efluentes industriales y con caños con vertidos visibles a simple vista en el canal.

Los valores medios del canal fueron algo inferiores a los encontrados por Díaz-de Alba y col. en la Bahía de Algeciras, zona muy cercana y de características similares, que presentó valores de materia orgánica entre un 7 y un 15% [Díaz-de Alba y col., 2011]. Probablemente, la naturaleza más arenosa de estos sedimentos no favorezca la acumulación de materia orgánica, estando sin duda la contaminación orgánica presente en las aguas, como se verá posteriormente.



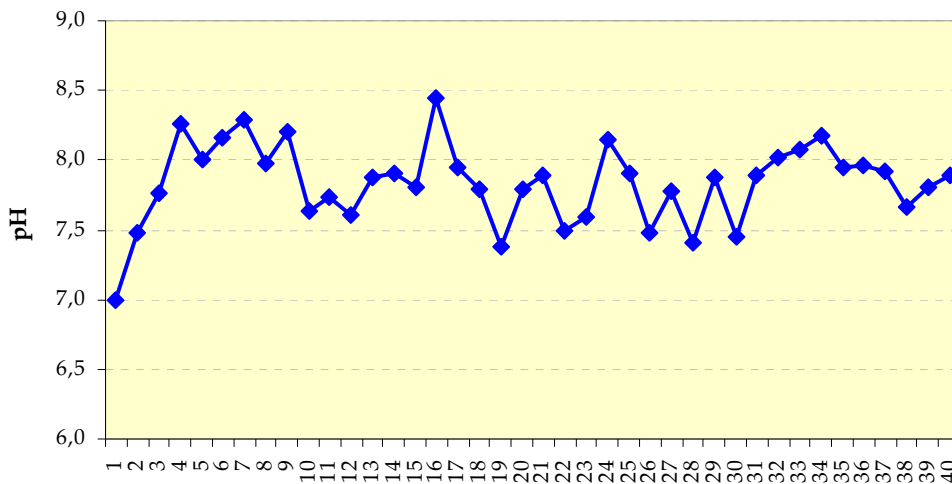
**Figura VI.15.** Porcentaje de materia orgánica en las muestras de sedimentos

#### VI.4.4.4. pH y salinidad

Dado que la acidez y salinidad podían afectar a la movilidad de los metales en el sedimento, se evaluaron estos parámetros en las muestras de aguas sobrenadantes. Los valores se encuentran recogidos en las **Figuras VI.16 y VI.17**. (ver datos en las **Tablas A.9.3 y A.9.4 del Anexo 9**).

El valor medio de pH osciló alrededor de 7,8 valor comparable al adecuado para las aguas de distribución, alcanzando valores ligeramente superiores en zonas con vertidos característicos, sobre todo en el punto 16 (pH = 8,44) y en los siguientes: punto 4 (pH = 8,3), punto 7 (pH = 8,3), punto 9 (pH = 8,2), punto 24 (pH = 8,1) y punto 34 (pH = 8,2). Probablemente los vertidos realizados a lo largo del canal produjeron estas subidas de pH. En los dos últimos puntos la subida de la salinidad estuvo asociada con una subida natural del pH.

En relación a la salinidad, se puede ver en la **Figura VI.17** como prácticamente, el agua sobrenadante presentó una naturaleza de agua fluvial, para en los dos últimos puntos mezclarse con el agua de mar en la desembocadura. Esta mezcla de aguas estaba afectada en mayor o menor medida por el estado de la marea, la cual fue bajamar en la fecha en la que se realizó la toma de muestra.



**Figura VI.16.** Valores de pH de las muestras de agua sobrenadante en el río Mghogha

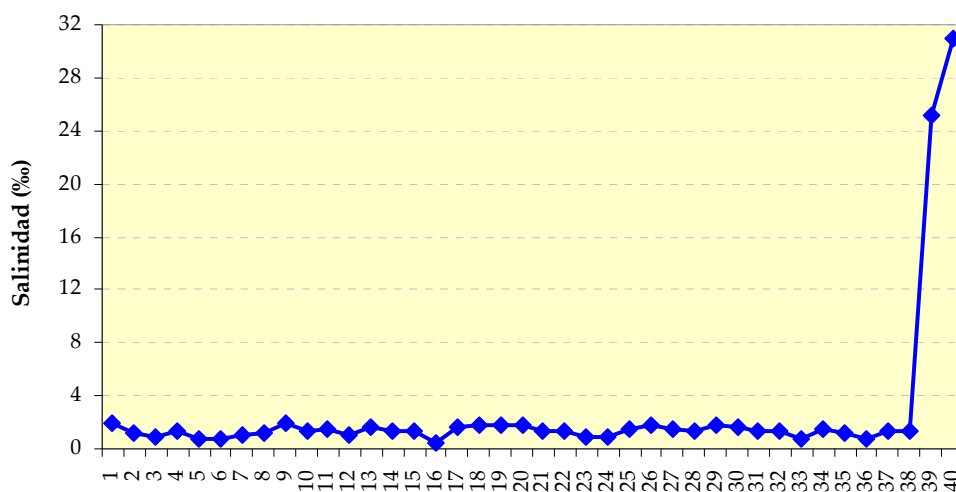


Figura VI.17. Valores de salinidad de las muestras de agua sobrenadante en el río Mghogha

#### VI.4.4.5. Análisis de la concentración metálica en la fase lixiviable

En las muestras de sedimentos del río Mghogha se decidió determinar los metales fácilmente disponibles, debido a que son los que representan un peligro potencial mayor, y los que fácilmente pueden ser lixiviados y resuspendidos hacia la columna de agua, por lo que llegan a la columna de agua y pueden alcanzar las aguas costeras. Así, se decidió analizar el contenido metálico correspondiente de la fracción intercambiable o fracción más biodisponible (fase I). En la **Tabla A.9.5** del **Anexo 9** se encuentran las concentraciones metálicas de los extractos lixiviados de las muestras estudiadas, los cuales han sido representados en las **Figuras VI.18, VI.19** y **VI.20**. En la **Tabla VI.3** se han incluido los valores medios, mínimos y máximos para las concentraciones metálicas encontradas en la zona de estudio para cada uno de los metales analizados.

Así, los metales de la fase intercambiable del sedimento tuvieron las siguientes concentraciones medias ( $\mu\text{g/Kg}$ ):  $1092 \pm 1958$  de Zn;  $25,79 \pm 23,19$  de Cd;  $201 \pm 181$  de Pb;  $306,7 \pm 240,1$  de Cu;  $1840 \pm 3477$  de Fe;  $250 \pm 1343$  de Hg;  $11,51 \pm 10,14$  de Cr;  $5,64 \pm 35,66$  de As. Estos resultados permiten ordenar los metales estudiados por su carácter

lixiviable y potencialmente más tóxicos de la siguiente forma, observándose que los metales más antropogénicos presentaron menor concentración:

$$\text{Fe} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Pb} > \text{Cd} > \text{Hg} > \text{Cr} > \text{As}.$$

**Tabla VI.3.** Valores medios, mínimos y máximos de concentraciones de metales pesados en muestras sedimentos del río Mghogha ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ )

Metal	Media $\pm$ SD	Valor mínimo	Valor máximo
Zn	1092 $\pm$ 1958	171	12222
Cd	25,79 $\pm$ 23,19	0,99	129,3
Pb	201 $\pm$ 181	0,00	997
Cu	306,7 $\pm$ 240,1	0,00	1089,9
Fe	1840 $\pm$ 3477	181	20102
Hg	250 $\pm$ 1343	0,00	8521
Cr	11,51 $\pm$ 10,14	0,20	46,3
As	5,64 $\pm$ 35,66	0,00	225,56

Los valores de la concentración de Zn, Cd y Pb en el extracto lixiviado de las muestras de sedimentos estudiados están representados en la **Figura VI.18**. Como puede apreciarse, se obtuvo siempre la misma tendencia para los tres metales, oscilando los valores en torno a un valor medio a lo largo de todo el recorrido (Zn: 500  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ; Cd: 20  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ; Pb: 200  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ), siendo únicamente en los últimos puntos del recorrido del río donde se detectaron subidas puntuales. La subida más acusada fue la del punto 36 para el cinc alcanzando un valor de 12223  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ . Para el caso del Cd y el Pb, los puntos que presentaron una subida puntual fueron el 35 y el 37 para el caso del Cd con 80 y 130  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  respectivamente, y el punto 39 para el Pb con 1000  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ .

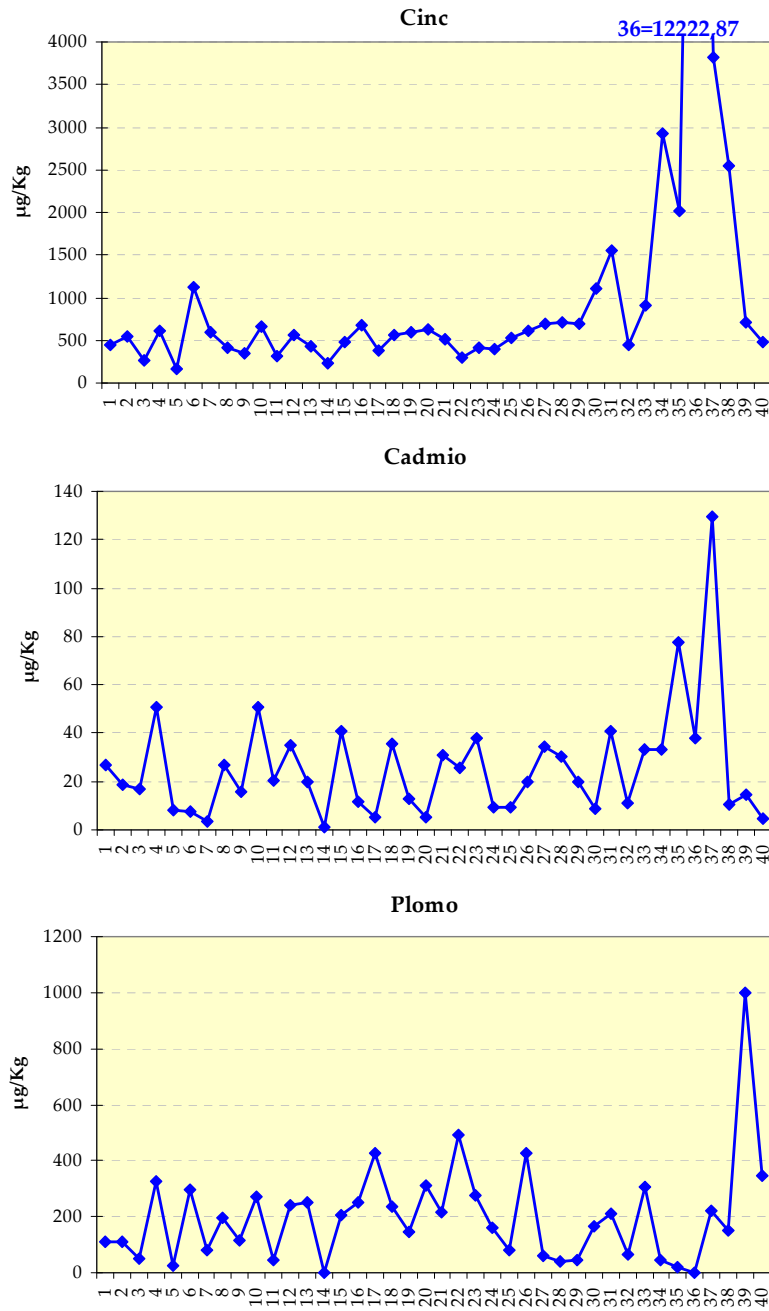


Figura VI.18. Concentración de Zn, Cd y Pb en el extracto lixiviado de las muestras de sedimentos (µg/Kg de sedimento)

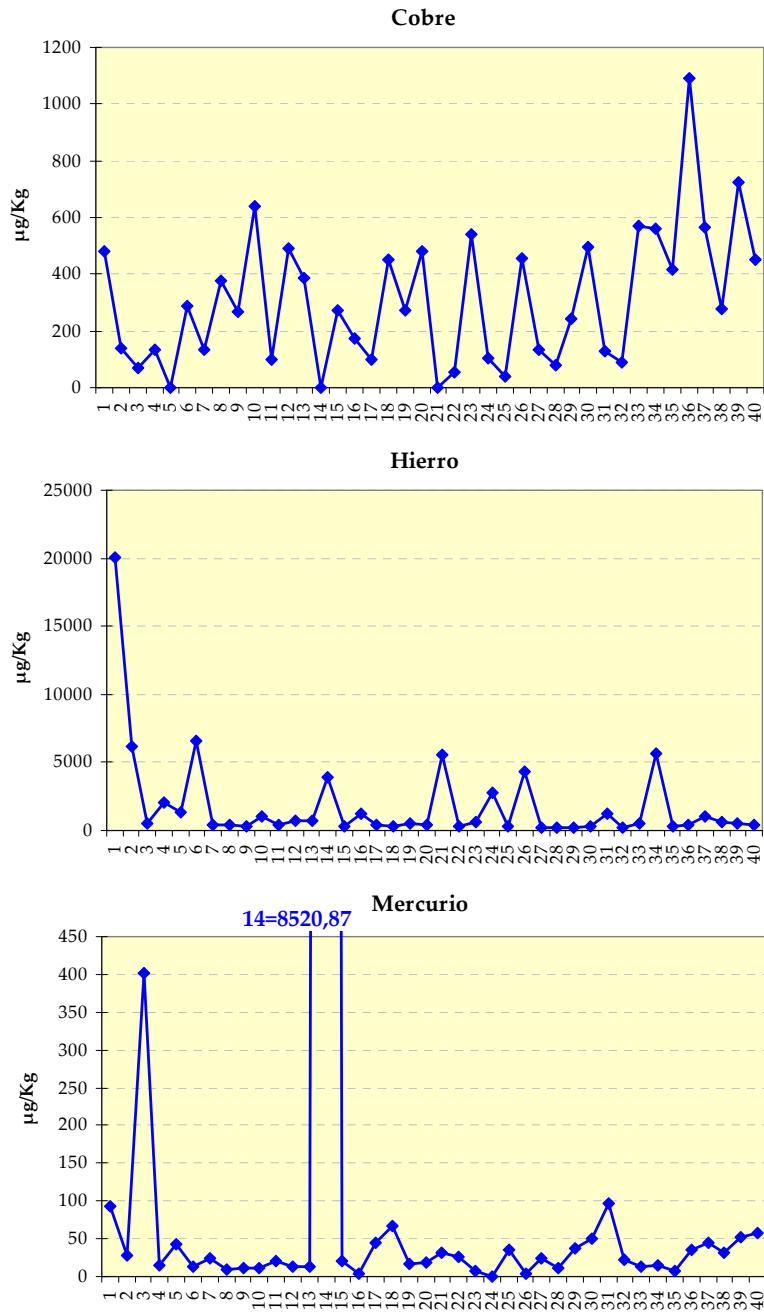
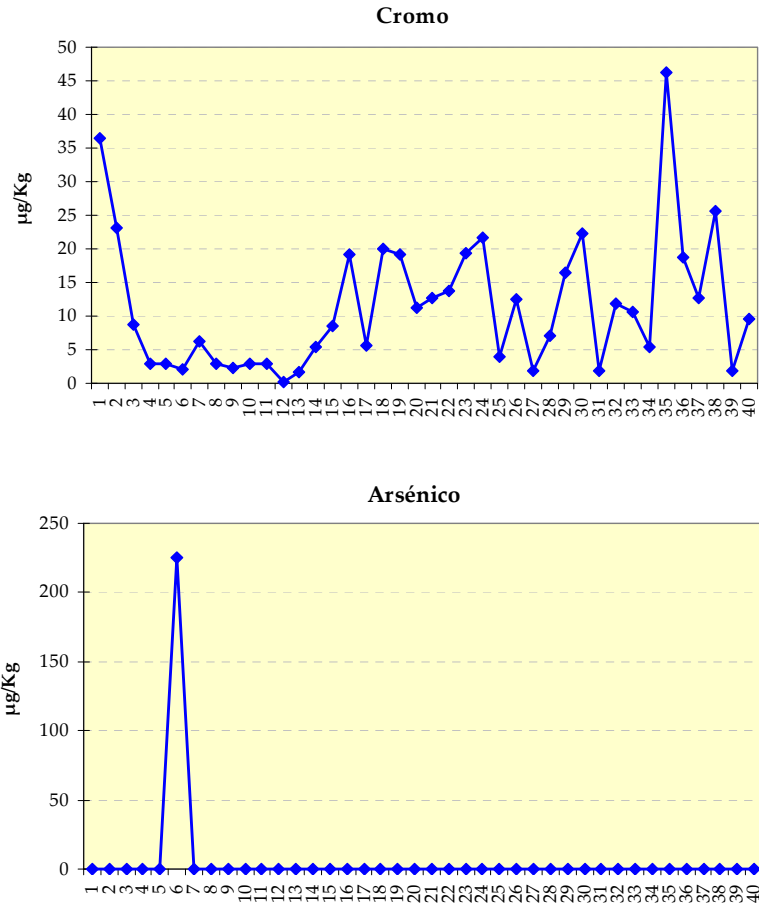


Figura VI.19. Concentración de Cu, Fe y Hg en el extracto lixiviado de las muestras de sedimentos (µg/Kg de sedimento)



**Figura VI.20.** Concentración de Cr y As en el extracto lixiviado de las muestras de sedimentos ( $\mu\text{g/Kg}$  de sedimento)

Por otro lado, en la **Figura VI.19** se representan los valores de concentración obtenidos en el extracto lixiviado de las muestras de sedimentos para el caso de Cu, Fe y Hg. Como puede apreciarse, el Cu siguió la misma tendencia que la de los metales anteriormente comentados, oscilando en torno a un valor medio y alcanzándose una subida puntual para el punto 36 con un valor de  $1000 \mu\text{g/Kg}$ . Sin embargo, para los metales Fe y Hg los valores más altos se detectaron en los primeros puntos del recorrido del río, registrándose un valor de  $20000 \mu\text{g/Kg}$  en el primer punto estudiado



para el caso del Fe, y un valor de 400 µg/Kg en el punto 3, e incluso 8520,87 µg/Kg en el punto 14 para el caso del Hg, muy superiores al valor medio encontrado a lo largo de todo el recorrido.

En la **Figura VI.20** aparecen reflejados los valores de concentración de Cr y As en el extracto lixiviado de las muestras de sedimentos. Para el caso del Cr se observó una variación en las concentraciones de este metal a partir del punto 12, desde un valor mínimo próximo a 0 µg/Kg hasta un valor máximo de 45 µg/Kg. Por su parte, el As presentó un valor máximo alrededor de 225 µg/Kg en el punto 6, muy diferente con respecto al resto de puntos del recorrido del río, los cuales se encontraron en torno al LD de la técnica.

Con objeto de definir la calidad medioambiental del ecosistema estudiado se han utilizado diferentes niveles guía o de comparación. En la **Tabla VI.4** se han recogido valores de comparación, tales como niveles fondo de sedimentos no contaminados, tanto de naturaleza de esquisto ("shale") como suelos carbonatados. Igualmente se recogen niveles guía para la protección de la vida acuática en sedimentos fluviales y marinos propuestos por el gobierno canadiense (*ISQG: Interim freshwater sediment quality guidelines*), indicándose también aquellos niveles bajo los cuales existen efectos probables sobre la vida acuática (*PEL: Probable effects levels*). Por último, se han detallado los criterios establecidos por la NOAA NS&T (US National Oceanic and Atmospheric Administration: Oficina norteamericana para la Administración Nacional del Océano y la Atmósfera) cuyos índices definen la presencia de efectos biológicos sobre la vida acuática: *ERL* (*concentraciones con efectos biológicos bajos*) y *ERM* (*concentraciones con efectos biológicos considerables*).

No obstante, hay que indicar que estos valores corresponden a concentraciones totales y en este trabajo se han evaluado las concentraciones más disponibles del sedimento. Es decir, la fracción lixiviada con un tratamiento muy débil (acetato amónico), debido a que es la fácilmente biodisponible. Al no existir criterios de calidad para la fracción intercambiable, en la bibliografía se recoge que para que esta fracción no suponga riesgo en el medio acuático se admite como criterio *RAC* (*Risk Assessment*

Code), un valor inferior al 1% del contenido metálico total, considerándose en tal caso un medioambiente seguro [Jain, 2004; Berrow y Mitchell, 1980].

En la **Tabla VI.5** se recoge el criterio que se utilizó para la comparación de los valores obtenidos en este trabajo y que por tanto supone calcular el 1% de los niveles descritos en la **Tabla VI.4**.

**Tabla VI.4.** Niveles de fondo y niveles guía de calidad para las concentraciones metálicas en sedimentos (mg/kg)

Metal	Niveles de fondo de sedimentos no contaminados [Turekian y Wedepohl, 1961]		Niveles guía para la protección de la vida acuática [Canadian Sediment Quality Guidelines, 2002]				Niveles guía NS&T con efectos biológicos [Buchmann, 2008]	
	Esquistos	Carbonatos	Sedimentos marinos		Sedimentos fluviales		ERL	ERM
			ISQ	PEL	ISQ	PEL		
<b>Zn</b>	95	20	124	271	123	315	150	410
<b>Cd</b>	0,3	0,035	0,7	4,2	0,6	3,5	1,2	9,6
<b>Pb</b>	20	9	30,2	112	35,0	91,3	47	220
<b>Cu</b>	45	4	18,7	108	35,7	197	34	270
<b>Fe</b>	47000	4000	-	-	-	-	NT	NT
<b>Hg</b>	0,4	0,04	0,13	0,70	0,17	0,486	0,15	0,71
<b>Cr</b>	90	11	52,3	160	37,3	90,0	81	370
<b>As</b>	13	1	7,24	41,6	5,9	17	8,2	70
<b>Ni</b>	68	20	15,9	42,8	-	-	20,9	51,6
<b>Co</b>	19	0,1	-	-	-	-	NT	NT

**ISQG:** Valor guía de calidad del sedimento; **PEL:** Nivel con efectos probables sobre la vida acuática; **ERL:** Concentraciones con efectos biológicos bajos; **ERM:** Concentraciones con efectos biológicos considerables; **NT:** estos elementos no son tóxicos incluso a altas concentraciones

**Tabla VI.5.** Niveles de fondo y niveles guía de calidad para las concentraciones metálicas de la fase intercambiable de los sedimentos según el criterio RAC ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) [Jain, 2004; Berrow y Mitchell, 1980]

Metal	Niveles de fondo de sedimentos no contaminados [Turekian y Wedepohl, 1961]		Niveles guía para la protección de la vida acuática [Canadian Sediment Quality Guidelines, 2002]				Niveles guía NS&T con efectos biológicos [Buchmann, 2008]	
	Esquistos	Carbonatos	Sedimentos marinos		Sedimentos fluviales		ERL	ERM
			ISQG	PEL	ISQG	PEL		
Zn	950	200	1240	2710	1230	3150	1500	4100
Cd	3	0,35	7	42	6	35	12	96
Pb	200	90	302	1120	350	913	470	2200
Cu	450	40	187	1080	357	1970	340	2700
Fe	470000	40000	-	-	-	-	NT	NT
Hg	4	0,4	1,3	7,0	1,7	4,86	1,5	7,1
Cr	900	110	523	1600	373	900	810	3700
As	130	10	72,4	416	59	170	82	700
Ni	680	200	159	428	-	-	209	516
Co	190	1	-	-	-	-	NT	NT

Comparando los niveles metálicos fácilmente disponibles en los sedimentos estudiados con los diferentes niveles guía de calidad se puede destacar que:

**- Cinc**

Para el cinc, solo algunos puntos al final del río retienen este metal, tales como los puntos 31, 34, 35, 36, 37 y 38, donde se superan los niveles guía de calidad (ISQG) y los niveles con efectos biológicos bajos (ERL). Se superan los niveles con efectos probables sobre la vida acuática (PEL) en 31, 35 y 38 y los niveles con efectos biológicos considerables en el punto 36.

**- Cadmio**

El cadmio fácilmente lixiviable supera de forma destacada los valores de fondo, llegando en varios casos a superar los niveles guía con efectos probables para la protección de la vida acuática (PEL) en muestras como: 4, 10, 12, 15, 18, 23, 31, 35, 36 y 37, y superándose incluso las concentraciones con efectos biológicos considerables (ERM) en el punto 37.

**- Plomo**

Este metal es retenido de forma alternante, superándose los niveles guía para la protección de la vida acuática (ISQG), en puntos como 17, 22, 26 y 39, y los niveles con efectos biológicos bajos en los puntos 22 y 39, lo que puede implicar en algunos casos efectos biológicos. No obstante, no es destacada la contaminación por este metal, aunque si deben de controlarse los vertidos que pueden ser esporádicos y puntuales.

**- Cobre**

El cobre es retenido en el sedimento de forma alternante entre los puntos muestreados, superando en muchos de estos lugares los niveles de calidad para la protección de la vida acuática (ISQG) y las concentraciones con efectos biológicos bajos (ERL): puntos 1, 8, 10, 12, 13, 18, 20, 23, 26, 30, 33, 34, 35, 36, 37, 39 y 40.

**- Hierro**

Este metal presenta poco carácter nocivo desde el punto de vista medioambiental, por lo que su presencia requiere de muy altas concentraciones para que se superen los criterios de calidad. En las muestras de sedimento sujetas a estudio, la concentración de hierro fácilmente disponible es muy inferior en relación a los valores de fondo.

**- Mercurio**

El mercurio es uno de los metales de mayor preocupación medioambiental, debido a su carácter altamente tóxico. En las muestras analizadas, llama la atención los niveles de mercurio en la fracción disponible del sedimento, superando en casi todos

los puntos de muestreo los valores guía para la protección de la vida acuática (ISQG), presentando niveles con efectos biológicos considerables (ERM).

**- Cromo**

Los niveles de cromo en los sedimentos son bastante bajos, no llegando a alcanzar ni siquiera los valores de fondo de sedimentos no contaminados. Por ello, la presencia de este metal no es preocupante.

**- Arsénico**

Los niveles de As en la fracción fácilmente biodisponible están por debajo de los niveles de fondo y los niveles guía de calidad ISQG a la excepción del punto 6. Parece por lo tanto que los vertidos de este metal no son retenidos en el sedimento.

Para identificar las fuentes de contaminación metálica en el ecosistema estudiado y las tendencias de comportamiento de las variables analizadas se aplicó el análisis factorial por componentes principales (PCA). El empleo de esta herramienta estadística permite establecer agrupaciones de variables (factores) que expliquen la configuración del conjunto de los datos y ayuden a definir la variabilidad del sistema. El análisis factorial consiste en identificar variables fundamentales o factores subyacentes (ambientales, geográficos, industriales, etc.), que expliquen de manera más fácil la configuración del conjunto de los datos y sus correlaciones. El estudio de las fuentes de varianza comienza por la selección de las variables manifiestas que van a constituir la matriz de datos. Éstas son variables que pueden medirse experimentalmente y que se sabe o se supone que varían con los factores que se están buscando. A continuación, se diseña el conjunto de unidades ambientales sobre los que se realiza la medida de las variables manifiestas, obteniéndose así la matriz de datos. Las combinaciones lineales de las variables manifiestas, obtenidas en función de criterios racionales que modelan la nube de puntos, se denominan variables latentes, las cuales se utilizan para descubrir las direcciones del espacio correlacionadas con causas objetivas de varianza. Dichas direcciones son los factores subyacentes o variables fundamentales. Los factores

son variables latentes que modelizan las principales tendencias presentes en el conjunto de datos.

Estas estructuras latentes se descubren mediante la aplicación de una serie de herramientas estadísticas. Una de las operaciones de procesado es la rotación propia y el análisis de los vectores obtenidos. La proyección sobre el plano de una nube de puntos multidimensional puede ofrecer visiones muy ilustrativas de las estructuras que contiene. Para ello, es necesario seleccionar cuidadosamente, mediante la aplicación de criterios racionales, el plano de observación. Mediante rotaciones se construyen modelos del conjunto de datos, buscando secuencialmente las direcciones del espacio que ofrecen la mejor visión posible de la misma. Los nuevos ejes de coordenadas, denominados vectores propios, autovectores o componentes principales, se construyen como combinaciones lineales de las variables manifiestas. En la rotación ortogonal "varimax" se minimiza el número de variables que tienen factores de peso altos sobre cada factor. La *varianza total* de los datos,  $S_T^2$ , es la suma de cuadrados de las distancias de los datos a su centroide, dividida por el número de datos,  $n$ . Cuando se construye un vector que modela el conjunto de datos, la varianza total queda dividida en dos: la *explicada* por el vector y la *residual*, pudiéndose expresar de la forma:  $S_T^2 = S_{exp}^2 + S_{res}^2$ . Si el vector es un *componente principal*, su varianza explicada,  $S_{exp}^2$ , se denomina *autovalor*. Un *vector* describe adecuadamente una tendencia en un conjunto de datos cuando, en comparación con otras direcciones del espacio, los datos están fuertemente expandidos en la dirección del vector. En tal caso, el *vector* constituye un buen modelo del conjunto de datos multidimensional, la varianza explicada por el mismo es alta y, en consecuencia, la varianza residual es pequeña. Los factores se hallan, precisamente, siguiendo el criterio de hacer máxima la varianza explicada, o lo que es lo mismo, hacer mínima la varianza residual. Otro parámetro característico es la *varianza explicada acumulada*, la cual indica el porcentaje de información contenido en el modelo respecto a la información total contenida en la matriz de datos. Para calcularla se suman de manera acumulativa las varianzas explicadas porcentuales para cada uno de los *factores*, comenzando por aquel que ha presentado el *autovalor* más alto.

Previo a la aplicación del análisis factorial por componentes principales se estandarizaron los datos mediante la sustracción a cada valor del promedio de los valores y dividiendo este resultado por la desviación estándar para cada variable. Los datos estandarizados podían así ser tratados con igual importancia. Para realizar el análisis se aplicó la rotación Varimax de los factores, con objeto de simplificar la matriz mediante la maximización de la varianza del cuadrado de las cargas para cada variable. La extracción de factores se calculó para el máximo de factores posibles y para la selección de los más representativos se aplicó la conocida regla de Kaiser, según la cual se consideran como significativos aquellos factores cuyo autovalor es mayor de 1 [Kaiser, 1960].

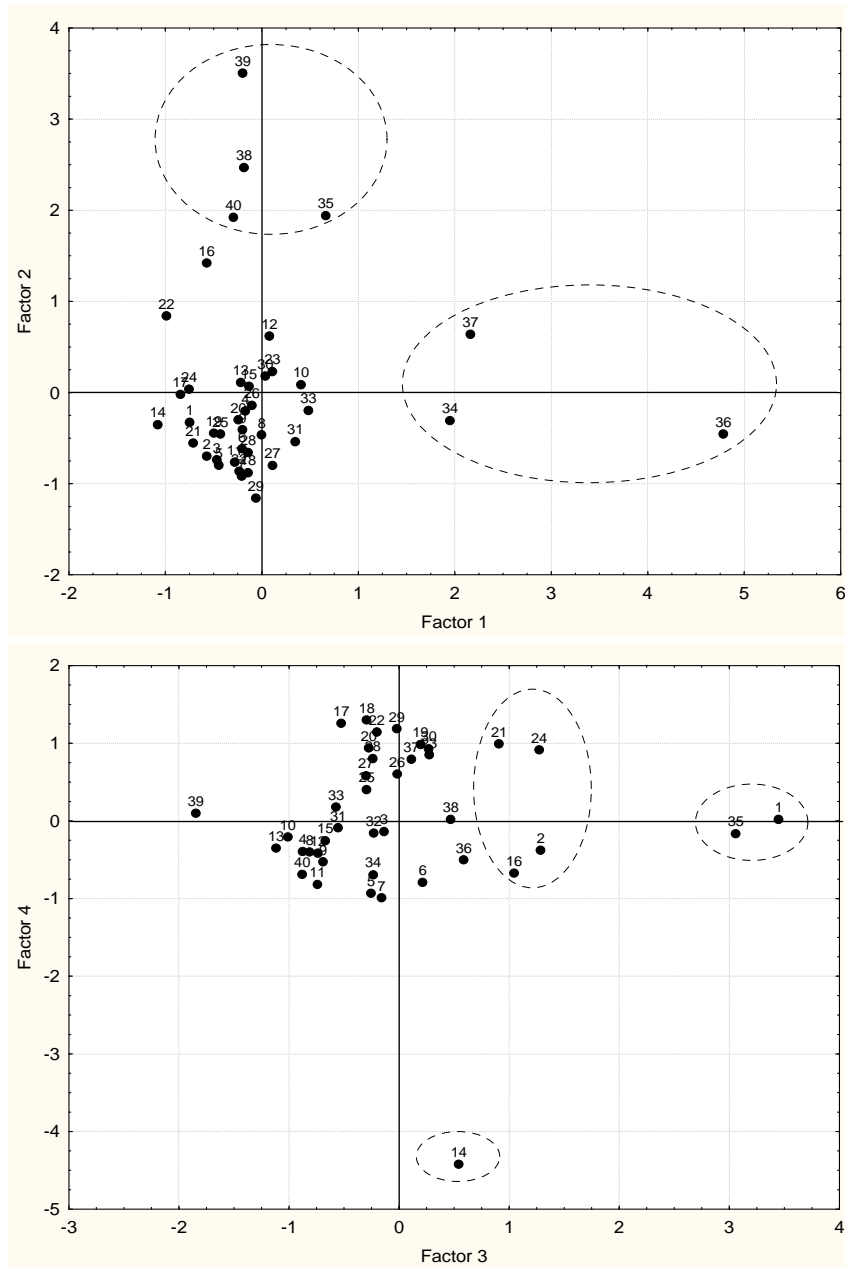
El análisis PCA aplicado a la granulometría del sedimento, el contenido en materia orgánica y los niveles de metal lixiviados, dio como resultado la obtención de cuatro factores significativos que representaron el comportamiento de las variables estudiadas en muestras de sedimento. El análisis incluyó 40 casos y la varianza acumulada para los 4 factores obtenidos fue del 69,04%, representando bastante bien el comportamiento de las variables (**Tabla VI.6**). Los autovalores para estos 4 componentes superaron en todos los casos el criterio de Kaiser. Con objeto de una mejor visualización de los resultados obtenidos para las variables asociadas en cada factor se han representado las cargas o puntuaciones (factor scores) de los lugares de muestreo sobre cada factor (**Figura VI.21**); las agrupaciones de las variables que pertenecen al mismo grupo se han dibujado bajo un círculo para visualizar qué puntos tienen un mayor peso sobre el factor debido a la influencia (positiva o negativa) destacada de las variables significativas para cada factor. Estas gráficas representan el espacio definido mediante los factores: F1 versus F2 y F3 versus F4 (n = 40). El primer factor F1 incluyó las variables Cu y Zn con altas cargas positivas sobre el factor, y la variable Cd con coeficiente ligeramente inferior, pero significativo. El segundo factor F2 representó la asociación positiva entre Pb y la relación inversa de la fracción de arena con cargas negativas para partículas scores. Los niveles de Cr y Fe asociados con la fracción limo-arcillosa fueron agrupados en el tercer factor F3. Por último, el factor F4 describió la correlación opuesta entre materia orgánica y Hg extraído.

Estos resultados se usaron para buscar fuentes de contaminación a lo largo del río ya que cada factor puede ser asociado con diferentes puntos de muestreo. Así pues, **Cu**, **Zn** y **Cd** disponibles (**F1**) fueron encontrados para los puntos 34, 36 y 37 donde las altas salinidades pueden favorecer la retención lábil de estos metales en los sedimentos del estuario. Además, en estos puntos eran visibles algunos efluentes que llegaban directamente a la. Los niveles de **Pb** asociados con la fracción de arena (**F2**) fueron principalmente encontrados para los puntos 35, 38, 39 y 40, donde estas partículas se relacionaban con la contaminación de Pb en la desembocadura del río. Los puntos de muestreo con **Cr** y **Fe** (**F3**) fueron localizados en puntos separados 1, 2, 16, 24 y 35, mostrando diferentes focos de descarga. Por último, con este análisis se detectó un punto crítico de **Hg** intercambiable (**F4**) en el punto 14 (8520,87 µg/L).

**Tabla VI.6.** Factores obtenidos del análisis PCA con rotación Varimax y varianza explicada para las variables estudiadas en las muestras de sedimento (n=40)

Variable	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4
Grava	-0,1720	<b>-0,9517</b>	-0,1061	0,0294
Arena	0,1207	<b>0,9672</b>	0,0187	-0,0107
Limo+Arcilla	0,3992	-0,1266	<b>0,6793</b>	-0,1454
Materia orgánica	-0,0988	-0,0762	0,2013	<b>0,7760</b>
Cd	<b>0,5162</b>	0,1180	0,1293	0,1919
Cr	0,0653	0,2407	<b>0,8492</b>	0,2533
Cu	<b>0,7113</b>	0,3295	-0,0393	0,1086
Fe	-0,1327	-0,1375	<b>0,6099</b>	-0,1384
Hg	-0,1780	-0,0620	0,0887	<b>-0,7166</b>
Pb	-0,1900	<b>0,5902</b>	-0,4110	0,2659
Zn	<b>0,9154</b>	0,0510	0,1481	-0,0418
Autovalor	3,319	2,246	1,451	1,270
Varianza acumulada (%)	27,65	46,37	58,46	69,04





*Figura V.21. Representación de las puntuaciones (factor scores) de análisis del PCA (Varimax rotación) para las variables estudiadas de las muestras de sedimento en el espacio definido mediante los factores: F1 versus F2 y F3 versus F4 (n=40)*

Como conclusión tras analizar los resultados obtenidos en este estudio, se puede decir que en este río se ha detectado la presencia de contaminación metálica, siendo destacable y muy preocupante las correspondientes a metales como mercurio y cobre. Deben de ser controlados los vertidos de cadmio y plomo. Sin embargo, no parecen presentar un riesgo significativo metales como cromo, arsénico, hierro y cinc. La presencia de estos metales contaminantes en el río podría influir en las aguas de la zona donde desemboca este río, con un impacto medioambiental que puede estar degradando el ecosistema costero. Por todo ello, en estudios posteriores de la zona se propuso el análisis de estos metales en las aguas de la costa de la ciudad de Tánger para ver si los efluentes de río ejercían un impacto contaminante en el litoral.

#### **VI.4.5. Resultados de análisis de las muestras de agua de la zona cercana a la orilla**

##### **VI.4.5.1. Parámetros físico-químicos**

Los parámetros físico-químicos de las muestras de agua (pH, salinidad, temperatura, oxígeno disuelto) fueron medidos “in-situ” en cada uno de los puntos muestreados y los valores encontrados aparecen recogidos en la **Figura VI.22** en la que puede observarse que:

Los valores de pH se encontraron entre 7,5 y 8,15 que son valores ligeramente básicos cercanos a valores neutros y muy propios de las zonas estuáricas.

Por los valores de salinidad se puede diferenciar entre muestras con alta salinidad (27,2-34 mg/L) tomadas de la costa (A, B, D, E y F) y otras con baja salinidad (0,85-2,65 mg/L) tomadas en el río (C, G y H). Tanto por los valores de salinidad como por los de pH, se pudo comprobar la mezcla de aguas fluviales con las aguas costeras en los puntos C, G, y H, lo que indicaba que los puntos muestreados eran representativos de las áreas que se deseaban estudiar, pues con las concentraciones de contaminantes en estos puntos fluviales se podía trazar la entrada de contaminantes en la costa.

En las aguas muestreadas se dieron pocas diferencias de temperatura. Los valores oscilaron entre 17,7 y 19 °C con excepción de las muestras D y E que parece que estaban más influenciadas por las aguas de mar abierto con una temperatura de 16,4 °C.

En los puntos muestreados, se observó una variación significativa entre los valores de oxígeno disuelto. Los puntos C, G y H presentaron valores inferiores a 5 mg/L, evidenciando la demanda de este gas en las aguas que provenían del canal. Las muestras de la costa, estaban bien oxigenadas con valores alrededor de 7,5-8,8 mg/L, lo que era lógico pues en la costa las aguas se mueven fácilmente y se oxigenan.

En cuanto al carbono orgánico, este parámetro se determinó en el laboratorio en las muestras de agua no filtradas y los valores obtenidos (**Figura VI.22**) indicaron el elevado contenido en contaminación orgánica procedente del río, lo que era lógico tras observar diversos vertidos realizados en el mismo proveniente de las industrias de la zona y que podían claramente perjudicar las condiciones ambientales de la playa de Tánger. Las muestras C, G y H contenían valores muy elevados de COT (14,46, 19,02 y 35,12 mg/L, respectivamente), deteriorando la calidad de esta agua, y afectando incluso al punto D (3,66 mg/L) ya en la playa por difusión. El punto B, que es otro pequeño canal que desemboca en la playa de Tánger también tiene un ligero contenido en materia orgánica (3,03 mg/L), superior al resto de las muestras del litoral. Este factor tuvo que ser tenido en cuenta en la aplicación de los métodos de análisis de metales, pues los contenidos eran tan elevados que podían ser una interferencia clara en medidas por espectroscopía atómica y por voltamperometría.

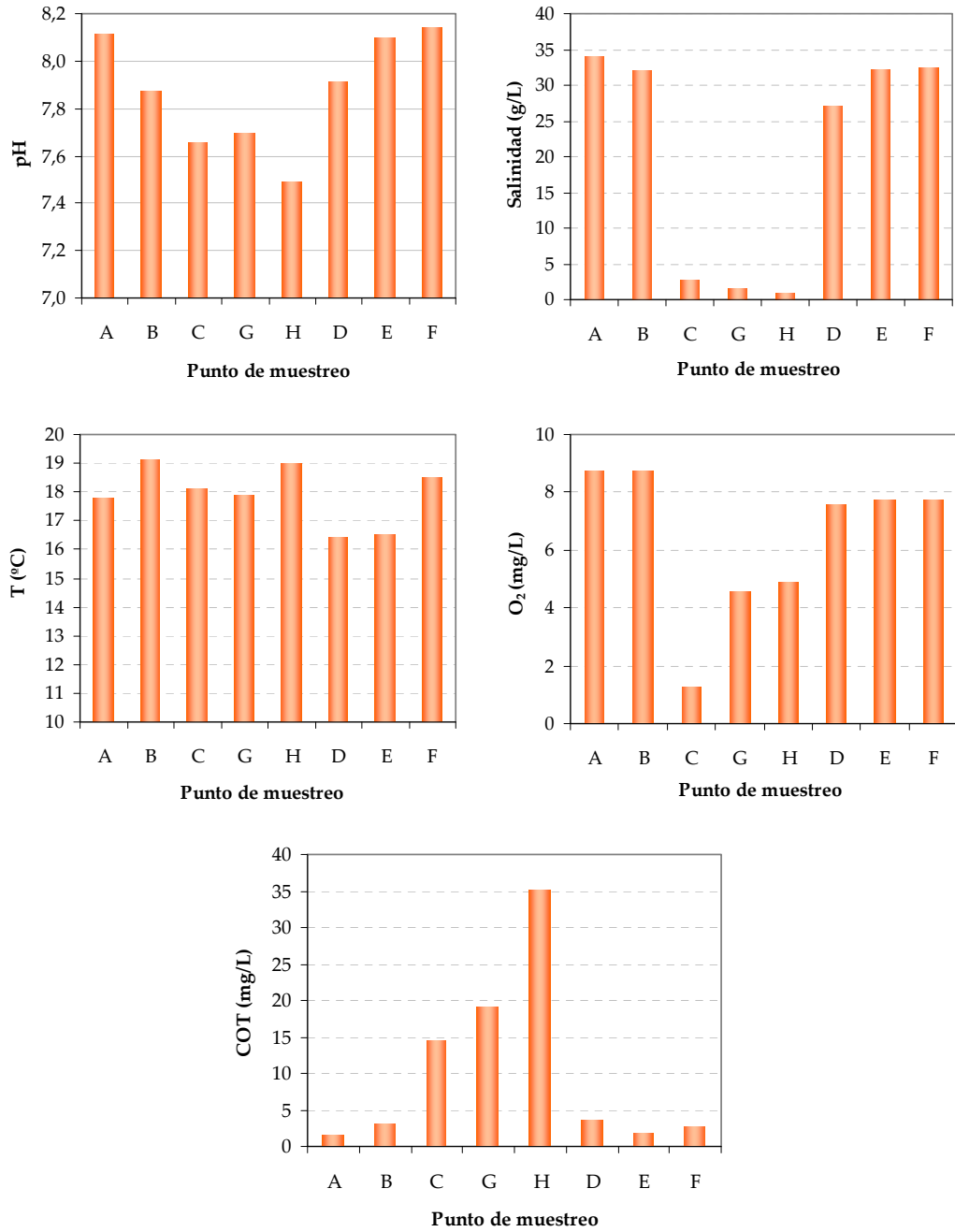


Figura VI.22. Valores de los parámetros físico-químicos de las muestras de agua de la zona cercana a la orilla

#### VI.4.5.2. Contenido metálico en las muestras de agua

En este apartado se abordó el estudio de los niveles metálicos en las aguas costeras en la zona donde desemboca el río Mghogha estudiado en el apartado anterior para ver la influencia que podría presentar en estas aguas. Se analizaron los metales Zn, Cd, Cu, Pb, Fe y Hg por ser detectados de forma significativa o preocupante en las muestras de sedimentos de este río. Los metales As y Cr no fueron analizados en las muestras de agua debido a que estos elementos no representaban un aporte significativo hacia la costa. Sin embargo, se amplió el estudio a los metales Ni y Co por su frecuente asociación con metales como Zn o Cd, además de por la posible influencia que pudiera tener la actividad portuaria en los niveles de estos dos metales en las aguas costeras.

Tal y como se ha indicado en la metodología de análisis de aguas, se realizó el estudio de la concentración metálica total en aguas. En la **Tabla VI.7** se han recogido los valores medios, máximos y mínimos de la concentración total de metales analizados.

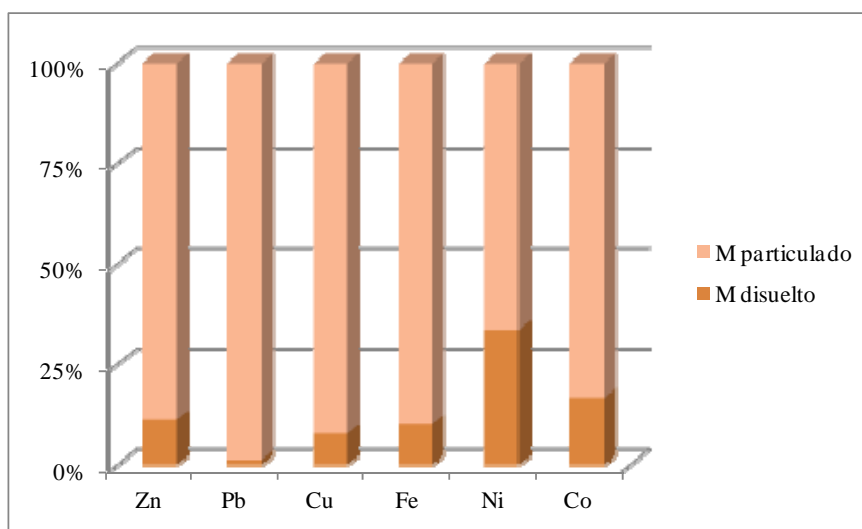
**Tabla VI.7.** Contenido metálico medio, máximo y mínimo en las aguas de la costa de la Bahía de Tánger próximas a la orilla ( $\mu\text{g/L}$ )

Metal	Media $\pm$ SD	Valor mínimo	Valor máximo
Zn (total)	44,86 $\pm$ 37,48	19,34	130,17
Pb (total)	38,76 $\pm$ 21,11	15,66	69,85
Cu (total)	20,23 $\pm$ 20,71	4,74	60,29
Fe (total)	16680 $\pm$ 11430	6170	42140
Cd (total)	< 0,13	--	--
Hg (total)	< 0,3	--	--
Ni (total)	5,81 $\pm$ 2,85	1,63	11,56
Co (total)	2,57 $\pm$ 3,67	0,24	11,11

Cabe destacar que las concentraciones de Hg y Cd estuvieron por debajo de los límites de detección de los métodos de análisis empleados (0,3 y 0,13 µg/L para el Hg y el Cd, respectivamente), por lo que el efecto de dilución de las aguas costeras hizo disminuir considerablemente los contenidos de estos dos metales. De esta forma se pudieron ordenar los metales totales en la costa de forma similar a lo que ocurría en los sedimentos:

$$\text{Fe} > \text{Zn} > \text{Pb} > \text{Cu} > \text{Ni} > \text{Co} > \text{Cd} \approx \text{Hg}$$

Hay que destacar que las concentraciones metálicas fueron superiores en la fase particulada que en la disuelta (**Figura VI.23**) para todos los metales estudiados, lo que es propio de un sistema de estuario en el que la mezcla del agua de los ríos con el agua del mar favorece la transferencia de los metales disueltos de las aguas hacia los sedimentos a través del material particulado. Destacó el elevado porcentaje de Ni disuelto siendo por ello más disponible. En las **Tablas A.10.2, A.10.3 y A.10.4** (ver **Anexo 10**) se han incluido los contenidos metálicos totales, disueltos y particulados de las muestras de agua estudiadas.



**Figura VI.23.** Distribución metal particulado/metal disuelto en las aguas de la costa de la Bahía de Tánger próximas a la orilla

En las Figuras VI.24, VI.25 y VI.26 se han representado los resultados obtenidos para ver mejor el efecto espacial en los mismos. En general, los contenidos metálicos disueltos fueron más elevados en los puntos de la desembocadura del río C, G y H, indicando así el aporte fluvial de los contaminantes. Cabe mencionar que el metal particulado se incrementó en la materia en suspensión cuando crecía la salinidad, siendo este un comportamiento conservativo típico de estuarios. Se puede observar también que las concentraciones totales de Fe, Zn y Pb en las muestras de agua de mar (A, B, D, E y F) fueron más altas comparándolas con las muestras de río (C, G y H), no ocurriendo así con el metal disuelto, que es el más disponible. De estos datos se puede concluir que la presencia de estos metales en la costa no procedía solamente del agua del río, sino también de la actividad portuaria que contribuía con en esta carga metálica, aunque principalmente sobre la fracción particulada que es menos tóxica

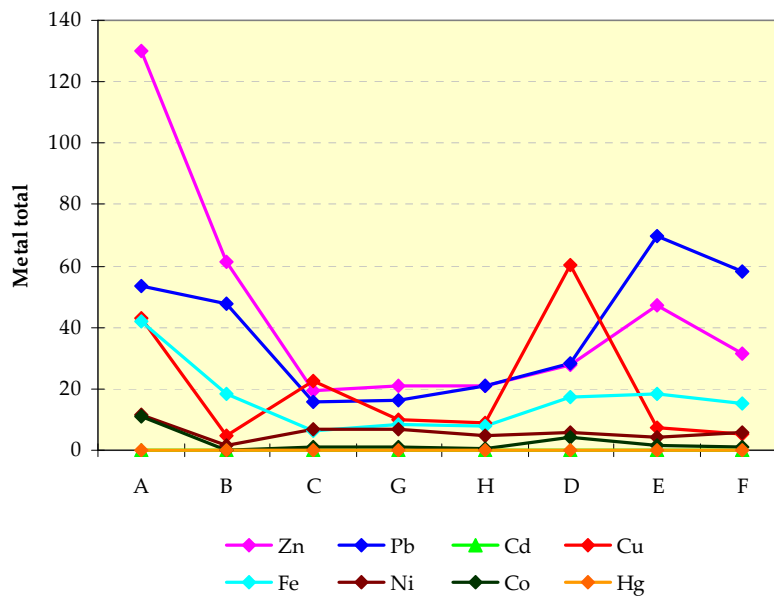


Figura VI.24. Concentración de metales totales en las aguas de la costa de la Bahía de Tánger próximas a la orilla (Zn, Pb, Cd, Cu, Ni, Co, Hg en  $\mu\text{g/L}$  y Fe en  $\text{mg/L}$ )

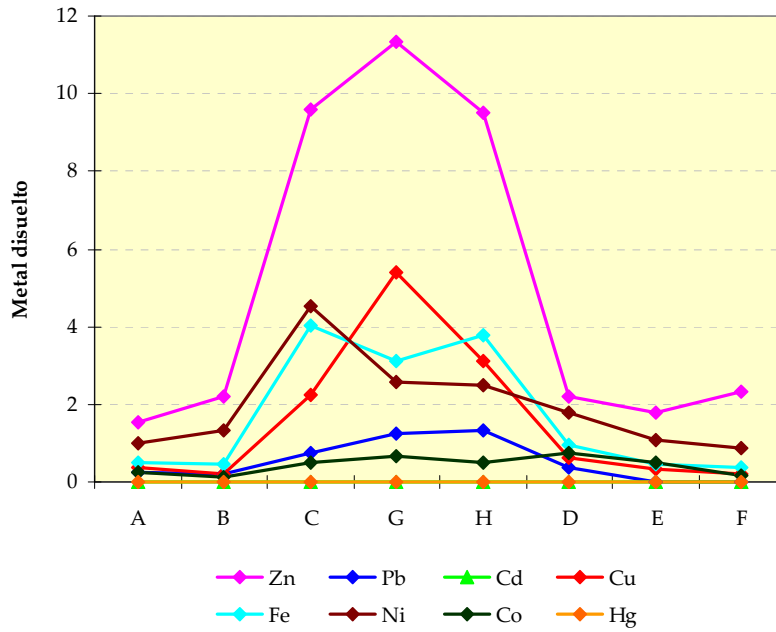


Figura VI.25. Concentración de metales disueltos en las aguas de la costa de la Bahía de Tánger próximas a la orilla (Zn, Pb, Cd, Cu, Ni, Co, Hg en  $\mu\text{g/L}$  y Fe en  $\text{mg/L}$ )

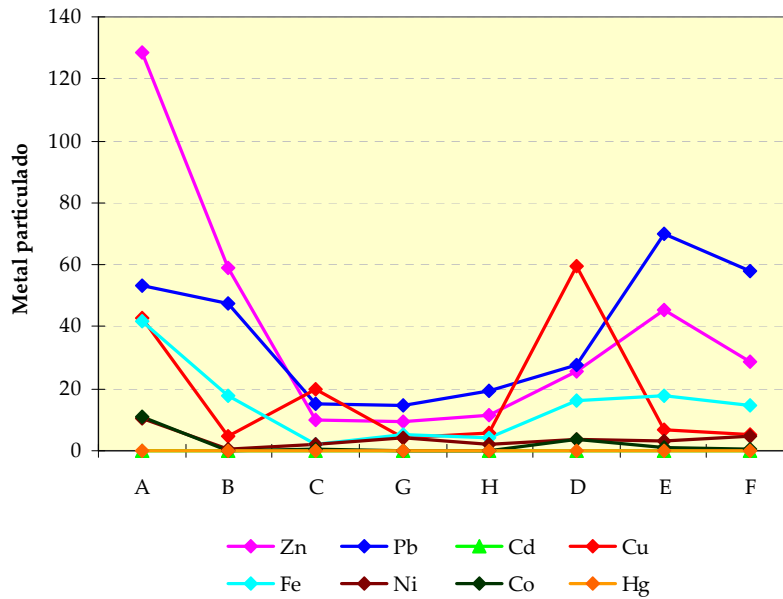


Figura VI.26. Concentración de metales particulados en las aguas de la costa de la Bahía de Tánger próximas a la orilla (Zn, Pb, Cd, Cu, Ni, Co, Hg en  $\mu\text{g/L}$  y Fe en  $\text{mg/L}$ )



Comparando las concentraciones totales de los metales estudiados se pudo observar que:

En el caso de Zn, los niveles se encontraron entre 19,34 y 130,17  $\mu\text{g/L}$ , existiendo pequeñas variaciones entre los puntos de muestreo (C, D, E, F, G y H) destacando el punto A de la zona portuaria y el punto B de influencia cercana. Los niveles de Pb analizados en las muestras de agua estuvieron dentro del rango 15,66 y 69,85  $\mu\text{g/L}$ , siendo más altos en los puntos A, B, E y F. Respecto a las concentraciones de Cu, los datos estuvieron comprendidos entre 4,75 y 60,29 siendo más altos en los puntos A y D. En el caso de los niveles de Fe los valores, comprendidos entre 6,17 mg/L y 42,14 mg/L, presentaron valores similares en los puntos B, D, E y F (15,1-18,3 mg/L), y en los puntos C, G y H (6,17-8,17 mg/L), destacando mayor concentración en el punto A (42,14 mg/L). En cuanto al Ni, los valores encontrados estuvieron entre 1,63 y 11,56  $\mu\text{g/L}$ , existiendo poca diferencia entre los puntos C, D, E, F, G y H (4,12- 6,87  $\mu\text{g/L}$ ), siendo más alto en el punto A (11,56  $\mu\text{g/L}$ ) y más baja en el punto B (1,63  $\mu\text{g/L}$ ). or último, los valores de Co estuvieron dentro del rango 0,24 y 4,29  $\mu\text{g/L}$  para todos los puntos, excepto en el punto A donde se detectó una mayor concentración para este metal (11,11  $\mu\text{g/L}$ ).

Comparando los contenidos totales detectados en cada uno de los puntos estudiados se pudo observar que el punto que presentaba mayor contaminación metálica era el punto A de la zona portuaria, aunque también se observaba el aporte desde el rig Mghogha.

Una vez determinado el contenido metálico de las muestras, se compararon los valores de concentración obtenidos para cada uno de los metales analizados, con los referenciados en la bibliografía para los ecosistemas acuáticos. En las **Tablas VI.8** y **VI.9** están recogidos los niveles de fondo tanto para agua de mar como para agua dulce según diferentes autores, los valores de concentraciones naturales y los valores medios encontrados en ríos Europeos y de Estados Unidos, los cuales presentan diferente grado de contaminación, por lo que pueden servir de comparación con otras zonas de la naturaleza afectadas por las actividades antropogénicas.

De igual forma y tras una comparación con los valores usuales en ríos no contaminados y otros que sí pueden estarlo, se han incluido los valores límites definidos la NOAA NS&T (US National Oceanic and Atmospheric Administration: Oficina norteamericana para la Administración Nacional del Océano y la Atmósfera), la cual ha elaborado una serie de índices (Screening Quick Reference Table for Inorganics in Water/Solids) [USEPA, 2002], basados en los criterios de la Agencia de Protección Medioambiental norteamericana (United States Environmental Protection Agency, USEPA) [USEPA, 1998], que recogen los valores a partir de los cuales es posible que las sustancias contaminantes puedan dar lugar a efectos perjudiciales sobre la vida acuática. Los niveles de calidad especificados por la NOAA y USEPA para aguas marinas se clasifican en dos categorías definidas, las cuales están relacionadas con los efectos agudo y crónico:

- *Criterio de Máxima Concentración (CMC)*: es la estimación de la máxima concentración de una sustancia en el agua a la cual puede ser expuesta una comunidad acuática “puntualmente” sin que se produzca ningún efecto no recomendable (efectos agudos).

- *Criterio de Concentración Continua (CCC)*: es la estimación de la concentración máxima de una sustancia en el agua a la cual puede estar expuesta una comunidad “indefinidamente” sin que se produzca ningún efecto no recomendable (efectos crónicos).

En este estudio, se compararon las concentraciones metálicas encontradas en las muestras de los puntos A, B, D, E y F con los valores de comparación de la **Tabla VI.8** por ser muestras de agua de mar, y de los puntos C, G y H tomados del río con los de la **Tabla VI.9** correspondientes a agua dulce. Los niveles totales se compararon con los valores de fondo y concentraciones naturales en estos ecosistemas, mientras que para los niveles disueltos se utilizaron los criterios NOAA de calidad de aguas CMC y CCC definidos para esta fracción metálica.

**Tabla VI.8.** Niveles de fondo, naturales y niveles guía de concentración de metales en agua de mar

Metal	Valores de fondo [Förstner y Wittmann, 1983] (µg/L)	Concentraciones naturales [Azcue, 1993] (µg/L)	Criterios NOAA-EPA de calidad de aguas [USEPA, 2002] <sup>a</sup> (µg/L)	
			CMC	CCC
Zn	0,01	<0,6	90	81
Cd	0,01	<0,025	40	8,8
Pb	0,005-0,015	<0,02	210	8,1
Cu	0,04-0,1	0,01	4,8	3,1
Fe	1,3	2,0	---	---
Ni	0,2	0,02-0,7	74	8,2
Co	0,04	0,02	---	---
Hg	0,011	<0,012	1,8	0,94

*a: referido a metal disuelto*

**Tabla VI.9.** Niveles de fondo, naturales y niveles guía de concentración de metales en agua dulce

Metal	Valores de fondo [Förstner y Wittmann, 1983] (µg/L)	Concentraciones naturales [Azcue, 1993] (µg/L)	Valores medios en ríos Europeos y de EEUU (µg/L) [Crompton, 2007]	Criterios NOAA-EPA de calidad de aguas [USEPA, 2002] <sup>a</sup> (µg/L)	
				CMC	CCC
	Agua dulce	Agua continental	Agua de río	Agua dulce	
Zn	10	10,0	0,9-630	120	120
Cd	0,07	0,1	0,03-5	2	0,25
Pb	0,2	3,0	0,13-60	65	2,5
Cu	1,8	3,0	0,11-200	13	9
Fe	<30	500	1-3924	---	1000
Ni	---	---	1,5-4,4	470	52
Co	---	---	0,2-10	---	---
Hg	0,01	0,1	0,009-1,3	1,4	0,77

*a: referido a metal disuelto*

Como puede observarse, excepto Cd y Hg que no se detectaron en estas muestras, los niveles totales de todos los metales analizados en todos los puntos, están por encima, y con concentraciones muy destacadas, de los valores de fondo y las concentraciones naturales tanto en agua de mar como en agua dulce. De igual forma, se compararon las concentraciones totales en los puntos de río C, G y H con los valores medios encontrados en ríos europeos y de Estados Unidos que presentan diferente grado de contaminación antropogénica, y se pudo observar que la contaminación antropogénica con Fe y Ni en el río muestreado es mucho más alta que la de los ríos europeos y de Estados Unidos, estando los niveles del resto de los metales situados dentro de los intervalos de comparación.

No obstante, los metales disueltos estuvieron por debajo de los niveles guía de calidad de aguas CMC y CCC, excepto el Fe en los puntos de la desembocadura del río C, G y H cuya concentración fue el triple o el cuádruple de los niveles permitidos definidos por NOAA para este metal en este tipo de aguas.

Como conclusión, cabe mencionar el aporte de contaminación metálica que recibe la costa de Tánger proveniente el Rio Mghoga y de los vertidos que se vierten en sus aguas. La actividad portuaria de la ciudad también es una influencia significativa en los niveles de los metales en las aguas. Como se ha comentado anteriormente, las concentraciones metálicas disminuyeron al pasar del agua dulce (agua de río) al agua de mar debido al aumento de salinidad, favoreciendo la distribución de los metales trazas en la materia particulada y facilitando la acumulación en el sedimento del ecosistema acuático. Estos fenómenos de precipitación hicieron que los niveles de metales en las aguas no superasen los niveles de calidad NOAA-EPA. Por este motivo, se decidió estudiar, además de las aguas, el contenido metálico en los sedimentos de la zona costera de la Bahía de Tánger para ver si en estos últimos se superaban los niveles de calidad establecidos, ya que parecía que recibían los aportes metálicos del río Mghogha, así como aportes significativos de metal particulado en la zona próxima al puerto de Tánger.

#### **VI.4.6. Resultados de análisis de las muestras de agua en la costa a cierta distancia de la orilla**

##### **VI.4.6.1. Parámetros físico-químicos**

Al igual que para los restantes muestreos se midieron los parámetros físico-químicos (pH, salinidad, temperatura y oxígeno disuelto) de las muestras de agua que fueron medidos “in-situ”. Los valores obtenidos se encuentran representados en la **Figura VI.27**. Como puede apreciarse, los valores de pH fueron valores usuales para zonas estuáricas excepto en el punto G que presentó un valor más bajo por apórtela confluencia de las aguas costeras con las fluviales. Igualmente, se observó como la salinidad oscilaba entre 34 y 37 g/L, típica para agua de mar, con la excepción del punto G, reflejando el mismo hecho con un valor mucho más bajo (11,1 g/L).

En las aguas muestreadas se detectaron pocas diferencias de temperatura oscilando entre 16,6 y 17,1 °C, valores típicos de aguas costeras en la estación de otoño de la zona. Igualmente se observó poca variación en los valores de oxígeno disuelto oscilando entre 7,7 y 8,3 mg/L, propio de aguas con cierto movimiento no contaminadas por materia orgánica.

Por último, y favorecido por las bajas temperaturas del momento de la toma de muestra y las lluvias recientemente caídas en la zona, los valores del carbono orgánico total de los puntos muestreados en la costa fueron poco significativos con un aporte medio de 0,5 mg/L, superando los contenidos medios descritos para aguas de distribución (0-3 mg/L) sólo en el punto G (6,31 mg/L), en la desembocadura del río Mghogha, por lo que se podía afirmar la presencia del aporte de contaminación orgánica en el agua desde este punto hacia la costa, la cual a su vez podía llevar asociado una incorporación de metales por formación de complejos orgánicos metálicos hacia la costa.

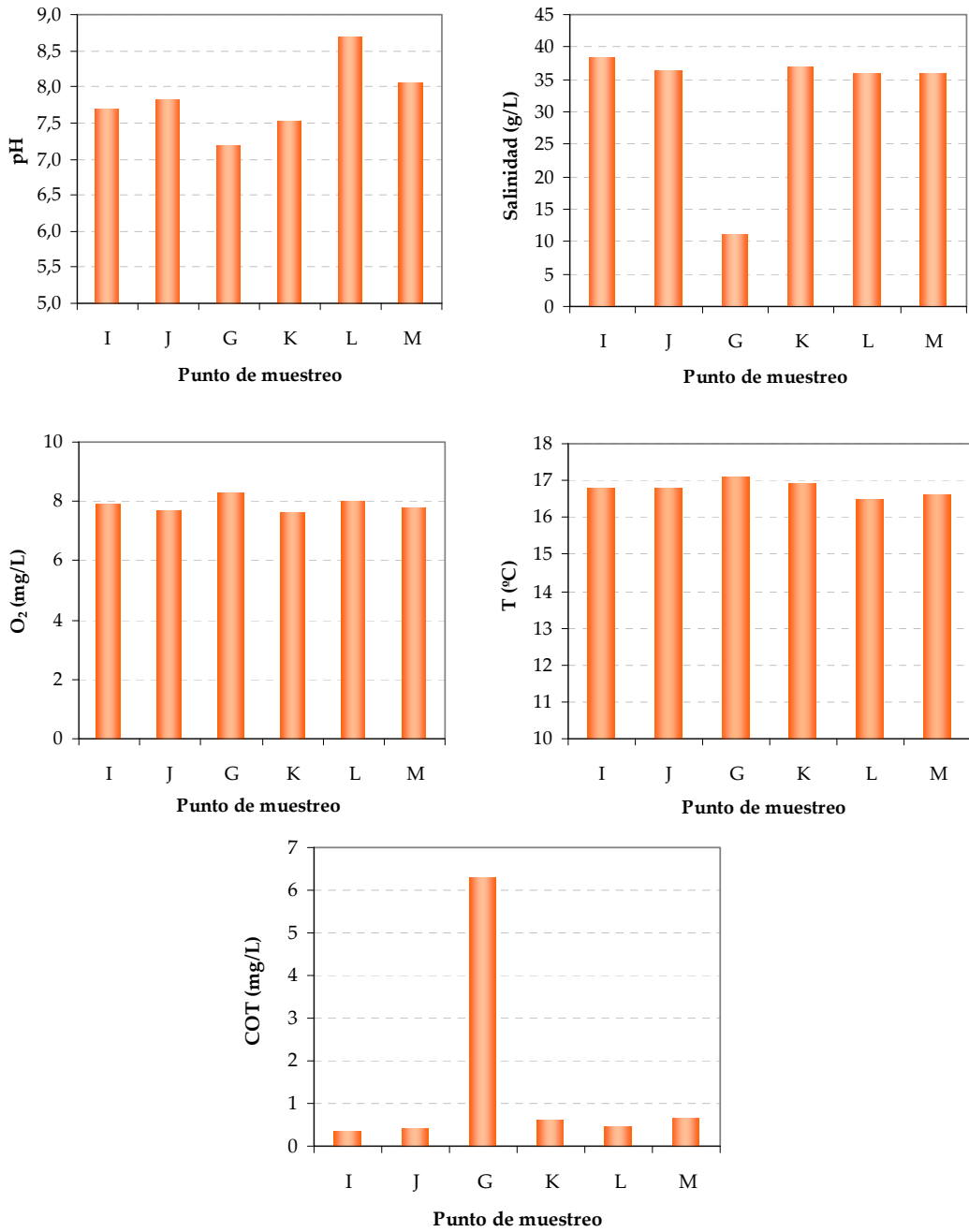


Figura VI.27. Valores de los parámetros físico-químicos en las aguas de la costa de la Bahía de Tánger a cierta distancia de la orilla

#### VI.4.6.2. Contenido metálico en las muestras de agua

En este estudio también se analizaron en las muestras de agua los metales de importancia medioambiental: Zn, Cd, Pb, Cu, Fe, Ni, Co y Hg determinando los niveles totales, disueltos y particulados de estos elementos, al igual que en el muestreo anterior. Los valores medios, mínimos y máximos del contenido metálico evaluado se recogen en la **Tabla VI.10**, así como la distribución del metal disuelto y particulado en la **Figura VI.28**.

**Tabla VI.10.** Contenido metálico medio, máximo y mínimo en las aguas de la costa de la Bahía de Tánger a cierta distancia de la orilla ( $\mu\text{g/L}$ )

Metal	Media $\pm$ SD	Valor mínimo	Valor máximo
Zn (total)	13,54 $\pm$ 5,61	6,13	22,02
Pb (total)	7,19 $\pm$ 2,78	4,49	10,8
Cu (total)	2,68 $\pm$ 3,28	0,70	8,97
Fe (total)	979,71 $\pm$ 509,24	324,68	1586,88
Cd (total)	0,37 $\pm$ 0,10	0,26	0,51
Hg (total)	< 0,3	--	--
Ni (total)	2,57 $\pm$ 0,94	2,03	4,48
Co (total)	0,22 $\pm$ 0,20	0,106	0,616

En las **Tablas A.11.2, A.11.3 y A.11.4** aparecen recogidos los resultados obtenidos para cada uno de los metales analizados (ver **Anexo 11**), y en las **Figuras VI.29, VI.30 y VI.31** se compararon gráficamente los niveles metálicos para cada uno de los puntos muestreados.

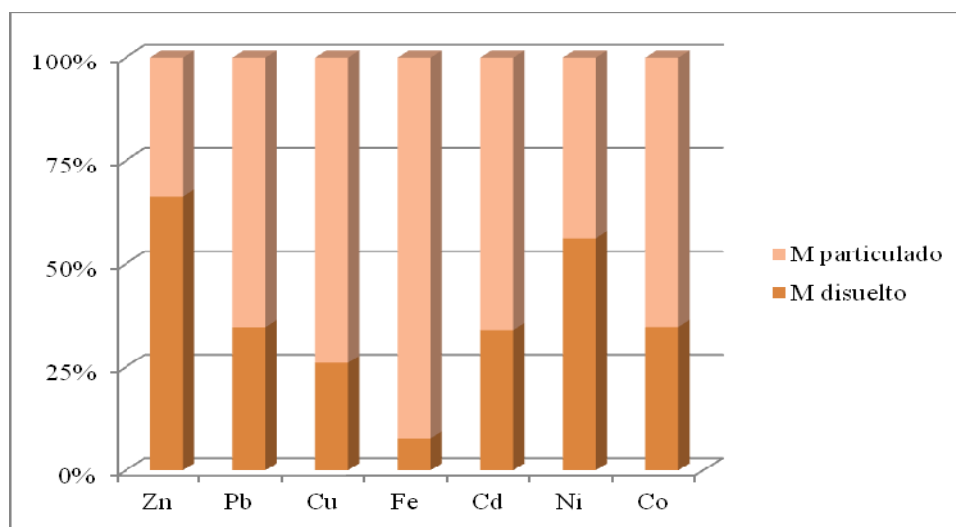
En este muestreo únicamente dejó de detectarse el mercurio. El resto de los metales fueron determinados proporcionando los siguientes valores medios expresados en  $\mu\text{g/L}$ : 13,54  $\pm$  5,61 de Zn; 7,19  $\pm$  2,78 de Pb; 2,68  $\pm$  3,28 de Cu; 979,71  $\pm$

509,24 de Fe;  $0,37 \pm 0,10$  de Cd;  $2,57 \pm 0,94$  de Ni; y  $0,22 \pm 0,20$  de Co. Esto permitió ordenar los niveles metálicos en las aguas de la siguiente forma:

$$\text{Fe} > \text{Zn} > \text{Pb} > \text{Cu} > \text{Ni} > \text{Cd} > \text{Co} > \text{Hg}$$

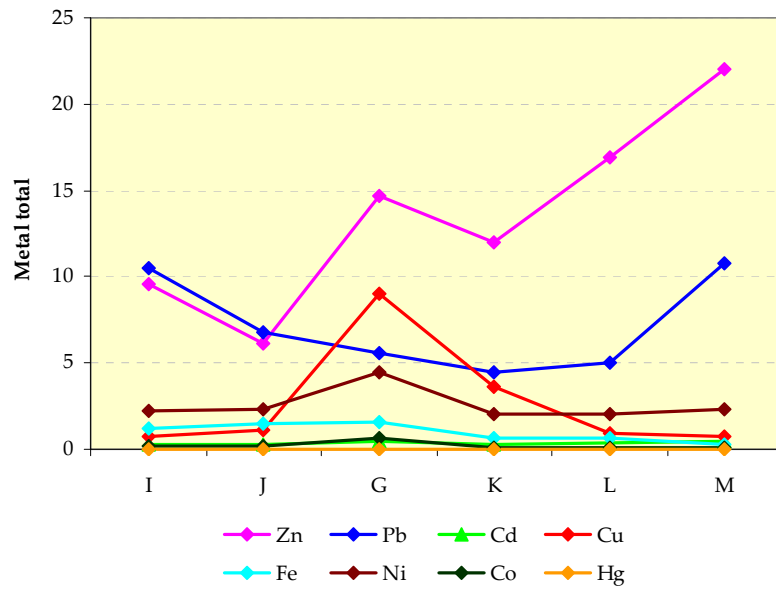
La diferencia observada en este resultado en relación con el muestreo segundo fue un ligero cambio entre el Cd y el Co, siendo ligeramente superior en este caso el nivel de Cd en las aguas.

Otra diferencia fácilmente observable es el cambio en la distribución del metal particulado y disuelto. En esta zona de la costa, y probablemente debido a la disminución en el material particulado de las aguas, desciende la proporción de metal asociado a dicha fase, encontrándose valores de metal disuelto muy superiores a los del anterior muestreo, sobre todo para Zn y Ni, incrementando su disponibilidad y toxicidad.

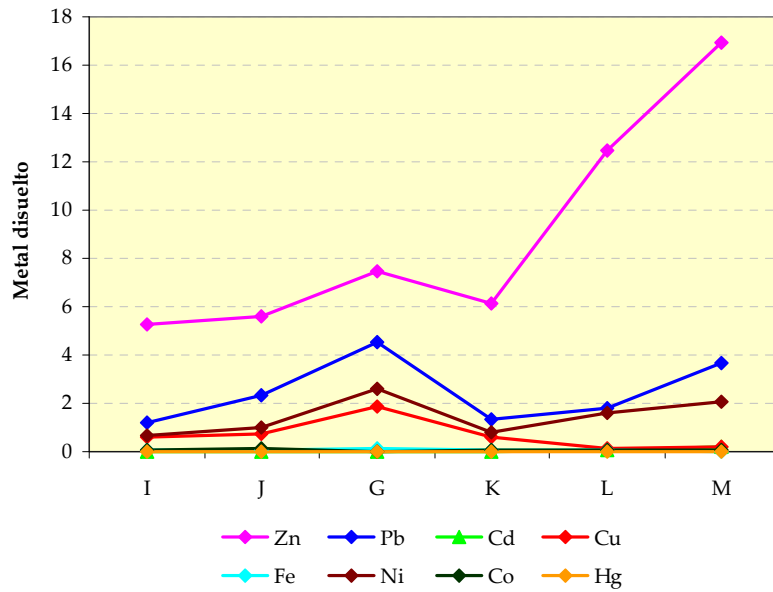


*Figura VI.28. Distribución metal particulado/metal disuelto en las aguas de la costa de la Bahía de Tánger a cierta distancia de la orilla*

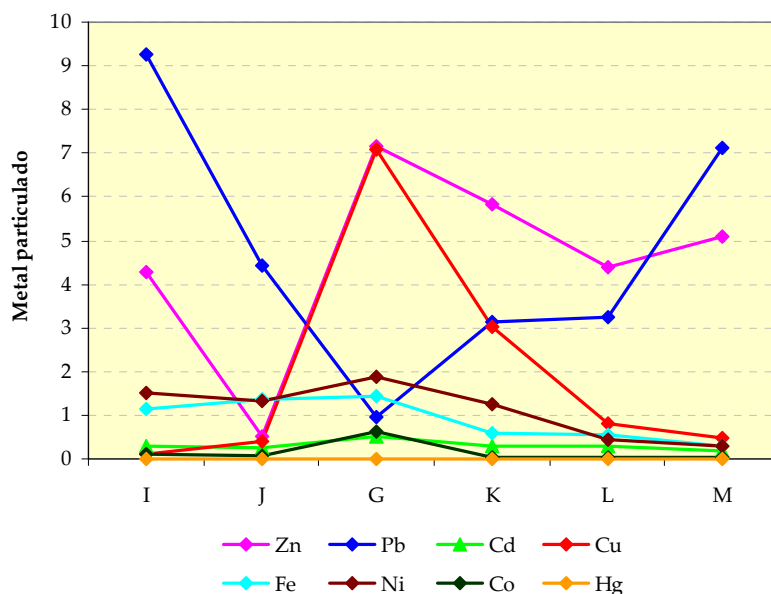




**Figura VI.29.** Concentración de metales totales en las aguas de la costa de la Bahía de Tánger a cierta distancia de la orilla (Zn, Pb, Cd, Cu, Ni, Co, Hg en µg/L y Fe en mg/L)



**Figura VI.30.** Concentración de metales disueltos en las aguas de la costa de la Bahía de Tánger a cierta distancia de la orilla (Zn, Pb, Cd, Cu, Ni, Co, Hg en µg/L y Fe en mg/L)



**Figura VI.31.** Concentración de metales particulados en las aguas de la costa de la Bahía de Tánger a cierta distancia de la orilla (Zn, Pb, Cd, Cu, Ni, Co, Hg en  $\mu\text{g/L}$  y Fe en  $\text{mg/L}$ )

Analizando además los resultados obtenidos para cada uno de los puntos muestreados, puede observarse claramente que, excepto Zn y Pb, todos los metales estudiados presentaban concentraciones más altas en el punto G del río que en el resto de los puntos, lo que indicaba el aporte de estos metales a las aguas costeras. En los puntos I y J cercanos a la zona portuaria se detectaron además concentraciones mayores de Fe y Ni, en comparación con los demás puntos. La comparación de las concentraciones metálicas totales y disueltas con los criterios de calidad internacionales permitió concluir que:

En el punto G en la desembocadura del río se superaban los niveles de fondo y concentraciones naturales en agua dulce para todos los metales. Sin embargo todos estos niveles se encontraron dentro de los intervalos de las concentraciones frecuentes de los ríos europeos y de Estados Unidos. La comparación de la fracción metálica disuelta con los niveles guía de calidad de aguas mostró que únicamente el Pb superaba los niveles CCC definidos por NOAA. Las concentraciones de Cd, Co y Hg

en este punto estuvieron por debajo de los límites de detección de estos metales. En los puntos I, J, K, L y M en la costa, los niveles totales de todos los metales estaban por encima de los valores de fondo y las concentraciones naturales de agua de mar, y las concentraciones disueltas no llegaron a superar ninguno de los niveles guía de calidad de agua. Por tanto, podría decirse que la renovación de las aguas de la costa permitía la dilución de los efluentes contaminantes recibidos desde el río Mghogha, aunque probablemente también se diera cierta acumulación metálica en los sedimentos.

#### VI.4.7. Resultados de análisis de las muestras de sedimentos de la costa de la Bahía de Tánger

Como se ha comentado anteriormente, durante el tercer muestreo se tomaron dos muestras de sedimentos en el área del punto A, en la zona portuaria para estudiar la contaminación metálica en los sedimentos de esta zona.

##### VI.4.7.1. Granulometría y carga orgánica

Los resultados del estudio de la granulometría, así como la determinación de la carga orgánica de estas muestras están recogidos en la **Tabla VI.11**.

**Tabla VI.11.** Granulometría y materia orgánica de las muestras de sedimento de la zona del punto A

Porcentaje (%)			Muestra		Promedio
			A1	A2	
Granulometría	Grava	> 2 mm	0,00	0,00	0,00
	Arena	2-0,063 mm	62,36	59,43	60,90
	Limo-Arcilla	< 0,063 mm	37,64	40,57	39,11
Materia orgánica			11,52	9,36	10,44

En esta tabla puede observarse una composición similar para las dos muestras analizadas con un porcentaje importante de fracción limo-arcillosa en comparación con

las muestras de sedimento del río Mghogha (<13%), al igual que valores más o menos parecidos de materia orgánica que están por encima de los encontrados en los sedimentos de este río. Los valores encontrados (11,52 y 9,36%) fueron similares a los encontrados en la materia orgánica de los sedimentos de Algeciras, descritos en la bibliografía con un contenido entre un 7 y un 15% [Díaz-de Alba y col., 2011]. Ambas zonas son parecidas y la actividad portuaria es semejante, por lo que los valores estaban en consonancia.

#### VI.4.7.2. Caracterización mineralógica

Se realizó un análisis mineralógico por difracción de rayos X para las dos muestras de sedimento de la zona del punto A con la finalidad de identificar el tipo de arcilla presente en él. Los resultados de este estudio están reflejados en la **Tabla VI.12** donde puede apreciarse que ambas muestras estaban constituidas principalmente por cuarzo en mayor proporción, clorita-serpentina, mica, calcita y moscovita, además de la presencia de la halita en la muestra A1 y de la albita en la muestra A2 propio de sedimentos marinos.

**Tabla VI.12.** Análisis mineralógico de las muestras de sedimento del punto A

Muestra	Compuesto	Fórmula	Porcentaje (%)
A1	Cuarzo	SiO <sub>2</sub>	49,5
	Moscovita-2M1	(K,Ba,Na) <sub>0,75</sub> (Al,Mg,Cr,V) <sub>2</sub> (Si,Al,V) <sub>4</sub> O <sub>10</sub> (OH,O) <sub>2</sub>	16,4
	Calcita	CaCO <sub>3</sub>	14,8
	Clorita-Serpentina	(Mg,Al) <sub>6</sub> (Si,Al) <sub>4</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>8</sub>	9,9
	Mica	K-Mg-Fe-Al-Si-O-H <sub>2</sub> O	6,8
	Halita	NaCl	2,6
A2	Cuarzo	SiO <sub>2</sub>	40,1
	Calcita	CaCO <sub>3</sub>	22,5
	Moscovita	KAl <sub>2</sub> (Si <sub>3</sub> Al)O <sub>10</sub> (OH) <sub>2</sub>	18,3
	Albita	Na <sub>0,986</sub> (Al <sub>1,005</sub> Si <sub>2,995</sub> O <sub>8</sub> )	8,4
	Clorita-Serpentina	(Mg,Al) <sub>6</sub> (Si,Al) <sub>4</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>8</sub>	5,9
	Mica	K-Mg-Fe-Al-Si-O-H <sub>2</sub> O	4,9

**VI.4.7.3. Análisis de metales pesados: contenido total y especiación metálica**

Siguiendo los protocolos de toma de muestra y análisis de sedimento se determinó el contenido metálico total de las dos muestras de sedimento de la zona del punto A aplicando la digestión ácida a la fracción limo-arcillosa en primer lugar, y mediante aplicación de la digestión asistida por microondas en segundo lugar. Los resultados obtenidos tras la aplicación de cada método están recogidos en la **Tabla VI.13**. De los valores encontrados para cada uno de los metales analizados, puede decirse que ambas digestiones fueron adecuadas para poder medir los compuestos presentes en las aguas.

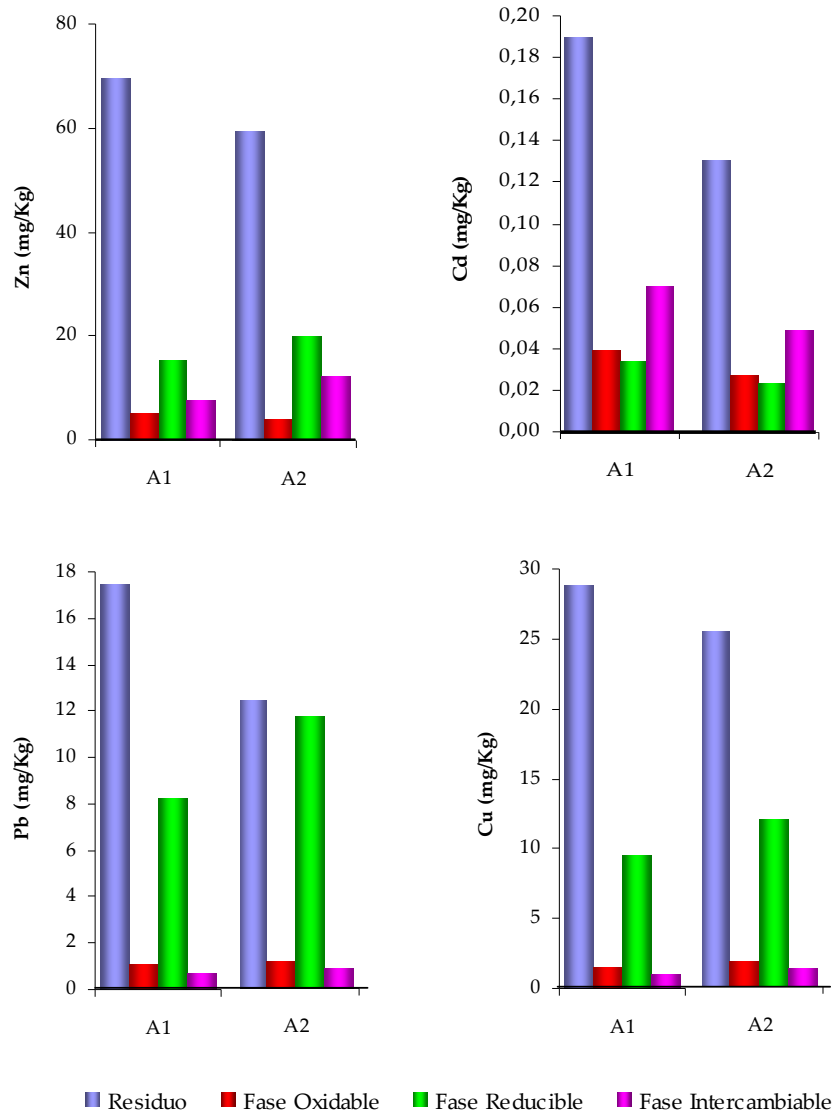
*Tabla VI.13. Contenido metálico total en las muestras de sedimento*

Muestra	Metal	Concentración (mg/Kg) (n=2)	
		Digestión ácida	Digestión por microondas
A1	Zn	67,17 ± 6,19	103,34 ± 1,42
	Cd	0,15 ± 0,01	0,25 ± 0,04
	Pb	13,04 ± 2,04	17,73 ± 0,10
	Cu	39,12 ± 6,51	45,03 ± 2,36
	Fe	35328,9 ± 3469,4	43601,1 ± 773,4
	Ni	35,17 ± 1,44	45,12 ± 1,50
	Co	10,26 ± 0,89	14,14 ± 0,48
	Hg	0,057 ± 0,009	0,123 ± 0,005
A2	Zn	100,27 ± 4,3	107,87 ± 2,1
	Cd	0,32 ± 0,11	0,271 ± 0,001
	Pb	20,98 ± 2,56	20,46 ± 0,82
	Cu	38,80 ± 1,25	43,08 ± 1,40
	Fe	51547,3 ± 6579,9	39747,7 ± 2359,4
	Ni	36,93 ± 1,29	38,63 ± 1,12
	Co	11,60 ± 0,37	12,37 ± 0,27
	Hg	0,052 ± 0,016	0,156 ± 0,009

Una vez determinados los niveles totales de los metales estudiados, se procedió a estudiar la especiación metálica para evaluar todas las fracciones metálicas presentes en las dos muestras de sedimentos mediante aplicación de los procesos de extracción secuencial BCR explicados anteriormente, que separa las especies metálicas en cuatro fases dando una información detallada sobre la disponibilidad físico-química y biológica de los metales en sedimentos. Los metales presentes en la primera fase intercambiable (metales solubles en agua y ácidos débiles, y asociados a carbonatos) son los que constituyen la fracción más lábil y disponible en el sedimento, les sigue los metales asociados a óxidos de hierro y manganeso (fase II reducible), y los asociados a la materia orgánica y sulfhídrica (fase III oxidable). Por último, los metales de la fase residual (fase IV) del sedimento son los menos disponibles.

Los resultados del estudio de la especiación realizado para las dos muestras de sedimento A1 y A2 se detallan en la **Tabla A.11.5** (ver **Anexo 11**) y se muestran en las **Figuras VI.32** y **VI.33** donde aparecen representados los niveles metálicos en mg/Kg de las cuatro fases de la extracción secuencial, así como los porcentajes de cada una de las fases con respecto al contenido metálico total para las dos muestras estudiadas, respectivamente.

En la **Tabla VI.14** se compara el valor de la suma de las fases con los niveles totales medidos después de la digestión ácida y la digestión por microondas de las muestras de sedimentos tomando la media de los niveles metálicos de las dos muestras A1 y A2. De esta tabla puede observarse que para todos los metales el valor de la suma es similar a las concentraciones totales medidas empleando la digestión ácida y la digestión por microondas excepto en el caso de Pb y Hg, debido probablemente a la contaminación o pérdidas de la muestra durante el proceso de la extracción secuencial, respectivamente.



**Figura VI.32.** Concentración de Zn, Cd, Pb y Cu en cada fase de la extracción secuencial BCR de las muestras A1 y A2

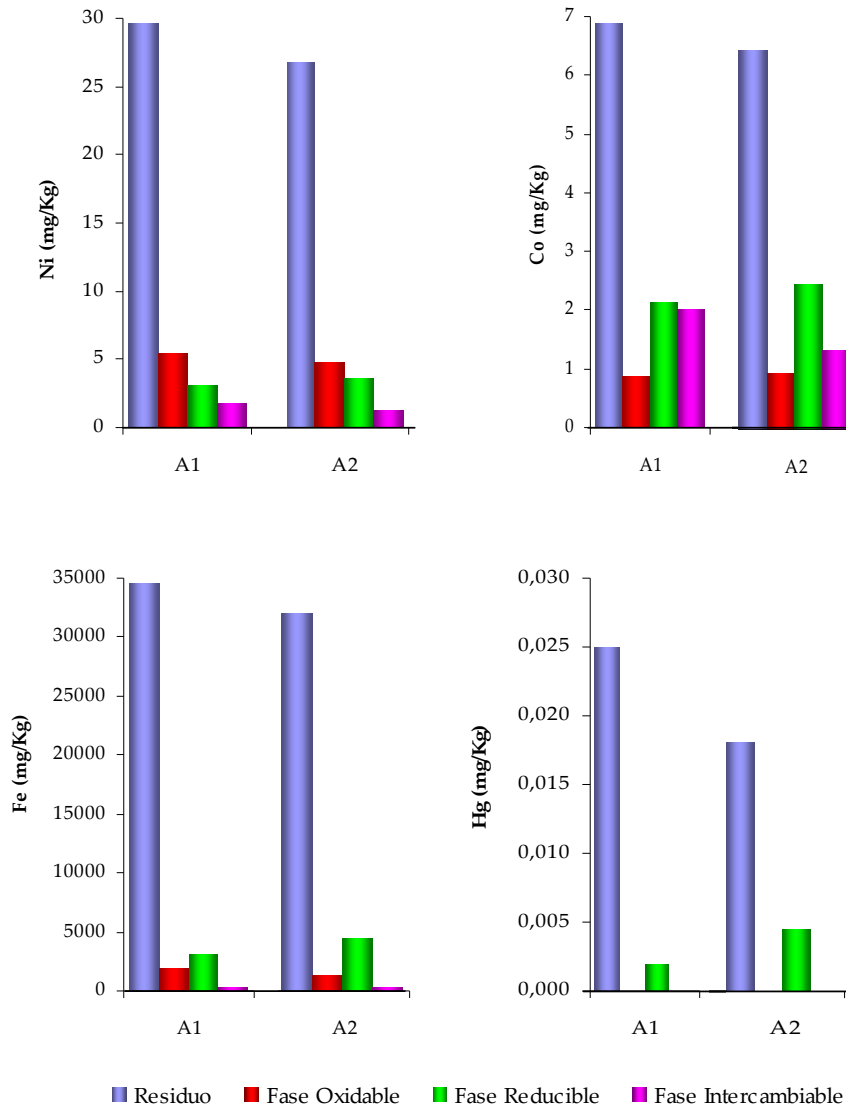
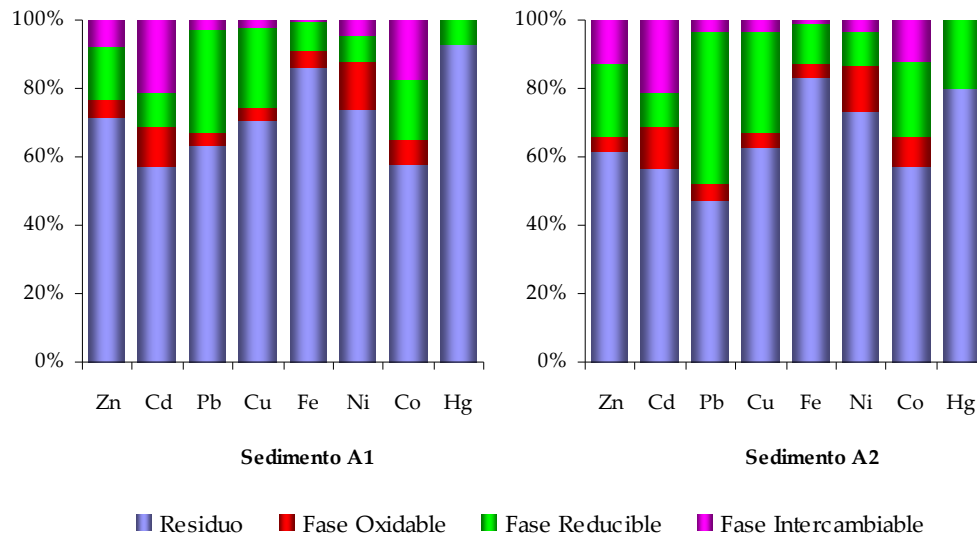


Figura VI.32 (Cont.). Concentración de Ni, Co, Fe y Hg en cada fase de la extracción secuencial BCR de las muestras A1 y A2





**Figura VI.33.** Porcentajes metálicos en cada fase de la extracción secuencial BCR de las muestras A1 y A2

**Tabla VI.14.** Comparación del valor de la suma de fases con los valores de los totales obtenidos mediante digestión ácida y digestión por microondas

Metal	Concentración (mg/Kg) (n=2)		
	Suma de fases	Digestión por microondas	Digestión ácida
Zn	96,5 ± 1,09	105,61 ± 3,20	83,72 ± 23,41
Cd	0,28 ± 0,07	0,26 ± 0,02	0,24 ± 0,12
Pb	26,75 ± 1,01	19,10 ± 1,93	17,01 ± 5,61
Cu	40,61 ± 0,45	44,06 ± 1,38	38,96 ± 0,22
Fe	39002,9 ± 1316,9	41674,4 ± 2724,8	43438,1 ± 11468,1
Ni	38,21 ± 2,57	41,88 ± 4,59	36,05 ± 1,25
Co	11,56 ± 0,50	13,28 ± 1,28	10,93 ± 0,95
Hg	0,025 ± 0,004	0,140 ± 0,023	0,055 ± 0,004

A partir de estos resultados se pueden hacer una serie de observaciones que se recogen a continuación:

En la **Tabla VI.13**, se puede observar que el metal presente en mayor cantidad en las dos muestras estudiadas es el Fe con un total de 39-43 g/Kg por ser un elemento constituyente del sedimento. Seguidamente, se encuentran Zn, Cu, Ni, Pb, Co, Cd y Hg con concentraciones muy bajas en comparación con los demás metales. Este orden es similar al encontrado para los niveles de metal en aguas, con la excepción del Pb que presentó mayores concentraciones de Cu en las mismas.

Comparando los valores obtenidos con los referenciados (**Tabla VI.5**), se observa que los niveles de todos los metales en las muestras de sedimento de la zona del punto A estaban por debajo de los valores de fondo y naturales descritos para los sedimentos no contaminados de tipo esquisto. Por otra parte, todos los metales (Zn, Cd, Pb, Fe, Co y Hg) estuvieron por debajo de los niveles guía para la protección de la vida acuática y los niveles guía NS&T con efectos biológicos, excepto en el caso de Cu y Ni donde se superaron los valores guía de calidad de sedimento (ISQG) y las concentraciones con efectos biológicos bajos (ERL) presentando una cierta toxicidad para la biota acuática.

Comparando los valores metálicos en las distintas fracciones de las dos muestras de sedimento (**Figura VI.33**) se puede observar que todos los metales estudiados se encontraron de forma mayoritaria en la fase residual, lo cual significa que están fuertemente incluidos en la estructura cristalina del sedimento y son difíciles de removilizar. A continuación se realiza una comparación de la distribución de estos metales en las diferentes fases de la extracción secuencial: intercambiable, reducible y oxidable.

- Para los metales Zn, Pb, Cu, Fe, Co y Hg, después de la fracción residual, predominó la fase reducible con cierta disponibilidad y tendencia a pasar a la columna de agua.
- En el caso de Cd predominó la fase intercambiable biodisponible para la biota acuática.
- En relación al Ni, cabe destacar que la fase predominante, después de la residual como para el resto, fue la fase oxidable donde el metal se asocia a la materia orgánica y

sulfhídrica, por lo que existe una menor tendencia a pasar a la columna de agua siendo poco disponible para la biota acuática..

Si se comparan estos resultados con los obtenidos en las muestras de agua del mismo punto, se puede observar que, excepto Hg que no fue detectado en las muestras de agua, todos los metales analizados se encontraron mayoritariamente en la fracción particulada asociados a los sólidos en suspensión, y en los sedimentos se encontraron de forma mayoritaria en la fase inerte siendo en ambos casos menos disponibles a la biota acuática. Sin embargo, comparando los niveles que presentan estos metales en la fase intercambiable con los referenciados (**Tabla VI.6**), se puede observar que, con la excepción de Fe, los valores de concentración de todos los metales estuvieron por encima de los valores de fondo y naturales descritos para los sedimentos no contaminados de tipo esquisto, y superaron algunos de los niveles guía para la protección de la vida acuática y los niveles guía NS&T con efectos biológicos:

- Para Zn y Ni, se superaron los niveles guía para la protección de la vida acuática (ISQG y PEL) y los niveles guía NS&T con efectos biológicos (ERL y ERM).
- En el caso del Cu y Cd, se superaron los niveles guía para la protección de la vida acuática (ISQG y PEL) y las concentraciones con efectos biológicos bajos (ERL).
- En relación al Pb, se superaron los valores guía de calidad del sedimento (ISQG) y las concentraciones con efectos biológicos bajos (ERL).

Como conclusión por tanto, se puede decir que el río Mghoga recibe importantes aportes de contaminación antropogénica e industrial, tanto metálica como de naturaleza orgánica. Esta contaminación es transportada hacia la costa donde se diluye/precipita y disminuye en toxicidad, pasando de forma significativa al sedimento donde se va acumulando. Ello hace que los sedimentos de la bahía de Tánger sean un sumidero de esta contaminación cuyo potencial tóxico puede incrementarse si continúan estos procesos. Por tanto, parece necesario que se articulen, tal y como ya se está haciendo desde el estado marroquí, las medidas necesarias para disminuir estas descargas en la costa, pues si bien durante los muestreos no parecía que la toxicidad fuera muy peligrosa, lo es potencialmente y puede serlo en un futuro.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

**Achab M.**, El Arrim A., El Moumni B. y El Hatimi I. Metallic pollution affecting the bay of Tangier and its continental emissaries: anthropic impact. *Thalassas* 23, 23-36 (2007).

**Achab M.**, EL Moumni B., EL Arrim A. y Gutiérrez Mas J. M. Répartition des faciès sédimentaires récents en milieu marin côtier: exemple des baies de Tanger (NW-Maroc) et de Cadix (SW-Espagne). *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Terre* 27, 55-63 (2005).

**Agaz Consultores.** Diagnóstico del tejido empresarial del norte de Marruecos (Región Tánger-Tetuán). Granada (2010).

**Aggett J.** y Giennys A. Detailed model for the mobility of arsenic in lacustrine sediments based on measurements in lake Ohakuni. *Environmental Science & Technology* 19, 231-238 (1985).

**Allen H. E.** Importance of clean techniques and speciation in assessing waters quality for metals. *Human and Ecological Risk Assessment* 6, 989-1002 (2000).

**Amendis.** La station de traitement des eaux usées de Tanger. Journée d'étude sur la Pollution Marine. Fondation SIGMA, 66-68 (2005).

**Amendis.** Système de dépollution de la Baie de Tanger. Veolia Environnement (2009).

**Amore C.**, Castagna A., Currao A., Giuffrida E., Sarro F. y Sinatra F. Relationship between heavy metals and sediments in the southern Ionian continental shelf. *Marine Pollution Bulletin* 14, 352-356 (1983).

**Amri N.**, Benslimane M., Zaoui H., Hamedoun M. y Outiti B. Evaluation of the heavy metals accumulate in samples of the sediments, soils and plants by ICP-OES with the average Sebou. *Moroccan Journal of Condensed Matter* 8, 43-52 (2007).

**Anajjar E.**, Chiffolleau J. F., Bergayou H., Moukrim A., Burgeot T. y Cheggour M. Monitoring of trace metal contamination in the Souss Estuary (South Morocco) using the Clams *Cerastoderma edule* and *Scrobicularia plana*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 80, 283-288 (2008).

**Aouarram A.** Aplicación de ligandos orgánicos en la determinación de metales pesados en sistemas acuáticos. Monitoreo de metales pesados en el norte de Marruecos. Tesis Doctoral. Universidad de Cádiz (2010).

**Araújo M. F. D., Bernard P. C. y Van Grieken R. E.** Heavy metal contamination in sediments from the Belgian coast and Scheldt Estuary. *Marine Pollution Bulletin* 19, 269-273 (1988).

**Azapagic A., Perdan S. y Clift R.** Sustainable Development in Practice: Case Studies for Engineers and Scientists, *John Wiley & Sons, Chichester* (2004).

**Azcue J. M.** Metales en Sistemas Biológicos. Metales en el medio Ambiente, Ed. PPU, Barcelona (1993).

**Barakat A., El Baghdadi M., Rais J. y Nadem S.** Assessment of Heavy Metal in Surface Sediments of Day River at Beni-Mellal Region, Morocco. *Research Journal of Environmental and Earth Sciences* 4, 797-806 (2012).

**Bellair P. y Pomerol C.** Eléments de Géologie, 'Ed.' Armand Colin: Paris (1977).

**Ben Bouih H., Nassali H., Leblans M. y Srhiri A.** Contamination en métaux traces des sédiments du lac Fouarat (Maroc). *Afrique Science* 1, 109-125 (2005).

**Benhamou Y., Rodríguez-Barroso M. R., Quiroga J. M., García-Morales J. L. y El Moumni B.** Influencia de vertidos de efluentes sin depuración en la contaminación de cauces de ríos en Tánger. *Residuos* 96, 62-71 (2007).

**Berrow M. L. y Mitchell R. L.** Location of trace elements in soil profiles: total and extractable contents of individual horizons. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh: Earth Science* 71, 103-121 (1980).

**Bilos C., Colombo J. C. y Rodríguez M. J.** Trace metals in suspended particles, sediments and Asiatic clams of the Río de la Plata Estuary, Argentina. *Environmental Pollution* 99, 1-11 (1998).

**Blinda M.** Pollution tellurique du littoral nord-ouest du Maroc entre Tanger et Tétouan: Caractérisation, Impact sur l'Environnement et Proposition de Solutions. Tesis doctoral, Universidad Mohammed V, Rabat (Marruecos) (2007).

**Bloundi M. K., Duplay J. y Quaranta G.** Heavy metal contamination of coastal lagoon sediments by anthropogenic activities: The case of Nador (East Morocco). *Environmental Geology* 56, 833-843 (2009).

**Bouchaou L., Michelot J. L., Qurtobi M., Zine N., Gaye C. B., Aggarwal P. K., Marah, Zerouali A., Taleb H. y Vengosh A.** Origin and residence time of groundwater in the Tadla basin (Morocco) using multiple isotopic and geochemical tools. *Journal of Hydrology* 379, 323-338 (2009).

**Bouزيد S., Andaloussi H., Aboumaria K. y Er-Raioui H.** Urban effluent pollution from the Mghogha flow of the west, margin of the Mediterranean sea, Morocco. *African Journal of Environmental Science and Technology* 2, 116-123 (2008).

- Brindley** G. W. y **Brown** G. Crystal Structures of Clay Minerals and their X-Ray Identification. *Mineralogical Society, London, cap. 5 (1980)*.
- Buchanan** J. B. y **Kain** J. M. Methods for the Study of Marine Benthos. In IBP Handbook No. 16, ed.; Holme, N. A.; Mc Intyre, A. D., 'Ed.' London; Ch. 3 (1971).
- Buchmann** M. F. NOAA Screening Quick Referente Tables, NOAA OR&R Report 08-1. Seattle WA, Office of Response and Restoration Division, National Oceanic and Atmospheric Administration, 34 pages (2008).
- Calmano** W., **Ahlf** W. y **Förstner** U. Sediment quality assessment: Chemical and biological approaches. In: Calmano W., Förstner U. (Ed's) Sediments and toxic substances. *Springer, Berlin Heidelberg New York*, pp 1-35 (1996).
- Calmano** W., **Hong** J. y **Förstner** U. Binding and mobilization of heavy metals in contaminated sediments affected by pH and redox potential. *Water Science and Technology* 28, 223-235 (1993).
- Campos** J. M., **Usero** J. y **Gracia** I. Contaminación por metales en sedimentos del río Tinto. *Tecnología del agua. 2º monográfico*, 49-56 (1990).
- Canadian Sediment Quality Guidelines** for the protection of Aquatic life. Canadian Council of Ministers of Environment (2002).
- Cerezo Monje** B., **Espino Ramírez** R. y **Silvera Roig** C. Informe del agua en Marruecos. Agosto (2011).
- Craig** P. J. Organometallic compounds in the environment. *Logman Harlow* pp. 76 (1986).
- Crompton** T. R. Toxicants in aqueous ecosystems. A Guide for the Analytical and Environmental Chemist. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg (2007).
- Davidson** M. C., **Lorna** E. W. y **Ure** A. M. Effect of sample preparation on the operational speciation of cadmium and lead in freshwater sediment. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 363, 134-136 (1999).
- De Groot** A. J., **Zchuppe** K. H. y **Salomons** W. Standarisation of methods of analysis of heavy metals in sediments. En: Sediment/freshwater interaction. *Hydrobiologia* 92, 689-695 (1982).
- Dean** W. E. Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: comparison with other methods. *Journal of Sedimentary Petrology* 14, 242-248 (1974).
- DG Environment European Comission**. Support to DG Environment for development of the Mediterranean De-pollution Initiative "Horizon 2020". N° 070201/2006/436133/MAR/E3. LDK ECO S.A. 143-155 (2006).

**Díaz-de Alba M.**, Galindo-Riaño M. D., Casanueva-Marenco M. J., García-Vargas M. y Kosore C. M. Assessment of the metal pollution, potential toxicity and speciation of sediment from Algeciras Bay (South of Spain) using chemometric tools. *Journal of Hazardous Materials* 190, 177-187 (2011).

**Douhri H.** y Sayah F. The use of enzymatic biomarkers in two marine invertebrates *Nereis diversicolor* and *Patella vulgata* for the biomonitoring of Tangier's bay (Morocco). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 394-399 (2009).

**Drifmeyer M. S.** y Odum W. E. Lead, Zinc, and Manganese, in Dredge-spoil Pond Ecosystems *Environmental Conservation* 2, 39-45 (1975).

**El Arrim A.**, Raissouni A., Wahbi M., Maatouk M., Afaïlal Tribak A. y El Moumni B. Distribution métallique dans les eaux et les sédiments du littoral de la baie de Tanger. Rif nord occidental Maroc. *Rapport Commission International pour l'exploration scientifique de la Mer Méditerranée* 39, 243 (2010).

**El Falaki K.**, Perrin C., Belkesam L., Peisajovich A. y Martin G. Impacto de los detergentes sobre los sedimentos. Movilización de metales. *Tecnología del agua* 128, 25-31 (1994).

**El Hatimi I.**, Achab M. y El Moumni B. Impact des émissaires et canalisation sur l'environnement de la baie de Tanger (Maroc): approche géochimique. *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat Section Sciences de la Terre* 24, 49-58 (2002).

**Förstner U.** Metal speciation. General concepts and applications. En: Proceedings of the Workshop of the sequential extraction of trace metals in soils and sediments. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 51, 5-23 (1993).

**Förstner U.** y Salomons W. Trace metals analysis on polluted sediments. I. Assessment of sources and intensities. *Environment Technology Letters* 1, 494-505 (1980).

**Förstner U.** y Wittman G. T. W. Metal Pollution in the Aquatic Environment, 'Ed.' Spring-Verlag. Berlin. Heidelberg New York (1979).

**Förstner U.** y Wittmann G. T. W. Heavy metal pollution in the aquatic environment (2<sup>nd</sup> Ed). Spring-Verlag. Berlin. Heidelberg New York pp 486 (1981).

**Förstner U.** y Wittmann G. T. W. Metal Pollution in the Aquatic Environment. Second revised Edition. Springer- Verlag, Berlín-Alemania (1983).

**Gan J.-L.**, Jia X.-P., T. Jia, Lin Q. y Cai W.-G. Enormous PCBs increase in oysters from the coast of Guangdong, China. *Marine Pollution Bulletin* 62, 1333-1336 (2011).

- Garnier J.**, Brion N., Callens J., Passy P., Deligne C., Billen G., Servais P. y Billen C. Modeling historical changes in nutrient delivery and water quality of the Zenne River (1790s-2010): The role of land use, waterscape and urban wastewater management. *Journal of Marine Systems*, doi:10.1016/j.jmarsys.2012.04.001(2012).
- Gleyzes C.**, Tellier S. y Astruc M. Fractionation studies of trace elements in contaminated soils and sediments: a review of sequential extraction procedures. *Trends in Analytical Chemistry* 21, 451-467 (2002).
- Gonzalez S.**, Petrovic M. y Barcelo D. Removal of a broad range of surfactants from municipal wastewater-comparison between membrane bioreactor and conventional activated sludge treatment. *Chemosphere* 67, 335-343 (2007).
- Grousset F. E.**, Jouanneau J. M., Lavaux G. y Latouche C. A 70 year record of contamination from industrial activity along the garonne river and its tributaries (SW France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 48, 401-414 (1999).
- Helios-Rybicka E.** The content and chemical forms of heavy metlas in the river sediments of the Cracow area. The role of clays minerals. *Environmental Technology Letters* 4, 515-520 (1983).
- Hong S. H.**, Kannan N., Yim U. H., Choi J.-W. y Shim W. J. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in a benthic ecosystem in Gwangyang Bay, South Korea. *Marine Pollution Bulletin* 62, 2863-2868 (2011).
- Horowitz A. J.** y Elrick K. A. The relation of stream sediment surface area, grain size and composition of trace element chemistry. *Applied Geochemistry* 2, 437-451 (1987).
- Iskandar I. K.**, Syers J. K., Jacobs L. V. y Keeny D. R. Determination of total mercury in sediments and soils. *The Analyst* 97, 388-393 (1972).
- Jain C. K.** Metal fractionation study on bed sediment of River Yamuna, India. *Water Research* 38, 569-578 (2004).
- Jarvis K. E.**, Gray A. L. y Houk R. S. Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Blackie Glasgow and London. New York* , pp 380 (1992).
- Kaiser H. F.** The application of electronic-computers to factor analysis. *Educational and Psychological Measurement* 20, 141-151 (1960).
- López-Sánchez J. P.**, Sahuquillo A., Fiedler H. D., Rubio R., Rauret G., Muntau H. y Quevauviller P. CRM 601. A Stable Material for its Extractable Content of Heavy Metlas. *Analyst* 123, 1675-1677 (1998).



- Loring** D. H., I.C.E.S. Report of the Working Group on Marine Sediments in Relation to Pollution (WG-MARSED); Annexe 3, C.M. E:25 (1988).
- Menchaca Martínez** D. Informe del agua en Marruecos. Oficina Económica y Comercial de la Embajada de España en Rabat. Agosto (2010).
- Mhamdi** A. A., Choura M., Maanan M., Zourarah B. y Robin M. Metal fluxes to the sediments of the Moulay Bouselham lagoon, Morocco. *Environmental Earth Sciences* 61, 275-286 (2010).
- Monhen** H. Heavy metals distribution in sediments and ecological risk assessment: the role of diagenetic processes in reducing metal toxicity in bottom sediments. *Environmental pollution* 97, 317-325 (1997).
- Montiel** A. y Welte B. Comparaison des différents méthodes d'attaque lors de la détermination des micropolluants dans les sédiments. *Spectra* 2000 98, 57-68 (1984).
- Montuori** P. y Triassi M. Polycyclic aromatic hydrocarbons loads into the Mediterranean Sea: Estimate of Sarno River inputs. *Marine Pollution Bulletin* 64, 512-520 (2012).
- Morris** J. T. Effects of nitrogen and salinity on ammonium uptake by *Spartina alterniflora* Loisel. and *Spartina Patens* (Aiton) Muhl. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 78, 87-98 (1984).
- Mu** L., Peng L., Cao J., He Q., Li F., Zhang J., Liu X. y Bai H. Emissions of polycyclic aromatic hydrocarbons from coking industries in China. *Particuology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.partic.2012.04.006> (2012).
- Müller** G., Dominik J., Reuther R., Malisch R., Schulte E., Acker L. y Irion G. Sedimentary Record of Environmental Pollution in the Western Baltic Sea. *Naturwissenschaften* 67, 595-600 (1980).
- Naoura** J. y Benaabidate L. Monitoring of heavy metals in the sediments of the Inaouene River, Morocco. *Journal of the Black Sea/ Mediterranean Environment* 17, 193-202 (2011).
- NOAA's National Status and trends Program: Sediment Quality Guidelines (1999).
- OSPAR JAMP Guidelines for Monitoring Contaminants in Sediments (agreement 2002-2016) ([http://www.ospar.org/content/content.asp?menu=00900301400135\\_000000\\_000000](http://www.ospar.org/content/content.asp?menu=00900301400135_000000_000000))
- Páez-Osuna** F. y Osuna-López J. I., Acumulación de metales pesados en Mitla, una laguna costera tropical. *Ciencias Marinas* 13, 97-112 (1987).
- Peiro** L. A. Metodología para el estudio de metales pesados en sedimentos. Tesis Doctoral. Instituto Química de Sarriá. Barcelona, pp 280 (1988).

**Pillary** K. K. S., Thomas S. S., Sondel J. A. y Hyche C. M. Determination of mercury in biological and environmental samples by neutron activation analysis. *Analytical Chemistry* 43, 1419-1425 (1971).

**Piniella** F. Gestión Portuaria y Logística. Edición: Universidad Internacional de Andalucía (2009).

**Quevauviller** P., Rauret G., López-Sánchez J. F., Rubio R., Ure A. M. y Muntau H. Certification of Trace Metal Extractable Contents in a Sediment Reference Material (CRM 601) Following a Three-Step Sequential Extraction Procedure. *The Science of the Total Environment* 205, 223-234 (1997).

**Rauret** G., López-Sánchez J. F., Sahuquillo A., Rubio R., Davidson C. M., Ure A. M. y Quevauviller P. Improvement of the BCR Three Step Sequential Extraction Procedure Prior to the Certification of New Sediment and Soil Reference Materials. *Journal of Environ Monitoring* 1, 57-61 (1999).

**Rodríguez-Barroso** M. R., Benhamou Y., El moumni B., Coello D. y García-Morales J. L. Concentration, enrichment and distribution of heavy metals in surface sediments of the Tangier Bay, Morocco. *Scientia Marina* 74S1, 107-114 (2010).

**Rodríguez-Barroso** M. R., Benhamou Y., El Moumni B., El Hatimi I. y García-Morales J. L. Evaluation of metal contamination in sediments from north of Morocco: geochemical and statistical approaches. *Environmental Monitoring and Assessment* 159, 169-181 (2009).

**Sahuquillo** A., López-Sánchez J. F., Rubio R., Rauret G., Thomas E. A., Davidson C. M. y Ure A. M. Use of Certified Reference Materials for Extractable Trace Metals to Assess Sources of Uncertainty in the BCR Three-Stage Sequential Extraction Procedure. *Analytica Chimica Acta* 382, 317-327 (1999).

**Saint-Laurent** D., Duplessis P., St-Laurent J. y Lavoie L. Reconstructing contamination events on riverbanks in southern Québec using dendrochronology and dendrochemical methods. *Dendrochronologia* 29, 31-40 (2011).

**Sakai** H., Kojima Y. y Saito K. Distribution of heavy metals in water and sieved sediments in the Toyohira river. *Water Research* 20, 559-567 (1986).

**Sakata** M. y Shimoda O. A simple and rapid method for the determination of lead and cadmium in sediment by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Technical Note* 16, 231-235 (1982).

**Salomons** W. y Förstner U. Metals in the Hydrocycle, 'Ed.' Springer-Verlag: Berlin (1984).

**Sardinha** J., Carneiro J. F., Zarhloule Y., Barkaoui A., Correia A., Boughriba M., Rimi A. y El Houadi B. Structural and hydrogeological features of a Lias carbonate aquifer in the Triffa Plain, NE Morocco. *Journal of African Earth Sciences* 73-74, 24-32 (2012).

**Sponza** D. T. y **Oztekin** R. Removals of some hydrophobic poly aromatic hydrocarbons (PAHs) and *Daphnia magna* acute toxicity in a petrochemical industry wastewater with ultrasound in Izmir-Turkey. *Separation and Purification Technology* 77, 301-311 (2011).

**Stevenson** F. J. *Humus Chemistry: Genesis composition, reactions*, Wiley-Interscience, New York (1982).

**Sundaray** S. K., **Nayak** B. B., **Lin** S., y **Bhatta** D. Geochemical speciation and risk assessment of heavy metals in the river estuarine sediments- A case study: Mahanadi basin, India. *Journal of Hazardous Materials* 186, 1837-1846 (2011).

**Sutton** M., **Howard** C., **Erismán** J. W., **Billen** G., **Bleeker** A., **Grennfelt** P., **van Grinsven** H. y **Grizzetti** B. (Eds.). *The European Nitrogen Assessment: Sources, Effects and Policy Perspectives*. Cambridge University Press. 601 pp. (2011).

**Tkalin** A. V., **Presley** B. J. y **Boothe** P. N. Spatial and temporal variations of trace metals in bottom sediments of Peter the Great Bay, the Sea of Japan. *Environmental Pollution* 92, 73-78 (1996).

**Turekian** K. K. y **Wedepohl** K. H. Distribution of the elements in some major units of the earth's crust. *Bulletin Geological Society American* 72, 175-192 (1961).

**Ure** A. M. The effects of Drying of Element Concentrations and Speciation in Soils and Sediments. *Química Analítica* 13, (Supplement 1), S64-S69 (1994).

**Ure** A. M., **Quevauviller** Ph., **Müntau** H. y **Griepink** B. Improvements in the determinations of Extractable Contents of Trace Metals in Soil and Sediments Prior to Certification; EUR 14763 EN; Commission of the European Communities, Brussels-Luxembourg, pp. 85 (1993).

**Uriarte** A., **Franco** J. y **Borja** A. Sediment and heavy metal distribution and transport in a coastal area affected by a submarine outfall in the Basque country (Northern Spain). *Water Science Technology* 37, 55-61 (1998).

**USEPA**. National Recommended Water Quality Criteria. United States Environmental Protection Agency (2002).

**VA Application Note No. V-125**. Determination of traces of iron in water (1-nitroso-2-naphthol method).

**VA Application Note No. V-69**. Determination of nickel and cobalt in seawater.

**VA Application Note No. V-83**. Determination of Zn, Cd, Pb, Cu in waste water after UV digestion.

**Vesk P. A.** y **Allaway W. G.** Spatial variation of copper and lead concentrations of water hyacinth plants in a wetland receiving urban run-off. *Aquatic Botany* 59, 33-44 (1997).

**Wang J.**, **Liu R. H.**, **Yu P.**, **Tang A. K.**, **Xu L. Q.** y **Wang J. Y.** Study on the Pollution Characteristics of Heavy Metals in Seawater of Jinzhou Bay. *Procedia Environmental Sciences* 13, 1507-1516 (2012).

**Winger P. V.** y **Lasier P. J.** Toxicity of sediment collected upriver and downriver of major cities along the lower Mississippi River. *Arch. Environmental Contamination Toxicology* 35, 213-217 (1998).

**Zourarah B.**, **Maanan M.**, **Robin M.** y **Carruesco C.** Sedimentary records of anthropogenic contribution to heavy metal content in Oum Er Bia estuary (Morocco). *Environmental Chemistry Letters* 7, 67-78 (2008).



## *CONCLUSIONES GENERALES*

---

Teniendo en cuenta todos los resultados que se han obtenido de la investigación llevada a cabo en esta Tesis Doctoral, se pueden enumerar como principales conclusiones las que se muestran a continuación:

1. En primer lugar, se ha desarrollado una nueva metodología de preconcentración de  $\text{Fe}^{3+}$  por extracción líquido-líquido mediante un sistema de membrana líquida de volumen, empleando el ligando 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH) disuelto en tolueno. Se han optimizado las condiciones del proceso de extracción mediante aplicación del método *MultiSimplex* modificado y se ha aplicado de forma muy satisfactoria al análisis de hierro en aguas. Este metal puede ser transportado con eficacia, con un factor de preconcentración en la celda empleada de 21,7, en un rango muy amplio de concentraciones con detección por espectroscopía de absorción atómica con llama o con atomización electrotrémica. Se ha estudiado también la aplicación de la metodología presentada a la especiación de Fe en muestras de agua de naturaleza compleja como es el caso de agua de mar, permitiendo la preconcentración de manera

selectiva de  $\text{Fe}^{3+}$  en presencia de  $\text{Fe}^{2+}$ , permitiendo un diseño de fraccionamiento que identifica Fe disuelto, Fe particulado, Fe no lábil,  $\text{Fe}^{2+}$  lábil e  $\text{Fe}^{3+}$  lábil.

2. Por otro lado, se ha estudiado la aplicabilidad de las técnicas voltamperométricas de redisolución adsortiva a la determinación de metales en aguas. Se ha desarrollado un nuevo método para el análisis de  $\text{Fe}^{3+}$  mediante la técnica voltamperométrica de redisolución catódica adsortiva de impulso diferencial (DP-AdCSV) utilizando el electrodo de gota de mercurio como electrodo de trabajo y el ligando 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH) como agente complejante del metal en cuestión. El método propuesto puede ser aplicado satisfactoriamente a muestras de agua natural cuya salinidad sea igual o inferior a 13,3 g/L, teniendo un límite de detección muy bajo 6,2 ng/L de  $\text{Fe}^{3+}$  (0,11 nmol/L) y escasas interferencias metálicas.

3. Igualmente, se ha desarrollado otro método voltamperométrico para la determinación de plata en aguas mediante un electrodo de pasta de carbono modificado con el mismo ligando orgánico 2-HBBH, empleando en este caso la voltamperometría de redisolución anódica adsortiva de impulso diferencial (DP-AdASV). La metodología propuesta permite la determinación de la plata iónica total en aguas de baja salinidad, la determinación de plata iónica libre o lábil en muestras con concentraciones salinas significativas y permite aplicar un esquema de especiación que determine la presencia de plata iónica y plata coloidal, todo ello con un límite de detección muy adecuado para el análisis de trazas y subtrazas de 1,12 ng/L.

3. Por último, se ha evaluado la contaminación metálica en el río Mghogha de la ciudad de Tánger (Marruecos), debida a los vertidos que recibe de las actividades antropogénicas e industriales de la zona, y se estudiado el impacto que sus aguas producen en la desembocadura y en la Bahía de la ciudad de Tánger. Para ello, se determinaron los niveles metálicos en muestras de agua y sedimentos y se compararon con los niveles de fondo y los niveles guía. Como conclusión se puede decir que el río Mghogha recibe importantes aportes de contaminación urbana e industrial, tanto

metálica como de naturaleza orgánica. Esta contaminación es transportada hacia la costa donde se diluye/precipita y disminuye en toxicidad, pasando de forma significativa al sedimento donde se va acumulando. Ello hace que los sedimentos de la bahía de Tánger sean un sumidero de esta contaminación cuyo potencial tóxico puede incrementarse si continúan estos procesos. Por ello, y tras estos estudios, se puede concluir indicando que parece preciso que se lleven a cabo medidas que disminuyan estas descargas en la costa, pues si bien durante los muestreos no parecía que la toxicidad fuera muy peligrosa, lo es potencialmente y puede serlo en un futuro.





---

## *ANEXOS*

---



---

## ANEXOS

---

### ANEXO 1. PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES REGULADORAS DE pH

En los trabajos realizados en la presente Tesis Doctoral, se emplearon diferentes disoluciones reguladoras para ajustar el pH de las muestras a un valor determinado. Estas disoluciones fueron preparadas utilizando los reactivos de elevada pureza (calidad Suprapur) y tomando en todo momento las precauciones necesarias para evitar o minimizar su contaminación tanto por recipientes como por su manipulación y conservación. Todas estas disoluciones fueron preparadas utilizando agua desionizada (Milli-Q). A continuación se describe el procedimiento de preparación de cada una de estas reguladoras de pH.

#### *- Disolución reguladora B.R. 1,5 mol/L*

Las disoluciones reguladoras Britton-Robinson fueron preparadas tomando como base los cálculos de concentraciones recogidos en un trabajo publicado por Mongay y Cerdá usando ácido o-bórico, ácido o-fosfórico, ácido acético e hidróxido sódico [Mongay y Cerdá, 1977] en el cual se especifican las cantidades de las sales correspondientes para elaborar disoluciones reguladoras B.R. a diferentes valores de pH pero con igual fuerza iónica. Dado que el procedimiento de ajuste del pH para las disoluciones de medida en voltamperometría de redisolución consistía en la adición de una alícuota de disolución reguladora a una cierta cantidad de muestra, se optó por aumentar las concentraciones de cada una de las sales especificadas en dicho artículo 10 veces, con objeto de aumentar su fuerza tamponante respetando los valores de pH, de forma que su dilución en la muestra de medida permitiese mantener una fuerza tamponante suficiente al pH especificado.

Los reactivos utilizados para la preparación de las disoluciones reguladoras B.R. y las cantidades utilizadas de cada una de las sales, así como su valor de pH medido experimentalmente se muestran en las **Tablas A.1.1** y **A.1.2** respectivamente. Para conseguir una fuerza iónica constante en todas las disoluciones reguladoras B.R.

preparadas, se ha utilizado KCl de calidad Suprapur (Merck, Alemania) para completar la fuerza iónica a 1,5 mol/L.

**Tabla A.1.1.** Reactivos utilizados para la preparación de la disolución reguladora Britton-Robinson

Reactivos		Peso molecular (g/mol)	Pureza (%)	d (g/mL)
Hidróxido sódico	NaOH	40,00	99	-
Ácido acético	CH <sub>3</sub> COOH	60,05	100	1,05
Ácido ortofosfórico	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	98,00	85	1,71
Ácido bórico	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	61,83	99,8	-
Cloruro potásico	KCl	74,56	99,5	-

**Tabla A.1.2.** Cantidades empleadas para la preparación de las disoluciones reguladoras Britton-Robinson de fuerza iónica 1,5 mol/L (volumen total=100 mL) [Mongay y Cerda, 1977]

Reactivo		pH						
		1,98	4,10	6,09	7,00	7,96	9,91	11,98
NaOH	g	0,385	1,616	2,410	2,782	3,030	3,528	4,040
	mol/L	0,096	0,404	0,303	0,695	0,758	0,882	1,010
CH <sub>3</sub> COOH	g	2,288	1,922	1,686	1,575	1,501	1,353	1,201
	mL	2,179	1,830	1,606	1,500	1,430	1,289	1,144
	mol/L	0,381	0,320	0,281	0,262	0,250	0,225	0,200
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	g	4,392	3,689	3,236	3,024	2,882	2,598	2,306
	mL	2,568	2,158	1,893	1,768	1,686	1,519	1,348
	mol/L	0,448	0,376	0,330	0,309	0,294	0,265	0,235
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	g	2,360	1,983	1,739	1,625	1,549	1,396	1,239
	mol/L	0,382	0,321	0,281	0,263	0,251	0,226	0,200
I*	mol/L	0,180	0,388	0,603	0,758	0,952	1,100	1,280
KCl**	g	9,891	8,333	6,722	5,560	4,106	2,997	1,649
	mol/L	1,320	1,112	0,897	0,742	0,548	0,400	0,220

\* Fuerza iónica proporcionada por las sales antes de añadir KCl

\*\*Cantidad de KCl añadida para completar la fuerza iónica hasta I = 1,5 mol/L

**- Disolución reguladora HAcCl/AcCl<sup>-</sup> 4 mol/L**

Para la preparación de la disolución reguladora ácido cloroacético/ cloroacetato de concentración 4 mol/L se disolvió una cantidad de 37,8 g de HAcCl (Merck, Alemania) en agua desionizada (Milli-Q), se le añadió KOH (Merck, Alemania) bajo agitación magnética hasta obtener el pH deseado y se enrasó la disolución obtenida hasta 100 mL mediante agua Milli-Q.

**- Disolución reguladora NH<sub>4</sub>Ac/HCl 1 mol/L de pH 6,5**

Se preparó acetato amónico 1 mol/L añadiendo en un matraz de 250 mL de capacidad 14,3 mL de ácido acético glacial 100% de calidad suprapur (Merck, Alemania) y 4,67 mL de NH<sub>3</sub> 25% suprapur (Merck, Alemania). Se ajustó el pH a 6,5 utilizando una disolución de ácido clorhídrico 0,5 mol/L suprapur (Merck, Alemania) y se enrasó hasta 250 mL con agua desionizada (Milli-Q).

**- Disolución reguladora KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/NaOH 1 mol/L**

Se preparó la disolución reguladora KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/NaOH 1 mol/L disolviendo 13,61 g de dihidrógeno fosfato de potasio (Fluka) en agua desionizada (Milli-Q) y ajustando el pH al valor deseado mediante una disolución de NaOH 1 mol/L (Merck, Alemania) antes de enrasar hasta 100 mL con agua Milli-Q.

**- Disolución reguladora MES 0,2 mol/L**

Esta disolución se preparó disolviendo 4,34 g de ácido 2-morfolino etanosulfónico (Merck) en agua desionizada (Milli-Q) y neutralizando con NaOH 1 mol/L hasta pH 6,5. Finalmente se enrasó con agua Milli-Q hasta 100 mL.

**- Disolución reguladora NH<sub>4</sub>Cl/NH<sub>3</sub> 6 mol/L de pH 9,6**

La disolución reguladora de cloruro amónico/amoniaco 6 mol/L de pH 9,6 se preparó añadiendo en un matraz aforado de 100 mL de capacidad, un volumen de 46 mL de amoniaco 25% (Merck, Alemania) a 22 mL de ácido clorhídrico 30%, ambos de calidad Suprapur, y enrasando con agua desionizada (Milli-Q) hasta 100 mL.

**- Disolución reguladora Hepes 0,5 mol/L**

Se pesaron 3,263 g de ácido N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-etano-sulfónico (Sigma-Aldrich) y se disolvieron en agua desionizada (Milli-Q). Se ajustó el pH de la disolución obtenida al valor deseado con ácido clorhídrico 30% (Merck, Alemania) y se enrasó hasta 25 mL con agua Milli-Q.

**- Disolución reguladora Pipes 0,5 mol/L**

Se pesaron 8,16 g de ácido piperazina-N,N'-bis(etanosulfónico) (Sigma-Aldrich), se disolvieron en agua desionizada (Milli-Q) y se ajustó el pH de la disolución obtenida con ácido clorhídrico 30% (Merck, Alemania) antes de enrasar hasta 25 mL con agua Milli-Q.

**- Disolución reguladora HAc/AcNa 3 mol/L**

La disolución reguladora ácido acético/acetato 3 mol/L se preparó disolviendo 24,6 g de acetato sódico en agua desionizada (Milli-Q) y ajustando el pH con una disolución de ácido acético glacial 100% de calidad suprapur (Merck, Alemania). Finalmente se enrasó a 100 mL con agua Milli-Q.

**- Disolución reguladora Hydrion**

Se preparó el tampón comercial Hydrion disolviendo el contenido de cada uno de los sobres que suministra la casa comercial (Sigma Aldrich) con diferentes valores de pH (3-11) en 500 mL de agua desionizada (Milli-Q).

## **ANEXO II. PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES DE METALES**

Las disoluciones de metales utilizadas en los trabajos de la presente tesis fueron preparadas por dilución de patrones de 1000 mg/L CertiPUR (Merck, Alemania) enrasando con agua desionizada (Milli-Q). A todas las disoluciones de metal se les añadió HNO<sub>3</sub> para su conservación, en una relación de 100 µL de HNO<sub>3</sub> concentrado de calidad Suprapur por cada 50 mL de disolución. Cabe destacar que la preparación de las disoluciones de metales siempre se ha llevado a cabo dentro de campanas de flujo laminar con atmósfera limpia Crumair tipo 9005-FL a 220 V y 50 Hz, equipadas con un filtro absoluto (ULPA) capaces de retener, con una eficacia del 99,999%, todas

las partículas de polvo superiores a 0,3 micras, todo ello con el fin de evitar la contaminación de las muestras. Por otro lado, las disoluciones fueron preparadas en matraces aforados de plástico TPX, para evitar la pérdida del metal por adsorción en las paredes de recipientes de vidrio. Las disoluciones de concentraciones bajas (< 50 µg/L) fueron preparadas diariamente.

### ANEXO 3. PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES DE LIGANDOS ORGÁNICOS COMPLEJANTES DE IONES METÁLICOS

Para las medidas por voltamperometría de redisolución catódica adsorptiva, se ha hecho uso de ligandos orgánicos complejantes de iones metálicos presentes en las muestras de agua. A continuación se detalla la preparación específica de cada una de las disoluciones etanólicas de estos reactivos:

- Disolución de 1-nitroso-2-naftol (1N2N) para la determinación de Fe: la disolución de 0,002 mol/L de 1-nitroso-2-naftol se preparó disolviendo 0,0173 g de este reactivo en 50 mL de etanol con ayuda de ultrasonidos.

- Disolución de dimetilglioxima (DMG) para la determinación de Ni y Co: esta disolución se preparó disolviendo una cantidad de 0,0615 g de dimetilglioxima en 10 mL de etanol para obtener una concentración de  $5,3 \cdot 10^{-2}$  mol/L.

Para el estudio de la especiación de  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$  mediante el sistema de membrana líquida de volumen desarrollada en el capítulo II de esta Tesis Doctoral, se emplearon disoluciones de los ligandos orgánicos 1,10-fenantrolina y 2,2'-bipiridilo como agentes enmasacrantes de  $Fe^{2+}$ . A continuación se describe la preparación de cada una de las disoluciones de estos reactivos:

- Disolución de 1,10-fenantrolina para la complejación de  $Fe^{2+}$ : para la preparación de la disolución de 1,10-fenantrolina 0,0143 mol/L (2,83 g/L), se pesaron unos 1,415 g de este reactivo ( $C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$ ) y se disolvieron en 500 mL de agua desionizada (Milli-Q).

- Disolución de 2,2'-bipiridilo para la complejación de  $Fe^{2+}$ : la disolución de 2,2'-bipiridilo  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L se preparó disolviendo una cantidad de 0,0156 g de este reactivo en 50 mL de una disolución de HCl 0,01 mol/L.



#### ANEXO 4. PREPARACIÓN DE LAS DISOLUCIONES UTILIZADAS EN EL PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN SECUENCIAL BCR DE LAS MUESTRAS DE SEDIMENTOS

Se han empleado para la extracción secuencial BCR varias disoluciones extractantes de metales de las diferentes fases de las muestras de sedimentos. Como se ha comentado anteriormente, la preparación de estas disoluciones se ha realizado en atmósfera limpia mediante el uso de campana de flujo laminar para evitar todo tipo de contaminación. Estas disoluciones son las siguientes:

- Disolución de ácido acético 0,11 mol/L: en un matraz de 1 L de capacidad conteniendo unos 500 mL de agua desionizada (Milli-Q), se adicionaron 6,29 mL de ácido acético glacial de calidad suprapur (Merck, Alemania) y se enrasaron hasta 1 L con agua Milli-Q.

- Disolución de cloruro de hidroxilamonio 0,5 mol/L de pH 1,5: en un vaso de precipitado de 500 mL de capacidad, se disolvieron 34,75 g de cloruro de hidroxilamonio en 400 mL de agua desionizada (Milli-Q). La disolución obtenida se colocó en un matraz de 1 L de capacidad y se añadieron unos 25 mL de ácido nítrico 2 mol/L al 65 % (Merck, Alemania) para ajustar su pH a 1,5. Finalmente se enrasó hasta 1 L con agua Milli-Q.

- Disolución de acetato amónico 1 mol/L de pH 2: para la preparación de esta disolución se disolvieron, en un vaso de precipitado de 1 L de capacidad, unos 77,08 g de este reactivo en 800 mL de agua desionizada (Milli-Q), se ajustó el pH de la disolución obtenida a 2 utilizando HNO<sub>3</sub> al 65% (Merck, Alemania) y se enrasó hasta 1 L con agua Milli-Q.

- Disolución de ácido clorhídrico 3,86 mol/L: se preparó a partir de unos 320 mL de ácido clorhídrico 37% (Merck, Alemania) que fueron enrasados hasta 1 L con agua Milli-Q (Milli-Q).

- Disoluciones de peróxido de hidrógeno 8,8 mol/L, ácido fluorhídrico 48% y ácido nítrico 65%: se han utilizado los reactivos preparados por el fabricante (Merck, Alemania) sin necesidad de ninguna dilución.

## ANEXO 5. PROCEDIMIENTOS DE SÍNTESIS DE ALGUNAS AROIL-HIDRAZONAS EMPLEADAS EN LA PRESENTE TESIS

### - Síntesis de la 2-hidroxibenzaldehído benzoilhidrazona (2-HBBH)

El procedimiento de síntesis de la 2-HBBH mediante la condensación de la benzoilhidracida y 2-hidroxibenzaldehído (salicilaldehído) está descrito en el apartado II.4.3 del capítulo II de esta Tesis. Se comprobó que la disolución etanólica de la 2-HBBH era estable al menos durante un mes a 4° C. En la **Tabla A.5.1** se muestran las características de los reactivos empleados para la síntesis de la 2-HBBH.

*Tabla A.5.1. Reactivos empleados para la síntesis de la 2-HBBH*

Nombre	Fórmula	P. M. (g/mol)	Pureza (%)	d (g/mL)	Marca/ Referencia
Benzoilhidracida	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> ON <sub>2</sub> O	136,15	98	Sólido	Sigma-Aldrich/ B13071
2-hidroxibenzaldehído	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	122,12	98	1,146	Sigma-Aldrich/ S356
Etanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	46,07	99,9%	0,79	Merck / 100983

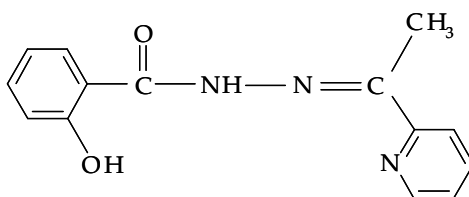
### - Síntesis de la Saliciloilhidrazona de la 2-acetilpiridina (2-APSH)

Este reactivo se preparó mediante la condensación de la 2-acetilpiridina (Aldrich) y de la saliciloilhidrazida (Sigma), siguiendo el procedimiento que se detalla a continuación [García-Vargas y col., 1987]:

En un matraz de fondo redondo de 250 mL se añadieron 20 mL de etanol y una cantidad equimolar ( $4 \cdot 10^{-3}$  mol/L) de 2-acetilpiridina (0,50 mL) y de saliciloilhidrazida (0,60 g). El contenido se mezcló hasta homogeneización y se mantuvo a reflujo durante aproximadamente 30 minutos en caliente gracias a la ayuda de una manta calefactora. Transcurrido ese tiempo se obtuvo un precipitado de color amarillo que se filtró por gravedad arrastrado con ayuda de etanol. Una vez realizado esto, se procedió a la recristalización del reactivo, disolviéndolo en la mínima cantidad de etanol posible, con ayuda de aplicación de calor para favorecer la disolución en caliente del dicho reactivo, para posteriormente obtener la precipitación a bajas temperaturas. El reactivo

de color amarillento se filtró a vacío para posteriormente secarlo en estufa durante 20 minutos aproximadamente a 110° C. Finalmente se obtuvo la 2-APSH en forma de polvo blanco-amarillento de aspecto filamentoso. La disolución etanólica de la 2-APSH se mantiene estable durante aproximadamente una semana en la oscuridad a 4° C.

En la **Figura A.5.1** aparece la estructura del ligando 2-APSH y en la **Tabla A.5.2** se muestran las características de los reactivos empleados para su síntesis.



**Figura A.5.1.** Estructura de la saliciloilhidrazona de la 2-acetilpiridina (2-APSH)

**Tabla A.5.2.** Reactivos empleados para la síntesis de la 2-APSH

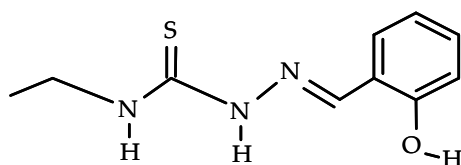
Nombre	Fórmula	P. M. (g/mol)	Pureza (%)	d (g/mL)	Marca/ Referencia
2-Acetilpiridina ó metil-2-piridilcetona	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO	121,14	99	1,082	Sigma-Aldrich / W325104
Saliciloilhidrazida	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	152,2	-	Sólido	Sigma-Aldrich / S1385
Etanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	46,07	99,9	0,79	Merck / 100983

#### - Síntesis de la 2-hidroxibenzaldehído N-etiltiosemicarbazona (2-HBET)

Este ligando se ha sintetizado mezclando cantidades equimolares de los reactivos apropiados. Así, se disolvió 1 mL de 2-hidroxibenzaldehído en 20 mL de etanol y 1,12 g de N-etil-tiosemicarbazida en 20 mL de agua desionizada (Milli-Q), y se mezclaron ambas disoluciones. La mezcla obtenida se colocó en un matraz de fondo redondo de 250 mL de capacidad y se sometió a reflujo durante 15 minutos, sobre una manta calefactora. La disolución de condensación se dejó enfriar a temperatura ambiente durante una noche hasta aparición de precipitado blanco. Después de su

filtrado, el precipitado fue recristalizado dos veces, en mezcla de agua/etanol (1:1 v/v), volviendo a filtrar el precipitado obtenido. Se ha comprobado que la disolución etanólica de la 2-HBET puede mantenerse estable por lo menos 3 días después de su preparación.

En la **Figura A.5.2** aparece la estructura del ligando 2-HBET y en la **Tabla A.5.3** se muestran las características de los reactivos empleados para su síntesis.



**Figura A.5.2.** Estructura de la 2-hidroxibenzaldehído N-etiltiosemicarbazona (2-HBET)

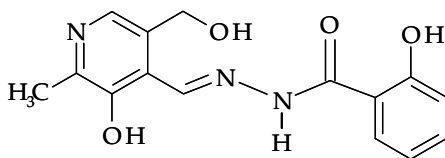
**Tabla A.5.3.** Reactivos empleados para la síntesis de la 2-HBET

Nombre	Fórmula	P.M. (g/mol)	Pureza (%)	d (g/mL)	Marca/ Referencia
N-etil-tiosemicarbazida	C <sub>3</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> S	119,19	97	Sólido	Sigma-Aldrich/ S11779
2-hidroxibenzaldehído	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	122,12	98	1,146	Sigma-Aldrich/ S356
Etanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	46,07	99,9%	0,79	Merck / 100983

**- Síntesis de la piridoxal saliciloilhidrazona o saliciloilhidrazona del piridoxal (PSH)**

Para la obtención de la PSH se disolvió 1 g de saliciloilhidracida en 20 mL de etanol, se calentó a reflujo durante varios minutos, tras lo cual se adicionaron 1,1 g de piridoxal disuelto en 20 mL de agua; la mezcla se puso a reflujo durante 10 minutos, y se enfrió hasta temperatura ambiente. Los cristales amarillos se filtraron y recristalizaron varias veces con etanol y el precipitado se secó a 110 °C. La disolución etanólica de la PSH se mantiene estable a 4° C durante una semana después de su preparación.

En la **Figura A.5.3** aparece la estructura del ligando PSH y en la **Tabla A.5.4** se muestran las características de los reactivos empleados para su síntesis.



**Figura A.5.3.** Estructura del piridoxal de la saliciloilhidrazona (PSH)

**Tabla A.5.4.** Reactivos empleados para la síntesis de la PSH

Nombre	Fórmula	P. M . (g/mol)	Pureza (%)	d (g/mL)	Marca/ Referencia
Saliciloilhidrazida	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	152,2	-	Sólido	Sigma-Aldrich / S1385
Piridoxal	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	203,63	99%	Sólido	Sigma-Aldrich / 271748
Etanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	46,07	99,9%	0,79	Merck / 100983

## ANEXO 6. EQUIPOS INSTRUMENTALES EMPLEADOS

Para la puesta a punto del método de análisis de Fe<sup>3+</sup> por voltamperometría de redisolución catódica adsortiva de impulso diferencial (AdCSV) utilizando el ligando complejante 2-HBBH (capítulo IV), se empleó el equipo: 757 VA Computrace Stand (Metrohm, Suiza) que dispone de un electrodo de gota colgante de mercurio (HMDE). El manejo del equipo, así como el tratamiento de los voltamperogramas y el procesamiento de los datos de intensidades de la señal, se realizaron con el software de control 757 VA Computrace versión 2.0. Copyright 2001, con la interfase 5326 VA Computrace Interfase (Metrohm, Suiza). El mismo equipo se ha empleado también para el análisis del contenido metálico de las muestras de agua recogidas de la Bahía de Tánger (capítulo VI). Así, se midieron los metales Fe, Ni y Co mediante AdCSV, mientras que Zn, Pb, Cd y Cu se analizaron por la voltamperometría de redisolución anódica (ASV) utilizando en ambos casos el electrodo de mercurio HMDE.

Para el desarrollo del método de análisis de  $\text{Ag}^+$ , mediante la voltamperometría de redisolución anódica de diferencial de impulsos (DPASV) empleando el electrodo de pasta de carbono modificado con el ligando 2-HBBH (capítulo V), se hizo uso del equipo: 747 VA Stand de Metrohm, acoplado a un microprocesador de datos tipo 746 VA Trace Analyzer, también de la marca Metrohm.

Las características instrumentales de estos equipos se detallan a continuación en las Tablas A.6.1, A.6.2., A.6.3 y A.6.4.

**Tabla A.6.1.** Componentes principales de los equipos de análisis electroquímico Metrohm utilizados

Componentes	Modelo Metrohm
Módulo procesador	757 VA Computrace versión 2.0. <sup>a</sup> 746.0020 VA Trace Analyzer <sup>b</sup>
Módulo de medida	757 VA Computrace Stand [6.2155.000] <sup>a</sup> 747 VA Stand [747.0010] <sup>b</sup>
Electrodo de trabajo	Electrodo Multi-Modo (MME) [6.1246.020] Capilar de vidrio [6.1226.030]
Electrodo auxiliar	Electrodo de Pt [6.0343.000]
Electrodo de referencia	Ag/AgCl/c(KCl)=3 mol/L Sistema de referencia Ag/AgCl [6.0728.020] Recipiente de electrolito [6.1245.010] Diafragma cerámico de 3 mm de diámetro
Vaso de medida	Vaso de vidrio borosilicato sin plomo 3.3 Volumen de trabajo: 10-90 mL [6.1415.210]
Sistema de agitación	Agitador PTFE [6.1204.090]

<sup>a</sup> Equipo de Polarografía, 757 VA Stand, de Metrohm.

<sup>b</sup> Equipo de Polarografía, 747 VA Stand, de Metrohm.

**Tabla A.6.2.** Características principales del módulo Metrohm 747 VA Stand para el modo de medida con impulso diferencial (DP)

<b>Potenciostato</b>	Voltaje de salida	$\pm 12$ V
	Corriente de salida	Modo "rápido": $\pm 15$ mA Modo "lento": $\pm 1,5$ mA
	Impedancia de entrada	$R > 5 \cdot 10^{11} \Omega$
<b>Fuente de potencial</b>	Intervalo de barrido	$\pm 3$ V
	Incrementos de potencial	2, 4, 6, 8, 10, 12 mV
	Velocidad de barrido	0,2...240 mV/s
	Amplitudes de pulso	-100 ... 100 mV
<b>Medida de corriente</b>	Corriente mínima	2,4 pA
	Corriente máxima	1,2 mA
	Tiempos de integración	1..32 ms
	Intervalo de medida	0,05...9,9 s
<b>Amplificador de medida</b>	Resolución	24 pA
<b>Sistema de agitación</b>	Velocidad rotacional	200, 400...3000 rpm
	Constancia de velocidad	$\pm 2\%$

**Tabla A.6.3** Características principales del módulo Metrohm 757 VA Stand para el modo de medida con impulso diferencial (DP)

<b>Potenciostato</b>	Voltaje de salida	$\pm 12$ V
	Corriente de salida	$\pm 35$ mA
	Impedancia de entrada	$R > 1 \cdot 10^{10} \Omega$
<b>Fuente de potencial</b>	Intervalo de barrido	$\pm 3$ V
	Incrementos de potencial	2, 4, 6, 8, 10, 12 mV ( $> 0$ V)
	Velocidad de barrido	0...0,5 V/s
	Amplitudes de pulso	-1 ... 1 V
<b>Medida de corriente</b>	Corriente mínima	5 pA
	Corriente máxima	35 mA
	Tiempos de integración	0,1..20 ms
	Intervalo de medida	100nA...10mA
<b>Amplificador de medida</b>	Resolución	24 pA
<b>Sistema de agitación</b>	Velocidad rotacional	200, 400,...3000 rpm
	Constancia de velocidad	$\pm 5\%$

**Tabla A.6.4.** Parámetros instrumentales e intervalos de valores de los equipos Metrohm para el análisis por Voltamperometría de Redisolución con el electrodo HMDE y RDE

Parámetro	Intervalo de valores		Significado
	Metrohm 747 VA	Metrohm 757 VA	
<b>t<sub>a</sub></b> : Tiempo de deposición o preconcentración	1...999 s	1...999 s	Tiempo de la etapa de preconcentración o deposición
<b>E<sub>d</sub></b> : Potencial de deposición	-3000...3000 mV	-3000...3000 mV	Potencial al cual se realiza la preconcentración o deposición
<b>P</b> : Amplitud de impulso	-100...-1, 1...100 mV	-1 ... 1 V	Amplitud del impulso de potencial superpuesto
<b>t<sub>s</sub></b> : Intervalo de tiempo para el salto de potencial	0,05 ... 9,9 s	> 0 s	Intervalo de tiempo tras el cual el potencial del barrido es aumentado o disminuido la cantidad U <sub>s</sub> . Debe cumplirse la condición: $t_s > t_p + t_m + 30 \text{ ms}$
<b>t<sub>m</sub></b> : tiempo de medida	1...32 ms	1...32 ms	Tiempo durante el cual se mide la intensidad de corriente. En Europa (50 Hz) suele aplicarse t <sub>m</sub> =20 ms
<b>t<sub>p</sub></b> : tiempo de impulso	1...330 ms	> 500 μs	Intervalo de tiempo durante el cual el impulso es superpuesto al voltaje directo. En Europa (50 Hz) suele aplicarse t <sub>p</sub> =40 ms Debe cumplirse la condición: $t_p > t_m + 2 \text{ ms}$
<b>U<sub>s</sub></b> : Salto de potencial	2, 4, 6, 8, 10, 12 mV	> 0 V	Incremento de potencial en la rampa de corriente directa
<b>d<sub>s</sub></b> : Tamaño de gota	1...9 u.a. (0,15 mm <sup>2</sup> ...0,60 mm <sup>2</sup> )	1...9 u.a. (0,15 mm <sup>2</sup> ...0,60 mm <sup>2</sup> )	Tamaño de la gota del electrodo HMDE u.a.: unidades arbitrarias
<b>V<sub>ag</sub></b> : Velocidad de agitación	0, 200, 400...3000 rpm	0, 200, 400...3000 rpm	Velocidad de rotación del cilindro de agitación (PTFE) durante la etapa de preconcentración (rpm)



- Las medidas espectrofotométricas se realizaron mediante un espectrofotómetro UV-Vis Unicam modelo Helios g 074515 (Reino Unido) y otro espectrofotómetro JASCO, modelo V-650.

- Las medidas por absorción atómica con llama (FAAS) y con horno de grafito (GFAAS) se realizaron empleando el equipo de Espectroscopía de Absorción Atómica Solaar M-Series Unicam (Thermo Elemental, Reino Unido).

- Las medidas de absorción atómica con generación de vapor frío (CVAAS) se llevaron a cabo utilizando el equipo Unicam 939 AA Spectrometer, con accesorio Unicam VP90 (Thermo Elemental, Reino Unido).

- Las medidas con Espectrometría de Masas con fuente de Plasma Acoplada Inductivamente (ICP-MS) se llevaron a cabo utilizando el Espectrómetro de Masas X7 Series (ICP-MS) (Thermo Elemental, Reino Unido).

- Para las medidas con Espectroscopia de Emisión Atómica con fuente de Plasma Acoplada Inductivamente (ICP-AES) se ha hecho uso del equipo Iris Intrepid Spectrometer (ICP-AES) (Thermo Elemental, Reino Unido).

- Para la evaluación del contenido de materia orgánica de las muestras de sedimentos se utilizó un horno mufla N 20/Hr (Nabertherm, Alemania).

- Para la determinación del carbono orgánico total (COT) en las muestras de agua se empleó el equipo analizador de carbono Analytik jena© multi N/C 3100 (Alemania).

- La digestión de las muestras de agua por irradiación UV se realizaron mediante un digestor UV (705 UV Digester (Metrohm, Suiza)) de lámpara de mercurio a alta presión (220V, 50Hz), empleando para ello cubetas de cuarzo.

- Durante los procesos de lixiviación de las muestras de sedimentos se agitaron estas últimas con los extractantes adecuados, mediante un agitador de desplazamiento horizontal modelo Promax 2020 Shaker (reciprocal motion) (Heidolph, Alemania) y los extractos fueron centrifugados en una centrífuga 4K10 Centrifuge (Sigma, Alemania).

- Las medidas de pH en el laboratorio fueron realizadas mediante un pH-metro micropH 2001 equipado con un electrodo combinado de vidrio-Ag/AgCl modelo 52-02 y compensador de temperatura (Crison, España).

- Para las medidas "in-situ" de los parámetros físico-químicos de las muestras de agua (temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto) se utilizó una sonda multiparamétrica portátil SenION 156 (Hach Co., Estados Unidos).

#### ANEXO 7. BLANCOS, LÍMITES DE DETECCIÓN Y VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS EMPLEADOS PARA EL ANÁLISIS DE METALES EN AGUAS

Con el fin de evaluar la posible contaminación producida durante el pretratamiento y el análisis de las muestras de agua, se procedió al estudio de los blancos correspondientes para cada uno de los protocolos realizados en el análisis de metales en agua. Estos blancos se determinaron a partir del análisis de muestras conteniendo agua desionizada (Milli-Q), utilizando el mismo tratamiento aplicado a las muestras de agua real. Estos valores fueron restados de los valores de concentración obtenidos para dichas muestras. Además, se determinaron los límites de detección de las técnicas analíticas utilizadas para cada uno de los metales estudiados mediante la relación:  $3\sigma/p$  [IUPAC, 1997], donde  $p$  es la pendiente de la recta de calibración y  $\sigma$  es la desviación estándar de la señal analítica del blanco. En la **Tabla A.7.1** se incluyen los valores de blancos y de límites de detección de los métodos empleados en el análisis de los metales en aguas costeras.

**Tabla A.7.1.** Blancos de preparación y límites de detección del análisis de los metales en las muestras de agua

Metal		Blanco de preparación (µg/L)	Límite de detección (µg/L)	Técnica de análisis
Fe	Total	0,382	0,06	DP-AdCSV
	Disuelto	0,526		
Ni	Total	0,247	0,007	DP-AdCSV
	Disuelto	0,353		

**Cont. Tabla A.7.1. Blancos de preparación y límites de detección del análisis de los metales en las muestras de agua**

Metal		Blanco de preparación (µg/L)	Límite de detección (µg/L)	Técnica de análisis
Co	Total	0,008	0,004	DP-AdCSV
	Disuelto	0,023		
Zn	Total	0,851	0,664	DP-ASV
	Disuelto	1,126		
Pb	Total	0,017	0,028	DP-ASV
	Disuelto	0,011		
Cd	Total	0,018	0,13	DP-ASV
	Disuelto	0,021		
Cu	Total	0,402	0,265	DP-ASV
	Disuelto	0,624		
Hg	Total	< L.D	0,3	CVAAS

**- Análisis de Zn, Cd, Pb y Cu por DP-ASV**

La validación del método de análisis de los metales Zn, Cd, Pb y Cu por voltamperometría de redisolución anódica de impulso diferencial se llevó a cabo mediante la prueba estadística de exactitud de NIST, sobre la muestra de referencia CRM505 (agua de estuario acidificada a pH 1,6) de la Community Bureau of Reference (BCR), entre cuyos metales certificados se encuentran Zn, Cd y Cu, y entre los valores indicativos se encuentra Pb. Para ello, primero se digirió la muestra CRM505 por irradiación UV utilizando el digestor UV (705 UV Digester (Metrohm, Suiza)) y se midió aplicando el método descrito por Metrohm [VA Application Notes No. V-83] para la determinación simultánea de estos metales. El protocolo de digestión y de medida empleados se describe a continuación:

- Se colocan en dos tubos de cuarzo unos 15 mL de la muestra de referencia y se les adiciona unos 50 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de calidad suprapur (Merck, Alemania). De la misma manera se prepara un blanco de preparación con agua desionizada (Milli-Q).

- Se digiere mediante irradiación UV con lámpara de mercurio de 550 W durante 2 horas, poniendo cuidado en que la muestra no supere la temperatura de 78 °C para que no hierva y se pierda cantidad de muestra.
- Se deja enfriar a temperatura ambiente y se traspasa toda la muestra a un recipiente de poliestireno de 30 mL previamente lavado según el protocolo de limpieza en el laboratorio.
- Se pesan en la celda voltamperométrica unos 10 mL de la muestra tomando como densidad de la misma 1 g/cm<sup>3</sup>, se le adiciona una alícuota de NH<sub>3</sub> de calidad suprapur (Merck, Alemania) para ajustar su pH a un valor aproximadamente 4 antes de añadir la disolución reguladora HAc/AcNa pH 4,7 y se realiza la medida por DP-ASV mediante aplicación del método [VA Application Notes No. V-83], anteriormente descrito en el apartado VI.4.3.4. del capítulo VI.

En la **Tabla A.7.2** están recogidos los resultados obtenidos consiguiendo porcentajes de recuperación superiores a 96% para todos los metales analizados.

**Tabla A.7.2.** Validación del análisis de Zn, Cd, Pb y Cu en la muestra de referencia CRM505 por DP-ASV

Metal	Concentración (µg/L)		Recuperación (%)
	Valor certificado	Valor observado (n=2)	
Zn	11,24 ± 0,72	10,84 ± 0,14	96,5
Cd	0,09 ± 0,001	0,09 ± 0,01	103,3
Pb	0,05 ± 0,03	0,048 ± 0,01	96,0
Cu	1,87 ± 0,10	2,05 ± 0,31	109,7

#### **- Análisis de Fe por DP-AdCSV**

Para la validación del método descrito en Metrohm [VA Application Note No. V-125] para el análisis de Fe en las muestras de agua mediante la voltamperometría de redisolución catódica adsorptiva de impulso diferencial (DP-AdCSV), y que utiliza el

ligando 1-nitroso-2-naftol (1N2N) como agente complejante de hierro, se utilizó en este caso también la muestra de referencia CRM505 (agua de estuario) digerida mediante irradiación UV y con un pH próximo a 7, empleando para ello NH<sub>3</sub> de calidad suprapur (Merck, Alemania). Los resultados obtenidos se recogen en la **Tabla A.7.3** con un porcentaje de recuperación adecuado.

**Tabla A.7.3.** Validación del análisis de Fe en la muestra de referencia CRM505 por DP-AdCSV

Metal	Concentración (mg/L)		Recuperación (%)
	Valor certificado	Valor observado (n=3)	
Fe	1,06 ± 0,22	1,146 ± 0,074	108,1

#### **- Análisis de Ni y Co por DP-AdCSV**

El método publicado en Metrohm [VA Application Note No. V-69], para el análisis de Ni y Co en las muestras de agua mediante DP-AdCSV, se validó aplicándolo a la muestra de referencia SLEW-3 (agua de estuario, filtrada y acidificada hasta pH 1,6) entre cuyos metales certificados se encuentra el Ni y el Co. Esta muestra fue digerida mediante irradiación UV con lámpara de mercurio de 550 W durante 2 horas y analizada por triplicado siguiendo el protocolo anteriormente descrito en el apartado VI.4.3.4. del capítulo VI, que utiliza DMG como ligando complejante de los metales en cuestión. Los resultados obtenidos se detallan en la **Tabla A.7.4**.

**Tabla A.7.4.** Validación del análisis de Ni y Co en la muestra de referencia SLEW-3 por DP-AdCSV

Metal	Concentración (µg/L)		Recuperación (%)
	Valor certificado	Valor observado (n=3)	
Ni	1,230 ± 0,070	1,192 ± 0,020	96,9
Co	0,042 ± 0,010	0,043 ± 0,002	101,5

## ANEXO 8. BLANCOS, LÍMITES DE DETECCIÓN Y VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS EMPLEADOS PARA EL ANÁLISIS DE METALES EN SEDIMENTOS

En este caso también y antes de analizar el contenido metálico total y la especiación metálica en las muestras de sedimentos, se llevaron a cabo estudios de los blancos de determinación y cálculos de límites de detección de cada uno de los metales estudiados, así como la validación de las técnicas analíticas empleadas.

### - Contenido total de metales en sedimentos

En la **Tabla A.8.1** se detallan los resultados de los blancos y los valores de los límites de detección en el análisis del contenido metálico total de cada uno de los metales analizados, obtenidos por la aplicación de la digestión ácida y por digestión por microondas descritas anteriormente.

**Tabla A.8.1.** Blancos de preparación y límites de detección del análisis del contenido **total** de los metales pesados en las muestras de sedimento

Metal	Digestión ácida		Digestión por microondas		Técnica
	Blanco de preparación (µg/L)	Límite de detección (µg/L)	Blanco de preparación (µg/L)	Límite de detección (µg/L)	
Co	0,05	0,034	< L.D	0,099	ICP-MS
Ni	< L.D	0,500	< L.D	1,974	ICP-MS
Cu	1,34	0,241	< L.D	0,375	ICP-MS
Zn	7,50	1,444	< L.D	0,485	ICP-MS
Cd	< L.D	0,098	< L.D	0,108	ICP-MS
Pb	2,85	0,064	< L.D	0,217	ICP-MS
Fe	< L.D	0,010	< L.D	0,375	FAAS
Hg	< L.D	0,012	< L.D	0,003	CVAAS

El método de análisis del contenido metálico total en las muestras de sedimentos empleando la digestión ácida de las mismas fue validado mediante la medida de las concentraciones de los metales Zn, Cd, Pb, Cu, Ni y Co en la muestra de referencia certificada de sedimento de estuario, SRM 1646a. Para ello, se aplicó a la muestra el

método de la digestión ácida con HF y HNO<sub>3</sub> por duplicado y se analizó por ICP-MS. Los valores obtenidos están recogidos en la **Tabla A.8.2** donde se comparan con los valores certificados observándose unos porcentajes de recuperación muy adecuados (87-10%).

**Tabla A.8.2.** Validación del análisis del contenido metálico **total** de la muestra de referencia SRM 1646a empleando la digestión ácida y medidas por ICP-MS

Metal	Concentración total (mg/kg)		Recuperación (%)
	Valor certificado	Valor observado (n=2)	
<b>Co*</b>	5	4,83 ± 0,10	96,6
<b>Ni*</b>	23	22,71 ± 0,43	98,8
<b>Cu</b>	10,01 ± 0,34	8,70 ± 0,99	86,9
<b>Zn</b>	48,9 ± 1,6	42,44 ± 2,32	86,8
<b>Cd</b>	0,148 ± 0,007	0,15 ± 0,16	100,0
<b>Pb</b>	11,7 ± 1,2	10,93 ± 0,28	93,5

\* Para Ni y Co los valores en la muestra de referencia no son certificados

Por otro lado, se validó también el análisis de las concentraciones totales de metales empleando la digestión por microondas a las muestras de sedimentos. Para ello, se aplicó el método por duplicado a dos muestras de referencia certificadas: una de sedimento de estuario SRM 1646a y otra de sedimento marino GBW 07313. Se han obtenido unos resultados aceptables para todos los metales certificados en las dos muestras de referencia como puede observarse en las **Tablas A.8.3 y A.8.4**.

**Tabla A.8.3.** Validación del análisis del contenido metálico **total** de la muestra de referencia SRM 1646a empleando la digestión por microondas y medidas por ICP-MS

Metal	Concentración total (mg/kg)		Recuperación (%)
	Valor certificado	Valor experimental	
Co*	5	3,76 ± 0,03	75,1
Ni*	23	21,66 ± 0,77	94,2
Cu	10,01 ± 0,34	10,64 ± 0,54	106,3
Zn	48,9 ± 1,6	49,90 ± 2,52	102,1
Cd	0,148 ± 0,007	0,12 ± 0,04	82,1
Pb	11,7	11,35 ± 0,25	97,0

\* Para Ni y Co los valores en la muestra de referencia no son certificados

**Tabla A.8.4.** Validación del análisis del contenido metálico **total** de la muestra de referencia GBW 07313 empleando la digestión por microondas y medidas por ICP-MS

Metal	Concentración total (mg/kg)		Recuperación (%)
	Valor certificado	Valor experimental	
Co	76,7 ± 1,2	59,56 ± 1,18	77,7
Ni	150 ± 4	159,71 ± 1,03	106,2
Cu	424 ± 8	400,13 ± 2,77	94,4
Zn	160 ± 3	169,52 ± 1,75	105,9
Pb	29,30 ± 1,1	26,96 ± 0,85	92,0

#### **- Especiación de metales en sedimentos**

Al igual que en el caso del análisis del contenido total de los metales, previa a la validación del protocolo de la extracción secuencial BCR para la especiación metálica se determinaron los blancos y los límites de detección de las técnicas empleadas. Los resultados obtenidos para cada uno de los metales estudiados en cada una de las fases se detallan en las **Tabla A.8.5** y **A.8.6**, respectivamente.



**Tabla A.8.5.** Blancos de preparación del análisis de la especiación de metales en las muestras de sedimento

Metal	Blancos de preparación (µg/L)				
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase IV	Técnica
Co	0,069	0,205	0,190	0,101	ICP-MS
Ni	0,301	13,608	9,223	2,016	ICP-MS
Cu	0,504	< L.D	1,044	2,029	ICP-MS
Zn	1,221	< L.D	2,865	12,805	ICP-MS
Cd	0,057	< L.D	< L.D	< L.D	ICP-MS
Pb	0,634	2,274	1,342	2,117	ICP-MS
Fe	< L.D	< L.D	0,306	< L.D	FAAS
Hg	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	CVAAS

**Tabla A.8.6.** Límites de detección del análisis de la especiación de metales en las muestras de sedimento

Metal	Límites de detección (µg/L)				
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase IV	Técnica
Co	0,044	0,098	0,022	0,099	ICP-AES
Ni	0,128	0,601	0,374	0,129	ICP-AES
Cu	0,216	0,638	0,378	0,326	ICP-AES
Zn	0,874	1,956	0,678	0,450	ICP-AES
Cd	0,035	0,127	0,047	0,001	ICP-AES
Pb	0,127	0,253	0,205	0,137	ICP-AES
Fe	13,441	9,121	0,022	13,503	FAAS
Hg	0,005	0,008	0,003	0,036	CVAAS

La validación del análisis del contenido metálico de las fases I, II y III del sedimento se llevó a cabo mediante la medida de las cantidades de Zn, Cd, Pb, Cu y Ni en la muestra de referencia de sedimentos de aguas naturales BCR-701 (sedimento de lago). Para ello, se aplicó por duplicado el protocolo de extracción secuencial BCR a la

muestra de referencia y se analizaron los extractos de las fases obtenidas mediante ICP-MS. En las **Tablas A.8.7, A.8.8 y A.8.9** se detallan los valores obtenidos y se comparan con los valores certificados de la muestra de referencia analizada. De estos resultados puede concluirse que se puede aplicar el método de extracción de manera satisfactoria en el análisis de estos metales en las muestras de sedimentos, ya que los porcentajes de recuperación obtenidos son aceptables para la mayoría de los metales estudiados. La validación de la fase residual de sedimento es equiparable a la realizada para el contenido total, puesto que el método empleado es el mismo.

**Tabla A.8.7.** Validación del análisis del contenido metálico de la **Fase I** de la muestra de referencia certificada BCR-701 realizados por ICP-MS

Metal	Concentración de la Fase I (mg/kg)		Recuperación (%)
	Valor certificado	Valor observado (n=2)	
Zn	205 ± 6	190,63 ± 4,99	92,99
Cd	7,34 ± 0,35	7,39 ± 0,11	100,68
Pb	3,18 ± 0,21	2,90 ± 1,95	91,21
Cu	49,3 ± 1,7	63,05 ± 2,34	127,88
Ni	15,4 ± 0,9	16,13 ± 0,14	104,76

**Tabla A.8.8.** Validación del análisis del contenido metálico de la **Fase II** de la muestra de referencia certificada BCR-701 realizados por ICP-MS

Metal	Concentración de la Fase II (mg/kg)		Recuperación (%)
	Valor certificado	Valor observado (n=2)	
Zn	114 ± 5	107,11 ± 8,06	93,95
Cd	3,77 ± 0,28	3,61 ± 0,21	95,75
Pb	126 ± 3	118,63 ± 8,33	94,15
Cu	124 ± 3	85,24 ± 4,86	68,74
Ni	26,6 ± 1,3	24,73 ± 2,44	92,98

**Tabla A.8.9.** Validación del análisis del contenido metálico de la Fase III de la muestra de referencia certificada BCR-701 realizados por ICP-MS

Metal	Concentración de la Fase III (mg/kg)		Recuperación (%)
	Valor certificado	Valor observado (n=2)	
Zn	45,7 ± 4	42,83 ± 6,85	93,71
Cd	0,27 ± 0,06	0,32 ± 0,04	119,51
Pb	9,3 ± 2	12,55 ± 1,53	134,95
Cu	55,2 ± 4	72,86 ± 10,41	132,00
Ni	15,3 ± 0,9	15,30 ± 2,16	99,98

## ANEXO 9. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE SEDIMENTOS DEL RÍO MGHOGHA (OCTUBRE, 2003)

**Tabla A.9.1.** Granulometría de las muestras de sedimentos: fracción de grava, arena y limo-arcilla del río Mghogha

Muestra	Grava > 2 mm	Arena 2-63 µm	Limo-Arcilla < 63 µm
1	68,53	24,29	7,16
2	73,73	19,33	6,93
3	69,46	26,28	4,25
4	66,40	30,66	2,94
5	68,38	25,84	5,77
6	70,60	21,00	8,40
7	73,65	18,97	7,38
8	68,58	27,00	4,41
9	63,82	31,85	4,33
10	59,70	37,14	3,16
11	71,21	25,34	3,45
12	42,27	52,99	4,73

**Cont. Tabla A.9.1. Granulometría de las muestras de sedimentos: fracción de grava, arena y limo-arcilla del río Mghogha**

<b>Muestra</b>	<b>Grava &gt; 2 mm</b>	<b>Arena 2-63 µm</b>	<b>Limo-Arcilla &lt; 63 µm</b>
13	58,25	39,75	2,00
14	66,78	28,56	4,66
15	58,46	38,97	2,57
16	22,80	68,07	9,13
17	60,47	35,78	3,74
18	85,15	13,20	1,65
19	68,19	28,41	3,39
20	67,41	27,66	4,93
21	65,68	28,02	6,30
22	45,39	51,53	3,08
23	55,45	39,00	5,56
24	51,96	40,71	7,33
25	59,23	36,50	4,26
26	67,94	27,04	5,02
27	64,83	29,66	5,51
28	63,72	32,84	3,44
29	80,39	16,70	2,91
30	54,21	42,18	3,61
31	64,93	29,81	5,26
32	74,31	21,65	4,04
33	66,64	28,76	4,60
34	54,89	40,43	4,68
35	5,10	81,80	13,10
36	47,44	40,53	12,04
37	35,64	58,26	6,10
38	0,00	99,11	0,89
39	0,91	98,28	0,81
40	20,69	78,47	0,84

**Tabla A.9.2.** Porcentaje de materia orgánica en las muestras de sedimentos del río Mghogha

Muestra	Materia orgánica (%)	Muestra	Materia orgánica (%)
1	3,33	21	4,84
2	2,37	22	4,50
3	3,19	23	3,93
4	1,91	24	4,83
5	2,03	25	4,19
6	2,20	26	3,62
7	1,72	27	4,32
8	2,22	28	4,51
9	2,35	29	4,67
10	2,21	30	4,39
11	1,78	31	2,99
12	2,53	32	2,73
13	2,33	33	2,79
14	2,00	34	2,45
15	2,24	35	2,84
16	2,50	36	3,03
17	5,04	37	3,80
18	4,09	38	3,55
19	4,35	39	2,74
20	4,34	40	2,05

**Tabla A.9.3.** Valores de pH de las muestras de agua sobrenadante del río Mghogha

Muestra	pH	Muestra	pH
1	6,99	21	7,89
2	7,48	22	7,50
3	7,77	23	7,59
4	8,26	24	8,14
5	8,01	25	7,91
6	8,16	26	7,48
7	8,29	27	7,78
8	7,98	28	7,41
9	8,21	29	7,88
10	7,63	30	7,45
11	7,74	31	7,89
12	7,60	32	8,02
13	7,87	33	8,07
14	7,91	34	8,18
15	7,81	35	7,95
16	8,44	36	7,96
17	7,95	37	7,92
18	7,79	38	7,66
19	7,38	39	7,81
20	7,79	40	7,89

**Tabla A.9.4.** Valores de salinidad de las muestras de agua sobrenadante del río Mghogha

Muestra	Salinidad (‰)	Muestra	Salinidad (‰)
1	1,90	21	1,30
2	1,20	22	1,30
3	0,90	23	0,90
4	1,30	24	0,90
5	0,80	25	1,50
6	0,80	26	1,80
7	1,00	27	1,50
8	1,20	28	1,40
9	2,00	29	1,80
10	1,40	30	1,60
11	1,50	31	1,30
12	1,00	32	1,30
13	1,70	33	0,80
14	1,30	34	1,50
15	1,40	35	1,20
16	0,40	36	0,80
17	1,70	37	1,40
18	1,80	38	1,30
19	1,80	39	25,10
20	1,80	40	31,00

**Tabla A.9.5.** Concentración metálica en el extracto lixiviado con acetato amónico de las muestras de sedimentos ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$  de sedimento) del río Mghogha

Muestra	Concentración ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ )							
	Zn	Cd	Pb	Cu	Fe	Hg	Cr	As
1	438,77	26,78	109,64	482,74	20102,35	93,10	36,44	n.d.
2	545,31	18,65	111,60	137,73	6158,94	28,39	23,20	n.d.
3	272,01	16,66	48,03	71,17	558,80	401,50	8,75	n.d.
4	603,31	50,50	325,09	134,29	2018,75	15,34	2,90	n.d.
5	171,23	8,04	27,50	n.d.	1307,08	43,44	2,84	n.d.
6	1128,68	7,57	296,64	285,51	6633,67	13,40	2,12	225,56
7	595,46	3,74	81,30	133,54	400,31	23,78	6,29	n.d.
8	412,88	26,77	196,02	376,47	384,42	10,10	2,83	n.d.
9	342,25	15,67	117,22	267,63	356,96	10,31	2,23	n.d.
10	668,08	50,56	271,35	638,16	1071,24	11,94	2,87	n.d.
11	315,14	20,17	45,61	99,21	372,90	20,82	2,87	n.d.
12	566,55	35,09	241,98	493,31	722,31	13,39	0,20	n.d.
13	422,10	19,83	250,26	386,51	724,41	13,18	1,76	n.d.
14	230,92	0,99	n.d.	n.d.	3927,00	8520,87	5,51	n.d.
15	481,98	40,83	207,42	270,51	315,24	20,18	8,53	n.d.
16	671,02	11,47	250,64	173,55	1279,18	3,55	19,14	n.d.
17	381,56	5,41	425,01	98,35	433,03	44,62	5,63	n.d.
18	561,62	35,49	237,49	451,31	311,25	66,32	20,06	n.d.
19	592,09	12,89	145,12	272,23	473,42	17,18	19,15	n.d.
20	622,48	5,24	313,18	481,27	371,84	18,73	11,18	n.d.
21	517,80	30,76	218,34	n.d.	5596,66	31,11	12,81	n.d.
22	298,02	25,83	493,05	54,03	328,11	26,46	13,74	n.d.
23	420,66	37,75	273,99	541,76	596,59	6,67	19,32	n.d.
24	402,15	9,48	159,46	104,55	2752,85	n.d.	21,76	n.d.
25	532,70	9,24	78,77	37,52	264,74	34,73	4,03	n.d.
26	619,10	19,80	427,92	456,14	4303,46	3,55	12,46	n.d.



**Cont. Tabla A.9.5.** Concentración metálica en el extracto lixiviado con acetato amónico de las muestras de sedimentos ( $\mu\text{g/Kg}$  de sedimento) del río Mghogha

Muestra	Concentración ( $\mu\text{g/Kg}$ )							
	Zn	Cd	Pb	Cu	Fe	Hg	Cr	As
27	701,59	34,61	61,78	133,21	254,70	23,73	1,81	n.d.
28	713,70	30,27	39,43	79,00	181,04	10,35	7,01	n.d.
29	693,33	19,87	44,75	241,56	196,37	37,06	16,45	n.d.
30	1111,34	8,60	164,54	493,52	300,89	50,27	22,22	n.d.
31	1554,28	40,93	211,08	130,15	1202,49	95,85	1,82	n.d.
32	445,69	11,11	66,61	89,59	198,89	23,03	11,92	n.d.
33	906,20	33,47	304,74	570,46	545,34	13,47	10,56	n.d.
34	2925,50	33,10	43,80	558,39	5653,46	14,68	5,42	n.d.
35	2013,00	77,64	22,22	415,76	349,12	6,52	46,27	n.a.
36	12222,9	37,80	n.d.	1089,88	371,07	35,55	18,68	n.d.
37	3821,60	129,29	220,97	565,44	1067,68	45,21	12,78	n.d.
38	2545,20	10,26	149,09	277,92	613,11	30,96	25,63	n.d.
39	703,82	14,72	997,10	724,94	472,46	52,69	1,80	n.d.
40	486,49	4,90	344,24	448,98	432,03	57,18	9,52	n.d.

*n.d.:* no detectado

*L.D (Cu) = 0,216  $\mu\text{g/L}$*

*L.D (As) = 0,269  $\mu\text{g/L}$*

**ANEXO 10. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE AGUA TOMADAS EN LA PLAYA DE LA BAHÍA DE TÁNGER (MARZO, 2006)**

*Tabla A.10.1. Parámetros físico-químicos de los puntos muestreados en la playa (Marzo, 2006)*

Punto	pH	Salinidad (g/L)	T (°C)	OD (mg/L)	COT (mg/L)
A	8,11	34,00	17,8	8,76	1,48
B	7,87	32,00	19,1	8,74	3,03
C	7,66	2,65	18,1	1,28	14,46
D	7,91	27,20	16,4	7,56	3,66
E	8,10	32,20	16,5	7,77	1,75
F	8,14	32,50	18,5	7,75	2,72
G	7,70	1,61	17,9	4,55	19,02
H	7,49	0,85	19,0	4,88	35,12

*Tabla A.10.2. Concentración de metales totales en las muestras de agua (µg/L) (n=2)*

Muestra	Zn	Pb	Cd	Cu	Fe	Ni	Co	Hg
A	130,17	53,36	n.d	43,15	42140	11,56	11,11	n.d
B	61,42	47,93	n.d	4,75	18300	1,63	0,24	n.d
C	19,34	15,66	n.d	22,34	6170	6,65	0,86	n.d
D	27,58	28,21	n.d	60,29	17240	5,61	4,29	n.d
E	47,17	69,85	n.d	7,34	18300	4,12	1,67	n.d
F	31,23	58,15	n.d	5,27	15090	5,51	0,90	n.d
G	20,76	16,12	n.d	9,78	8170	6,87	0,87	n.d
H	21,18	20,78	n.d	8,94	7990	4,55	0,63	n.d

*n.d: no detectado*

*L.D (Hg)=0,3 µg/L*

*L.D (Cd)=0,13 µg/L*

**Tabla A.10.3.** Concentración de metales disueltos en las muestras de agua ( $\mu\text{g/L}$ ) ( $n=2$ )

Muestra	Zn	Pb	Cd	Cu	Fe	Ni	Co	Hg
A	1,54	0,25	n.d	0,38	500	0,99	0,23	n.d
B	2,21	0,19	n.d	0,22	460	1,32	0,14	n.d
C	9,59	0,75	n.d	2,24	4020	4,54	0,51	n.d
D	2,22	0,36	n.d	0,64	950	1,78	0,74	n.d
E	1,77	n.d	n.d	0,35	450	1,06	0,49	n.d
F	2,33	n.d	n.d	0,20	390	0,87	0,15	n.d
G	11,32	1,25	n.d	5,40	3110	2,59	0,68	n.d
H	9,50	1,32	n.d	3,13	3760	2,50	0,51	n.d

*n.d:* no detectado

*L.D (Hg)=0,3  $\mu\text{g/L}$*

*L.D (Cd)=0,13  $\mu\text{g/L}$*

**Tabla A.10.4.** Concentración de metales particulados en las muestras de agua ( $\mu\text{g/L}$ )

Muestra	Zn	Pb	Cd	Cu	Fe	Ni	Co	Hg
A	128,6	53,11	n.d	42,77	41640	10,57	10,88	n.d
B	59,21	47,74	n.d	4,53	17840	0,31	0,1	n.d
C	9,75	14,91	n.d	20,1	2150	2,11	0,35	n.d
D	25,36	27,85	n.d	59,65	16290	3,83	3,55	n.d
E	45,4	69,85	n.d	6,99	17850	3,06	1,18	n.d
F	28,9	58,15	n.d	5,07	14700	4,64	0,75	n.d
G	9,44	14,87	n.d	4,38	5060	4,28	0,19	n.d
H	11,68	19,46	n.d	5,81	4230	2,05	0,12	n.d

*n.d:* no detectado

*L.D (Hg)=0,3  $\mu\text{g/L}$*

*L.D (Cd)=0,13  $\mu\text{g/L}$*

**ANEXO 11. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE AGUA TOMADAS EN LA COSTA DE LA BAHÍA DE TÁNGER (NOVIEMBRE, 2008)**

*Tabla A.11.1. Parámetros físico-químicos de los puntos muestreados en la costa (Noviembre, 2008)*

Punto	pH	Salinidad (g/L)	T (°C)	OD (mg/L)	COT (mg/L)
G	7,18	11,1	17,1	8,27	6,31
I	7,7	38,4	16,8	7,91	0,33
J	7,83	36,3	16,8	7,70	0,41
K	7,52	36,9	16,9	7,65	0,62
L	8,69	35,9	16,5	8,02	0,48
M	8,04	35,9	16,6	7,82	0,67

*Tabla A.11.2. Concentración de metales totales en las muestras de agua ( $\mu\text{g/L}$ ) (n=2)*

Muestra	Zn	Pb	Cd	Cu	Fe	Ni	Co	Hg
G	14,64	5,53	0,51	8,97	1586,88	4,48	0,616	n.d
I	9,56	10,49	0,29	0,70	1192,90	2,22	0,164	n.d
J	6,13	6,78	0,26	1,11	1468,50	2,30	0,198	n.d
K	11,99	4,49	0,31	3,65	670,38	2,04	0,114	n.d
L	16,88	5,05	0,40	0,95	634,94	2,03	0,117	n.d
M	22,02	10,80	0,43	0,71	324,68	2,35	0,106	n.d

*n.d: no detectado*

*L.D (Hg)=0,3  $\mu\text{g/L}$*

**Tabla A.11.3.** Concentración de metales disueltos en las muestras de agua ( $\mu\text{g/L}$ ) ( $n=2$ )

Muestra	Zn	Pb	Cd	Cu	Fe	Ni	Co	Hg
G	7,47	4,56	n.d.	1,89	152,93	2,60	n.d.	n.d.
I	5,29	1,22	n.d.	0,58	54,61	0,69	0,052	n.d.
J	5,60	2,35	n.d.	0,71	89,35	0,97	0,117	n.d.
K	6,16	1,36	n.d.	0,62	62,67	0,80	0,069	n.d.
L	12,49	1,80	0,09	0,15	70,68	1,57	0,075	n.d.
M	16,92	3,68	0,23	0,23	30,60	2,04	0,082	n.d.

*n.d.*: no detectado

*L.D* (Hg)=0,3  $\mu\text{g/L}$

*L.D* (Cd)=0,13  $\mu\text{g/L}$

**Tabla A.11.4.** Concentración de metales particulados en las muestras de agua ( $\mu\text{g/L}$ )

Muestra	Zn	Pb	Cd	Cu	Fe	Ni	Co	Hg
G	7,17	0,97	0,51	0,12	1433,95	1,88	0,616	n.d.
I	4,27	9,27	0,29	0,40	1138,29	1,53	0,112	n.d.
J	0,53	4,43	0,26	7,08	1379,15	1,33	0,081	n.d.
K	5,83	3,13	0,31	3,03	607,71	1,24	0,045	n.d.
L	4,39	3,25	0,31	0,80	564,26	0,46	0,042	n.d.
M	5,10	7,12	0,20	0,48	294,08	0,31	0,024	n.d.

*n.d.*: no detectado

*L.D* (Hg)=0,3  $\mu\text{g/L}$

**Tabla A.11.5.** Resultados del proceso de extracción secuencial BCR de las muestras de sedimento

Muestra	Metal	Concentración (mg/Kg) (n=2)			
		Fase I	Fase II	Fase III	Fase IV
A1	Zn	7,449 ± 0,003	15,27 ± 0,10	5,079 ± 0,233	69,48 ± 6,13
	Cd	0,070 ± 0,001	0,034 ± 0,002	0,039 ± 0,004	0,37 ± 0,01
	Pb	0,71 ± 0,02	8,26 ± 0,09	1,07 ± 0,03	17,43 ± 0,03
	Cu	0,98 ± 0,02	9,54 ± 0,08	1,607 ± 0,002	28,81 ± 3,37
	Fe	296,3 ± 4,7	3204,2 ± 84,5	1951,3 ± 10,9	34482,3 ± 2308,5
	Ni	1,80 ± 0,06	3,16 ± 0,14	5,39 ± 0,07	29,67 ± 3,46
	Co	2,02 ± 0,10	2,146 ± 0,004	0,861 ± 0,005	6,89 ± 0,83
	Hg	n.d.	0,002 ± 0,0002	n.d.	0,025 ± 0,003
A2	Zn	12,25 ± 0,05	20,16 ± 0,08	4,18 ± 0,19	59,14 ± 3,07
	Cd	0,049 ± 0,006	0,023 ± 0,001	0,028 ± 0,001	0,13 ± 0,01
	Pb	0,87 ± 0,02	11,63 ± 0,04	1,18 ± 0,08	12,35 ± 1,17
	Cu	1,33 ± 0,01	11,89 ± 0,05	1,84 ± 0,07	25,23 ± 0,83
	Fe	360,9 ± 4,9	4504,6 ± 67,6	1375,0 ± 55,9	31831,3 ± 1507,6
	Ni	1,31 ± 0,03	3,61 ± 0,02	4,81 ± 0,16	26,66 ± 1,41
	Co	1,34 ± 0,02	2,46 ± 0,03	0,968 ± 0,001	6,42 ± 0,25
	Hg	n.d.	0,005 ± 0,0003	n.d.	0,018 ± 0,001

*n.d.*: no detectado

*L.D (Hg)*=0,3 µg/L

**Tabla A.11.6.** Relación de industrias pertenecientes a la "AZIT" y tipos de vertidos asociados con la naturaleza de su actividad

Actividad	Empresa	Comentario	Calle	nº	Posibles vertidos
Agricultura	Fertima	Distribución de abono	3	099	Nitratos y fosfatos
Alimentación	Sialim	Fabricación de queso fundido	2	040	Residuos sólidos (lodos)
	Somalim	Fabricación de alimento para ganado y aves	2	058	Desechos comestibles
	Saviab	Sacrificio de aves	3	083	
	Conserveries des e Mers	Fabrica de conserva de anchoas	3	084	
	Tanice	Congelación y exportación de pescados	3	085	
	Seven up	Refrescos	3	110	
Almacén	Porcelanord	Depósito	1	035	
Auxiliar de la construcción	Zyca	Estanterías y andamios	1	004	
	Dardo	Fabricante de cerraduras de seguridad y otros productos metalúrgicos para el edificio	1	008	
	Technologies Unies Ceramiques	Producción y comercialización de materiales cerámicos de construcción	1	020	Residuos sólidos (escombros)
	S.M.I.L.	Materiales de construcción	1	022	
	Socadet	Fabricación de suelos(baldosas) de granito	1	032	
	Jacob de la Fon Maroc	Industria cerámica sanitaria	1	036	
	Bloc Soborotrac	Fabricación de materiales de la construcción	3	091	
Auxiliar de la industria	Soplamed	Plásticos para embalar y tubos para la instalación de electricidad	1	012	Compuestos organoestánicos
Auxiliar del automóvil	Plastex Maroc	Fabricación de productos relacionados con los frenos (pastillas...)	2	046	Contaminación asbesto

**Cont. Tabla A.11.6. Relación de industrias pertenecientes a la "AZIT" y tipos de vertidos asociados con la naturaleza de su actividad**

<i>Actividad</i>	<i>Empresa</i>	<i>Comentario</i>	<i>Calle</i>	<i>nº</i>	<i>Posibles vertidos</i>
Comercio	Chictraco	Negocio internacional	1	028	
	Ont	Importación de azúcar	3	096	
Construcción	Bloc Bourghaz	Fabricación de tubos aglomerados, bordillos de aceras	1	034	Escombros
Distribución de mercancía	Richbond	Distribución de mercancía	2	043	
Empresa farmacéutica	Somapropha-manarin	Fabricación de jeringuillas de uso único	1	002	
Industria cerámica	Estudio Cerámico Maroc	Fabricación de piezas especiales en cerámica	1	117	Residuos sólidos (escombros)
Industria cerámica	Ceramver	Artículos en loza, vajillas de tabla	2	071	
	Faincerie du Nord	Vajilla de tabla en loza	2	072	
Industria del papel	Safripac	Productos de papel para la industria textil	1	019	Residuos tóxicos, resinas ácidas, compuestos orgánicos de azufre, compuestos clorados
	L.I.M.A.G. (marembal)	Sacos de papel	2	059	
	Gemaplast	Fabricación de sacos grandes para embalar	3	100	
Industria eléctrica	O.G.E.	Fabricación de material eléctrico	2	038	
Industria electrónica	Electrochimie Africaine	Fabricación de pilas secas eléctricas	1	018	
Industria óptica	Indo Maroc		1	005	
Industria óptica	Beton Rapide du Nord		1	011	
Industria química	Chimique du Nord	Importación, fabricación y comercialización de productos químicos para el automóvil, la industria, etc.	1	023	
	Tánger Cosmetic	Industria de productos cosméticos	2	055	



**Cont. Tabla A.11.6. Relación de industrias pertenecientes a la "AZIT" y tipos de vertidos asociados con la naturaleza de su actividad**

Actividad	Empresa	Comentario	Calle	nº	Posibles vertidos
Industria química	Abrasifs du Maroc	Fabricación de piedras abrasivas	3	097	
	Oxyplast Maroc	Fabricación de pintura termoestable en polvo	3	111	Emisiones de azufre y residuos peligrosos generados en la fabricación de dióxido de titanio
	Barboul Marocaine	Fabricación de emulsión de betún	3	086	
	Matasa-Soplast	Fabricación de abrasivos	3	093	
Materias primas	Rif Marbre	Trabajo y venta de mármol bruto y terminado	2	047	
Metalurgia	Comega	Fabricación de máquinas, metalurgia	1	004	Partículas atmosféricas de SO <sub>x</sub> , CO, NO <sub>x</sub> fluoruros y humos rojos
Metalurgia	Industube, S.A.	Fabricación de tubos de acero	2	077	Escorias básicas relativamente ricas en fósforo, partículas atmosféricas de SO <sub>x</sub> , CO, NO <sub>x</sub> fluoruros y humos rojos
Metalurgia	Aluminium du Maroc S.A.	Aluminio	2	078	Gases de combustión (CO <sub>x</sub> , NO <sub>x</sub> ), escorias de Al y escorias salinas
Papelería	Afric Industries	Papel, bandas abrasivas, películas adhesivas, polipropileno P.V.C.	3	107	Residuos tóxicos, resinas ácidas, compuestos orgánicos de azufre, compuestos clorados
Plásticos	Plastidet	Fabricación de bolsas(sacos) de plástico para la industria y la agricultura	3	108	Compuestos organoestánicos
Servicios	Raid	Distribución de agua y electricidad a la provincia de Tánger	3	098	

**Cont. Tabla A.11.6. Relación de industrias pertenecientes a la "AZIT" y tipos de vertidos asociados con la naturaleza de su actividad**

Actividad	Empresa	Comentario	Calle	nº	Posibles vertidos
Textil	Fibrotex	Tejido de fibras sintéticas	1	001	Efluentes ácidos o básicos con materia orgánica y sólidos en suspensión, blanqueadores, hipoclorito, peróxido colorantes, resinas, catalizadores, descarga de detergentes, emulsionantes, secuestrantes, disolventes
	Tulantex	Realización de uniformes de trabajo	1	006	
	Clinic Dress Maroc	Confección para la exportación	1	007	
	Intex S.A.	Tejido de coberturas(cobertores)	1	009	
	Filka	Lana peinada	1	010	
	Emimar	Confección para la exportación	1	011	
	Chatex	Cortinas y encajes	1	013	
	International Underwear		1	025	
	Promo. Indust. Tangeroise		1	026	
	Creatis	Tejido de muebles	1	027	
	Sanger Confection	Confección de pantalones	1	030	
	Confection Najm		1	031	
	Nordatex		1	033	
	Caricom	Confección para la exportación	1	116	
	Nasartex	Cortinas, encajes rígidos y elásticos, lycra	1	118	
	Omitex	Tejido de jersey	2	039	
	Imantex	Cortinas y encajes	2	041	
Manufacture Text. Du Nord	Fabricación de cobertores	2	042		
Filka	Hilado y tinte de todo tipo de fibras	2	044		

**Cont. Tabla A.11.6. Relación de industrias pertenecientes a la "AZIT" y tipos de vertidos asociados con la naturaleza de su actividad**

Actividad	Empresa	Comentario	Calle	nº	Posibles vertidos
Textil	Ticomar		2	045	Efluentes ácidos o básicos con materia orgánica y sólidos en suspensión, blanqueadores, hipoclorito, peróxido colorantes, resinas catalizadores, descarga de detergentes, emulsionantes, secuestrantes, disolventes
	Socodet	Tejidos de lujo, terciopelo encaje de satén y algodón	2	047	
	Boveltex	Velos y tejidos de mobiliario	2	048	
	Patritex		2	049	
	Siham Couvertures	Fabricación de coberturas(cobertores)	2	050	
	Beautex	Fabricación de franjas de hilado y tejido de cobertores de camas	2	052	
	Kendzia	Manufactura de prendas de vestir	2	053	
	Viotex	Confección de prendas de vestir para mujeres	2	054	
	Bravo Textiles	Fabricación de ropa prêt-à-porter	2	057	
	Samatex	Fabricación de tejidos de malla, bandas elásticas	2	061	
	Notex	Confección	2	064	
	Turbofil	Hilado de algodón	2	065	
	Atlas Fils	Hilado de lana y algodón	2	066	
	Artlander	Confección	2	067	
	Indusco	Fabricación de moqueta	2	070	
Baltaxon	Tejido de punto, tinte, acabado y preparación de tejidos	2	074		

**Cont. Tabla A.11.6. Relación de industrias pertenecientes a la "AZIT" y tipos de vertidos asociados con la naturaleza de su actividad**

Actividad	Empresa	Comentario	Calle	nº	Posibles vertidos
Textil	Norprotex	Manufactura de prendas de vestir	2	073	Efluentes ácidos o básicos con materia orgánica y sólidos en suspensión, blanqueadores, hipoclorito, peróxido colorantes, resinas catalizadores, descarga de detergentes, emulsionantes, secuestrantes, disolventes
	Filzatex	Fabricación de bolsos, tejidos en plásticos y redes de embalajes	2	076	
	Sofatil	Fabricación de alfombras	3	079	
	Deritex	Hilado y tejido	3	080	
	Farjani	Fabricación de productos primarios de la industria textil	3	080	
	Gatan	Tinte de fibras	3	080	
	Selwika	Confección de pantalones	3	082	
	Soficosine	Hilado de fibra sintética y algodón	3	087	
	N.T.T. Confection	Confección de ropa infantil	3	089	
	Mantafil	Hilado y tejido de cobertores de lana y fibras sintéticas	3	090	
	Cititex	Tejido	3	092	
	Simtex		3	095	
	Sonappe-Solinge-Effiloche	Fabricación de guatas y cobertores	3	109	
	Sachatex	Textil y confección	3	112	
	Sogatex	Sociedad general del textil	3	114	
	Cotexbo	Fabricación y confección de <i>pull-over</i>	3	115	
	Soficotex	Producción de coberturas (cobertores)	1	003	
	Tapix Flex	Colchones y somiers	2	063	
Línea Plus	Fabricación de zapatos	3	103	Efluentes con sulfuro y cromo	

**Cont. Tabla A.11.6. Relación de industrias pertenecientes a la "AZIT" y tipos de vertidos asociados con la naturaleza de su actividad**

Actividad	Empresa	Comentario	Calle	nº	Posibles vertidos
Textil	Nouvelles Tanneries Tangeloise	Zapatos hombres y niños	3	104	Efluentes con elevada concentración de sulfuros y cromo
	Tanger Shoes	Fabricación de zapatos de cuero	3	106	
Varios	Sparta		1	014	
	Plasmedi		1	015	
	Promotechnic		1	016	
	Stermedic		1	017	
	Bloc du Nord		1	021	
	Tramenord	Perfilado en frío	1	024	
	Filark		1	029	
	Entasa		2	037	
Varios	Induplast	Fabricación de plásticos	2	043	
	Bricta		2	051	
	Magatex		2	056	
	Mekki & Fils		2	060	
	Rally Plastic	Plásticos	2	062	
	Trimar Maroc		2	068	
Refrigeración	Alom du Nord	Productos de aluminio	2	075	
Varios	Uniontex		3	081	
	Driouch		3	088	
	Kem S.A.	Calderería-montaje	3	094	
	Llorens Maroc		3	101	
	Chamalinox		3	102	
	Maillard & Duclos		3	105	
	Grand Maghreb Industrie	Confección de ropa y pieles	3	113	

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

**García-Vargas M., Milla M., Hidalgo J. L. y Bautista Rodríguez J. M.** Spectral (UV-VIS, I.R. and MS), electrochemical and metallochromic properties of 2-hydroxy-benzoylhydrazones of acetylpyridines. *Spectrochimica Acta* 43, 355-360 (1987).

**IUPAC. McNaught A. D. y Wilkinson A.** Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Oxford. Blackwell Scientific Publications (1997).

**Mongay C. y Cerdá V.** A Britton-Robinson buffer of known ionic strength. *Annali di Chimica* 64, 23 (1977).

**VA Application Note No. V-125.** Determination of traces of iron in water (1-nitroso-2-naphthol method).

**VA Application Note No. V-69.** Determination of nickel and cobalt in seawater.

**VA Application Note No. V-83.** Determination of Zn, Cd, Pb, Cu in waste water after UV digestion.

