



**UNIVERSIDAD DE OVIEDO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**DETERMINACIÓN DE CLORUROS EN  
AGUAS RESIDUALES PROCEDENTES DE LA  
INDUSTRIA AGROALIMENTARIA**

**(Química Analítica)**

**TRABAJO FIN DE GRADO EN QUÍMICA**

***Laura Gil Fernández***

**Oviedo, Junio, 2022**

## ÍNDICE

RESUMEN. ....	1
1. INTRODUCCIÓN .....	2
1.1. Aguas residuales .....	2
1.2. Clasificación aguas residuales .....	3
1.3. Legislación Española sobre sustancias peligrosas y límites de emisión de vertidos ....	4
1.4. Ion cloruro. ....	6
1.5. Métodos de determinación de cloruros. ....	6
2. OBJETIVOS. ....	8
3. METODOLOGÍA. ....	9
3.1. Materiales y reactivos. ....	9
3.1.1. Turbidimetría. ....	9
3.1.2. Cromatografía iónica. ....	9
3.2. Instrumentación. ....	9
3.2.1. Turbidimetría. ....	9
3.2.2. Cromatografía iónica. ....	9
3.3. Procedimiento operativo. ....	9
3.3.1. Turbidimetría. ....	9
3.3.2. Cromatografía iónica. ....	10
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. ....	11
4.1. Turbidimetría. ....	11
4.1.1. Selección de longitud de onda de medida. ....	11
4.1.2. Medida de patrones y muestra. ....	12
4.2. Cromatografía iónica. ....	14
4.2.1. Medida de patrones y muestra. ....	14
4.2.2. Estudio de recuperaciones. ....	17
4.3. Comparación de los métodos turbidimétrico y de cromatografía iónica. ....	19
5. CONCLUSIONES. ....	20
6. BIBLIOGRAFÍA. ....	21
6.1. Artículos científicos, libros y leyes. ....	21
6.2. Páginas web. ....	23

## ACRÓNIMOS

CCAA: Comunidades Autónomas

DBO: Demanda Biológica de Oxígeno

DDT: Dicloro Difenil Tricloroetano

DQO: Demanda Química de Oxígeno

EPA: Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos

FIA: Análisis por Inyección en Flujo (Flow Injection Analysis)

IC: Cromatografía Iónica (Ion Chromatography)

LOD: Límite de detección (Limits Of Detection)

LOQ: Límites de cuantificación (Limits Of Quantification)

R<sup>2</sup> : Coeficiente de determinación

RSD: Desviación Estándar Relativa

VIS-UV: Visible-Ultravioleta

## RESUMEN

El presente trabajo trata la determinación de cloruros en aguas residuales agroalimentarias. El ion cloruro es un ion inorgánico que se encuentra en importantes cantidades en todo tipo de aguas, siendo muy necesario en el agua potable; pero en lo referido a las aguas residuales, y sobre todo a las derivadas de la industria agroalimentaria, la excesiva presencia de cloruros es un indicador de contaminación que afecta tanto a las mismas propiedades del agua como a todo el medio ambiente. Actualmente, la contaminación en el agua es uno de los problemas más preocupantes en el mundo, y por ello en España, a nivel autonómico, se han establecido leyes que rigen los niveles límite de varias sustancias, entre ellas los cloruros. Por esta razón, es de gran importancia el análisis de cloruros en las aguas procedentes de las industrias y en especial de las agroalimentarias vinculadas por ejemplo a la conservación de alimentos en salmuera.

Para ese fin, se han evaluado dos métodos diferentes de análisis, la turbidimetría y la cromatografía iónica, con la intención de comparar ambas técnicas y establecer cuál es la idónea para esta determinación según sus características analíticas. Ambos métodos se validaron en términos de reproducibilidad proporcionando valores de RSD (%) entre 3,9 - 9,5 y 2,1 - 17,3, respectivamente. Los LODs fueron de 129 y 3,1 ppm; los LOQs de 430 y 10,4 ppm; y los tiempos de análisis fueron de 1 minuto y 5 minutos, respectivamente. La cuantificación de los cloruros en la muestra se llevó a cabo mediante calibrado externo y se realizó un estudio de recuperaciones en cromatografía iónica, obteniéndose valores en un rango entre el 63 y el 107%.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Aguas residuales

En las últimas décadas, gobiernos y naciones han venido mostrando preocupación y están tratando de resolver los problemas relacionados con el estado de las aguas residuales provenientes del uso doméstico, comercial e industrial, que se convierten en potenciales vehículos de muchas enfermedades y provocan una alteración negativa del medioambiente (w.a).

El concepto de aguas residuales hace referencia a todo tipo de agua que haya sido afectada de forma negativa por la acción del ser humano y que no tiene valor inmediato para el fin para el que se utilizó ni para el propósito para el que se produjo debido a su calidad, cantidad o al momento en que se dispone de ella (w.b). En este sentido, las aguas residuales son todas aquellas aguas que han sido usadas en entornos domésticos y/o urbanos, en las industrias y ganaderías, además de las aguas naturales que, por accidente o mal uso, se hayan mezclado con las anteriores. Así, nos encontramos con que las aguas residuales pueden poseer una gran cantidad de elementos contaminantes, ya sean sólidos o disueltos en la misma agua (w.c). Se excluyen de esta definición aquellas aguas que aun siendo naturales no sean aptas para el consumo humano o todas las aguas que, aun siendo afectadas por el ser humano, sí son aptas para consumo (w.b).

Respecto a la contaminación que pueden tener las aguas residuales se puede decir que se trata de una variedad casi tan amplia como las acciones que el ser humano haya podido realizar sobre el agua. Se pueden encontrar: productos químicos procedentes de uso doméstico, como jabones, detergentes, cosméticos; productos sólidos domésticos, como papel higiénico, toallitas “desechables” de algodón, plásticos; metales pesados y halógenos procedentes de la industria, como plomo, zinc, mercurio, cadmio, bromo, cloro; y restos orgánicos procedentes, principalmente, de la materia fecal y los orines (w.b).

Una parte importante de la contaminación ambiental que está afectando a nuestros ecosistemas acuáticos proviene del vertido de estas aguas mal depuradas o sin depurar; como consecuencia de la falta de plantas de tratamiento para las aguas residuales en las ciudades, industrias, hoteles y explotaciones mineras, agrícolas y ganaderas, además del insuficiente tratamiento de depuración que se les aplica, ya que deben recibir un tratamiento adecuado que modifique sus condiciones físicas, químicas y microbiológicas. La mayoría de estas aguas es descargada en ríos, lagos, mares, en suelos a cielo abierto o en el subsuelo, a través de pozos sépticos y rellenos sanitarios, ocasionando graves problemas de contaminación que afectan al medio ambiente, como (w.a, 1)

- Los sólidos en suspensión aumentan la turbidez del agua, impidiendo la entrada de luz y la fotosíntesis, reduciendo la producción de  $O_2$ .

- Los cambios en la conductividad pueden impedir la supervivencia de diversas especies de flora y fauna.
- El aumento de nutrientes provoca la eutrofización del agua por el crecimiento de algas que conlleva un mayor consumo de oxígeno, pudiendo generar condiciones anóxicas en el medio.
- El aumento de la materia orgánica aumenta la actividad microbiana provocando una reducción del nivel de oxígeno en el medio.
- Aumento de microorganismos patógenos y de microcontaminantes que son tóxicos para la vida acuática y para el ser humano (1).

### *1.2 Clasificación aguas residuales*

La clasificación de las aguas residuales puede hacerse atendiendo a diferentes características, según la cantidad y tipo de sustancias químicas, según sus características microbiológicas, según su porcentaje de materia en suspensión, o según su procedencia, siendo esta la más utilizada por la facilidad:

- **Aguas residuales domésticas.** Se originan en las viviendas o en instalaciones comerciales privadas y/o públicas, y se componen de aguas de lavado, fecales y limpieza. Tiene una alta concentración de contaminantes orgánicos y sólidos sedimentables, así como de bacterias, gérmenes patógenos, detergentes, fósforo y nitrógeno, etc.
- **Aguas residuales pecuarias.** Proceden de actividades ganaderas. Tienen características similares a las domésticas debido a su procedencia animal y los marcadores microbiológicos son similares a los domésticos. Estas aguas contienen elevados niveles de contaminantes derivados de productos químicos que se usan para criar al ganado y, especialmente, de los que se derivan de los purines de los animales, es decir, desechos fecales y orines. Estos contaminantes son muy peligrosos, ya que pueden afectar a la fertilidad de los suelos, pudiendo convertir un suelo fértil en un suelo totalmente tóxico saturado de partículas fecales.
- **Aguas residuales de origen agrícola.** El origen de esta contaminación reside en el transporte, por aguas pluviales y aguas de riego, de los productos usados en la agricultura hacia ríos, embalses o acuíferos que serán los receptores de este tipo de contaminación. Estas actividades agrícolas generan dos tipos de contaminantes dependiendo de si se utilizan abonos o pesticidas.
- **Aguas residuales industriales.** Proceden de la actividad industrial. Aquí se incluyen las aguas desechadas de fábricas, de plantas de producción energética o de cualquier otra actividad que esté destinada a la fabricación de productos consumibles o productos manufactureros. Este tipo de agua residual se caracteriza por tener un elevado nivel de contaminantes de metales

pesados, como el plomo, el níquel, el cobre, el mercurio, o el cadmio, además de contener cantidades ingentes de elementos químicos artificiales de una variedad amplísima.

- **Aguas de escorrentía urbanas.** Se producen por las precipitaciones de lluvia o nieve sobre un núcleo urbano. La mayor parte de esta agua terminan en el alcantarillado público, donde se unen con las aguas residuales domésticas o urbanas (w.b, w.c).

### *1.3 Legislación Española sobre sustancias peligrosas y límites de emisión de vertidos*

Más de 1000 millones de toneladas de aguas residuales son vertidas anualmente a ríos, lagos, aguas subterráneas y océanos del mundo, contaminándolos con metales pesados, disolventes, aceites, grasas, detergentes, ácidos, sustancias radioactivas, fertilizantes, pesticidas y otros productos químicos. Esta contaminación química del medioambiente se ha convertido en uno de los problemas globales más urgentes de la humanidad (w.a).

Durante los últimos años, la legislación española ha estado desarrollando, a nivel autonómico, leyes referentes a las aguas donde constan las normas de vertidos, instalaciones industriales, vertidos prohibidos, sustancias peligrosas, límites de vertido, etc. (w.d)

Según la legislación de aguas continentales, se considera vertido a toda emisión de contaminantes que se realice directa o indirectamente a las aguas continentales, así como al resto del Dominio Público Hidráulico, cualquiera que sea el procedimiento o técnica utilizada.

En los boletines oficiales de las comunidades autónomas se pueden distinguir dos tipos de limitaciones para las aguas residuales: los vertidos prohibidos y límites de vertidos. Dentro de ellos existen dos formas de enfocar ambos aspectos: de una forma generalista, referido a vertidos al Dominio Público Hidráulico o al mar; y de forma específica, referido a vertidos a la red de saneamiento. Aunque no todas las comunidades poseen legislación sobre vertidos en aguas residuales, la mayoría de ellas han optado por el enfoque generalista (2).

Respecto a los vertidos prohibidos, varias CCAA (Aragón, Cataluña, La Rioja, Navarra, País Vasco y el Principado de Asturias) establecen varios grupos en función de su procedencia, propiedades químicas o de los efectos que pueden provocar en la red de colectores. A continuación, se muestran los distintos grupos de vertidos considerados por las CCAA, ordenados de mayor a menor importancia:

- Materias sólidas o viscosas en cantidades, o tamaños tales que, por produzcan obstrucciones que impidan el buen funcionamiento del sistema o dificulten los trabajos de mantenimiento de estos. Ej.: grasas, estiércol, huesos, lúpulo, vidrio, paja, césped, mármol, etc....

- Residuos corrosivos sólidos, líquidos o gases que provoquen corrosiones a lo largo del sistema de saneamiento, como por ejemplo el ácido clorhídrico, nítrico, sulfúrico, carbónico, lejías de sosa o potasa, hidróxido amónico, etc.
- Materias que originen o puedan originar:
  - La formación de mezclas inflamables o explosivas con el aire
  - La creación de atmósferas molestas, insalubres, tóxicas o peligrosas que impidan o dificulten el trabajo del personal encargado del mantenimiento del sistema público de saneamiento (NH<sub>3</sub>, CO, Br, Cl, HCN)
- Disolventes orgánicos y clorados, pinturas, colorantes, barnices, lacas, tintes y detergentes no biodegradables.
- Cualquier tipo de sólido, líquido o gas inflamable o explosivo (gasolinas, naftas, petróleo, gasóleos, fuel-oil, aceites volátiles, tolueno, xileno).
- Gases o vapores combustibles inflamables, explosivos o tóxicos procedentes de motores de explosión.
- Desechos, productos radiactivos o isótopos de vida media corta que puedan provocar daños a personas e instalaciones.
- Residuos tóxicos o peligrosos que requieran un tratamiento específico y/o control periódico de sus efectos nocivos potenciales.
- Fármacos desechables procedentes de industrias farmacéuticas o centros sanitarios que no hayan sufrido tratamiento de eliminación de organismos patógenos.
- Aceites y grasas.
- Vertidos que dificulten y perturben el buen funcionamiento de los procesos y operaciones de las estaciones depuradoras.
- Sólidos procedentes de trituradores de residuos, tanto domésticos como industriales.

Adicionalmente, las comunidades de Madrid, Murcia y Canarias han elaborado un listado de sustancias prohibidas, entre las que se encuentran: DDT, Aldrín, Dieldrín, Endrín, Hexaclorociclohexano que contenga menos del 99% del isómero gamma, Heptacloro y Hexaclorobenceno, entre muchos otros.

En cuanto a los límites de vertidos, se establecen primero unos parámetros en el agua, que son prácticamente comunes para todas las CCAA, únicamente variando los valores. Estos parámetros son: pH, DBO (Demanda Biológica de Oxígeno), DQO (Demanda Química de Oxígeno), sólidos en suspensión, temperatura, conductividad, color, sólidos gruesos, material sedimentable y aceites y grasas. Por último, en los boletines oficiales de cada comunidad están establecidas las sustancias con límites de emisión, las cuales no son comunes para todas las CCAA. Cada comunidad establece las sustancias incluidas en este grupo y sus valores límites. Dado que en este trabajo trataremos de



desarrollar una metodología analítica para la determinación de cloruros en aguas residuales de la industria alimentaria, en la Tabla 1 se muestran los valores límites de cloruro que se recogen en la legislación de algunas CCAA.

Tabla 1. Valores límite de cloruros en diferentes Comunidades Autónomas de España (3, 4, 5, 6)

	<b>Aragón</b>	<b>Cataluña</b>	<b>La Rioja</b>	<b>Comunidad Foral de Navarra</b>
$Cl^{-}$ (mg/L)	2000	2500	2000	2000

Se puede observar en la Tabla 1 que solo cuatro comunidades tienen establecido un límite en la cantidad de cloruros que puede tener un agua residual. En el caso de nuestra comunidad autónoma, no hay ningún valor límite establecido por lo que se tomará como referencia los valores marcados en las otras comunidades.

#### 1.4 Ion cloruro

El ion cloruro es uno de los iones inorgánicos que se encuentran en mayor cantidad en aguas naturales, residuales no tratadas y residuales tratadas, y su presencia es necesaria en aguas potables.

Como ocurre con otras sustancias, la cantidad de cloruros presentes en el medio natural se ve muy afectada por las descargas de aguas residuales, cuando estas no son correctamente tratadas. Este alto contenido de cloruros en las aguas residuales puede producir daños en estructuras metálicas, evitar el crecimiento de plantas, y dañar campos agrícolas, es decir, deteriorar la calidad del suelo. Es entonces importante el poder determinar la concentración de cloruros en aguas residuales al ser, la excesiva presencia de cloruros, un indicador de contaminación afectando el equilibrio del medio y también las propiedades del agua (7, 8).

#### 1.5 Métodos de determinación de cloruros

A continuación, se van a detallar los métodos analíticos encontrados en la bibliografía para la determinación de cloruros en agua, y la posterior discusión sobre cuál es el más adecuado para la realización de este Trabajo Fin de Grado, teniendo en cuenta parámetros como las características analíticas de cada método, sencillez, rapidez, uso de reactivos y disponibilidad. Las técnicas encontradas han sido la potenciometría, la espectrofotometría VIS-UV y la cromatografía iónica.

Con respecto a la detección potenciométrica, ésta utiliza electrodos selectivos de iones y no es necesaria la realización de ninguna reacción antes de la detección, por lo que es bastante sencilla y rápida. Tiene límites de cuantificación bajos (0,4 mg/L) y alta sensibilidad (9).

En lo que respecta a la detección mediante espectrofotometría VIS-UV, se han encontrado diferentes procedimientos, que se detallan a continuación:

- **Sistema  $AgNO_3/KSCN/Fe^{+3}$** . Se basa en el método Voldhard, que es muy sencillo y rápido, pero a la vez poco preciso y tiene una baja reproducibilidad; por lo que no es una buena propuesta metodológica para su implementación en laboratorios de análisis de aguas (10).
- **Sistema  $Fe^{+3}/Hg(SCN)_2/Cl^-$** . Se basa en la absorbancia del complejo  $[Fe(SCN)]^{+2}$  a 480 nm y tiene un rango lineal es de  $8 * 10^{-3}$  a 2 mg/L. Este tipo de detección está acoplado a un sistema inyección en flujo (FIA), con un tiempo de análisis de 15 muestras a la hora; pero también puede utilizarse un sistema de Análisis por Inyección en Flujo Multijeringa, con un rango lineal de 1 a 4 mg/L y un tiempo de análisis de 130 muestras a la hora, o de Análisis Secuencial de Inyección con un rango lineal de 0 a 50 mg/L y un tiempo de análisis de 37 muestras a la hora (11).
- **Sistema  $Hg/EDTA/Cl^-$** . Se basa en la detección del complejo  $Hg/EDTA/Cl^-$  a 250 nm y un rango lineal de 1,8 a 35,5 mg/L. Este tipo de detección está acoplado a un sistema FIA con un tiempo de análisis de 60 muestras a la hora (12).
- **Sistema  $AgNO_3/Cl^-$  (Turbidimetría)**. Se basa en la medida de la turbidez del  $AgCl$  a 410 nm. Tiene un rango lineal de 2 a 400 mg/L y un tiempo de análisis de unas 56 muestras a la hora usando un sistema FIA (13).

Ninguno de estos sistemas necesita pretratamiento de muestra, lo que los hace ser rápidos y sencillos. Además, es la técnica más citada en bibliografía para la determinación de cloruros en aguas y no presenta interferencias de matriz. De todos ellos, el único que no utiliza reactivos tóxicos, como las sales de mercurio, es el sistema  $AgNO_3/Cl^-$ , es decir, la turbidimetría.

Otra alternativa para la determinación de cloruros es la cromatografía iónica (IC), que es cada vez más popular para el análisis de muestras medioambientales por su alta precisión y confiabilidad. Además, ha sido reconocida por la Agencia de Protección Ambiental de los EE. UU. (EPA) como el mejor método para la determinación de aniones en aguas naturales. El único pretratamiento de muestra necesario es la filtración y congelación a 4°C para minimizar la degradación biológica. Tiene una alta resolución de picos, incluso con concentraciones altas de cloruro, buena reproducibilidad y no presenta interferencias de matriz; además es un método sencillo y rápido (análisis cada diez minutos) (14).

A continuación, se exponen, en la Tabla 2, de forma comparada las diferentes metodologías que se podrían plantear para el desarrollo del trabajo. Teniendo en cuenta las características de las metodologías propuestas, se ha decidido seleccionar dos técnicas para la determinación de cloruros: la turbidimetría, ya que además de ser una técnica rápida, sencilla y reproducible, utiliza un detector VIS-UV, muy común en los laboratorios de rutina y no son necesarias cantidades

elevadas de reactivos, lo que hace que sea un método barato; y la cromatografía iónica, ya que es una técnica muy rápida, precisa y actualmente muy utilizada en la determinación de iones en agua.

Tabla 2. Comparativa de los diferentes métodos para la detección de cloruros en agua

<b>Técnica analítica</b>	<b>Sistema</b>	<b>Rango lineal (mg/L)</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Inconvenientes</b>	<b>Ref.</b>
<i>Potenciometría</i>	-	-	No necesita reacción	Pretratamiento de muestra	(9)
<i>Espectrofotometría VIS-UV</i>	AgNO <sub>3</sub> /KSCN/Fe <sup>+3</sup>	40-200	Muy sencillo	Baja reproducibilidad	(10)
	Fe <sup>+3</sup> /Hg(SCN) <sub>2</sub> /Cl <sup>-</sup>	8 * 10 <sup>-3</sup> -2	Rápida	Reactivos tóxicos	(11)
	Hg/EDTA/Cl <sup>-</sup>	1,8 -35,5	Rápida	Reactivos tóxicos	(12)
	AgNO <sub>3</sub> /Cl <sup>-</sup>	2 - 400	Rápida, sencilla y no reactivos tóxicos	-	(13)
<i>Cromatografía iónica</i>	-	0,1-10	Alta precisión y rapidez	-	(14)

## 2. OBJETIVOS

El principal objetivo de este trabajo es desarrollar una metodología válida para la determinación de cloruros en aguas residuales procedentes de la industria agroalimentaria, que pueda ser utilizada como herramienta de control de aguas residuales teniendo en cuenta los criterios establecidos en las legislaciones autonómicas correspondientes.

Para ello, se evaluarán y caracterizarán dos metodologías para el análisis de cloruros en aguas: la turbidimetría con detección VIS-UV y la cromatografía iónica. Las metodologías seleccionadas se aplicarán al análisis de aguas residuales procedentes de la industria agroalimentaria, concretamente la asociada a la conservación de vegetales en salmuera.

### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1 Materiales y reactivos

##### 3.1.1 Turbidimetría

- Agua destilada
- Cloruro de sodio (patrón de 99% de pureza, Merck)
- Nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ )
- Alcohol polivinílico (PVA)
- Ácido nítrico concentrado al 60% (calidad analítica, Merck)
- Muestra de agua residual agroalimentaria simulada (salmuera de conservas)

##### 3.1.2 Cromatografía iónica

- Agua Mili-Q
- Carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) de calidad HPLC
- Hidrogenocarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) de calidad HPLC
- Cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$ )
- Muestra de agua residual agroalimentaria simulada (salmuera de conservas)

#### 3.2 Instrumentación

##### 3.2.1 Turbidimetría

- Espectrofotómetro VIS-UV THERMO SCIENTIFIC - GENESYS 30
- Cubetas de plástico de 4,5mL
- Material de laboratorio de uso común en análisis químico

##### 3.2.2 Cromatografía iónica

- Cromatógrafo iónico DIONEX IC-1100 equipado con un detector conductimétrico en combinación con un sistema supresor electroquímico Dionex ASR-300 y una columna cromatográfica Ion Pac AS22 (4x25mm) + Ion Pac AG22 (4X50mm).
- Jeringa de plástico de 5mL
- Filtros de jeringa de 0,45  $\mu\text{m}$
- Material de laboratorio de uso común en análisis químico

#### 3.3 Procedimiento operativo

##### 3.3.1 Turbidimetría

A continuación, se describirá el procedimiento operativo seguido para la determinación de cloruros mediante turbidimetría (13). Esta metodología se basa en la medida de la turbidez producida por la precipitación del cloruro de plata ( $\text{AgCl}$ ) de acuerdo con la siguiente reacción:



En una primera etapa del proceso analítico se prepararon las disoluciones necesarias para llevar a cabo la reacción:

- Disoluciones patrón de cloruro. A partir de una disolución madre de NaCl de 1000ppm, preparada con el patrón sólido de NaCl, se prepararon disoluciones en el rango de concentraciones 50 a 250 ppm de cloruro.
- Disolución de  $\text{AgNO}_3$  0,1M. Se disolvieron 1,7 g de  $\text{AgNO}_3$  en agua destilada.
- Reactivo de precipitación. Se disolvieron 0.0625g de alcohol polivinílico (PVA) en agua hirviendo, se dejó enfriar y se añadieron 43mL de  $\text{HNO}_3$  al 60% y 25mL de la disolución de  $\text{AgNO}_3$  anteriormente preparada. Se enrasó hasta el volumen final con agua destilada.
- Disolución de  $\text{HNO}_3$  2M. Se añadieron 7,54mL de  $\text{HNO}_3$  al 60% a un matraz y se enrasó con agua destilada.

Posteriormente se seleccionó la longitud de onda de medida. A fin de comprobar que la mencionada en la bibliografía era correcta, se recogió un espectro del patrón de 1000ppm realizando un barrido desde 330nm hasta 900nm.

Después, se realizaron las medidas de las disoluciones patrón preparadas para el calibrado por triplicado, añadiendo en la cubeta de medida 750uL del reactivo de precipitación, 225uL de la disolución tapón de  $\text{HNO}_3$  y 60uL de cada patrón.

Finalmente se llevó a cabo a la preparación de la muestra y su posterior medida. No fue necesario ningún pretratamiento de muestra antes de la medida, pero se tuvo que realizar una dilución de la muestra ya que, la concentración de cloruros de la muestra sobrepasaba el rango lineal recomendado para el calibrado.

### 3.3.2 Cromatografía iónica

Para el análisis por cromatografía iónica, fue necesario llevar a cabo la preparación de las siguientes disoluciones (15):

- Fase móvil cromatográfica (4,5mM  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  + 1,4 mM  $\text{NaHCO}_3$ ). Se pesaron 0,4770 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y 0,1176 g de  $\text{NaHCO}_3$  y se llevaron a 1L con agua Mili-Q.
- Disoluciones patrón de cloruro. A partir de una disolución madre de NaCl de 1000ppm, se prepararon disoluciones en el rango de concentraciones 1 a 50 ppm de cloruro.

Con posterioridad, se llevó a cabo la preparación de la muestra, en la que ésta se filtró con un filtro de jeringa de 0,45  $\mu\text{m}$ , antes de introducirlas en el sistema cromatográfico. Además, se realizó una

dilución de la muestra, para que la señal de la misma se correspondiese con el rango lineal del calibrado.

Antes de la medida de patrones y muestras, se fijaron los parámetros instrumentales recomendados por la casa comercial para la determinación de cloruros (detallados en el manual de instrucciones del equipo), y que son las siguientes:

- Temperatura de la columna: 30°C
- Caudal: 1,2 mL/min
- Volumen de inyección: 25µL
- Corriente: 31 mA

Previo a la realización del análisis, es necesario llevar a cabo la desgasificación de la fase móvil con He durante 5 minutos. Una vez desgasificada, se realizaron las medidas de patrones y muestra por triplicado usando una jeringa de plástico de 5mL evitando que se formaran burbujas en ella.

Para finalizar, se evaluó la recuperación del método, en la que se midieron 3 muestras a las que se añadieron concentraciones conocidas y crecientes de cloruros (5, 10 y 30ppm).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Primeramente, se mostrarán los resultados obtenidos mediante la técnica de turbidimetría; seguidamente, los obtenidos por cromatografía iónica; y finalmente se compararán y se discutirán ambas propuestas metodológicas.

### 4.1 Turbidimetría

#### 4.1.1 Selección de longitud de onda de medida

Se realizó un barrido desde 330nm hasta 900nm del patrón de 1000ppm añadiendo en la cubeta de medida: 750uL del reactivo de precipitación, 225uL de la disolución tapón de HNO<sub>3</sub> y 60uL de patrón. Según la bibliografía, la longitud de onda más adecuada para la medida turbidimétrica es 410nm, y en el espectro obtenido que se muestra en la Figura 1 se observa un aumento de la señal a medida que disminuye la longitud de onda. Teniendo en cuenta el valor de absorbancia obtenido, a dicha longitud de onda, se consideró como adecuado para el análisis turbidimétrico (13).

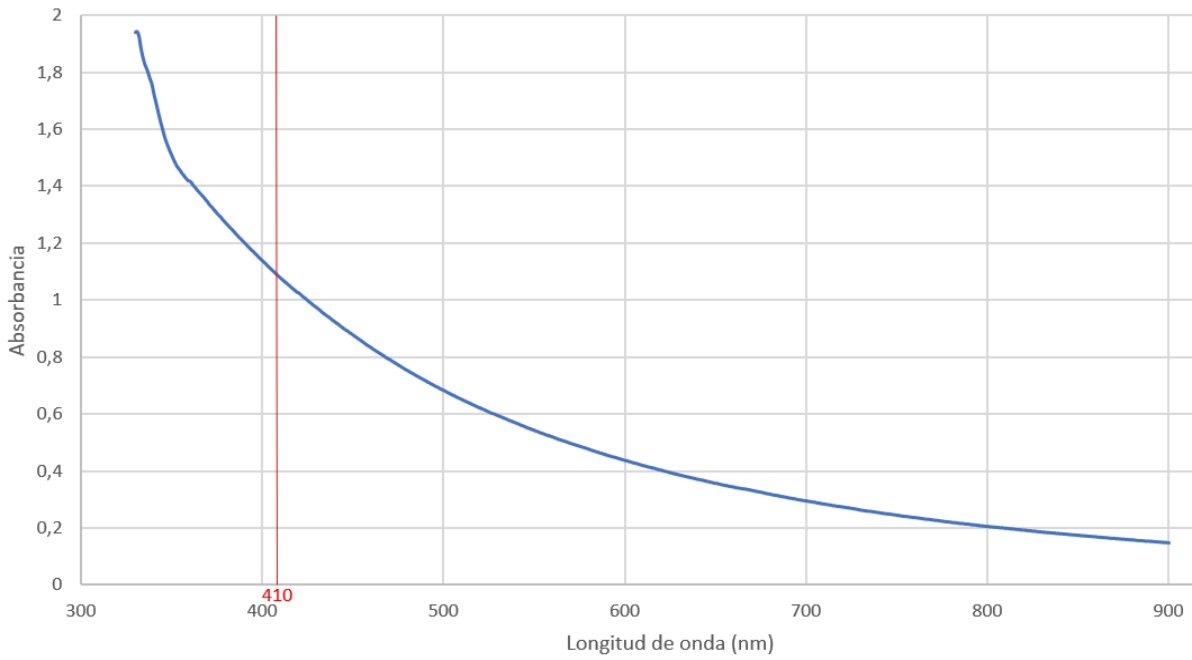


Figura 1. Barrido del patrón de 1000ppm

#### 4.1.2 Medida de patrones y muestra

Una vez seleccionada la longitud de onda de medida, se realizó la medida de los patrones de cloruros en el rango de concentración 50-250 ppm, para la realización del calibrado externo. Para ello, se añadieron los volúmenes de cada reactivo, especificados en el apartado 4.1.1, en la cubeta (750uL del reactivo de precipitación, 225uL de la disolución tapón de HNO<sub>3</sub> y 60uL de patrón), y se determinó la absorbancia de cada patrón por triplicado. Una vez obtenidas las medidas, se representó absorbancia vs. concentración (ver Figura 2).

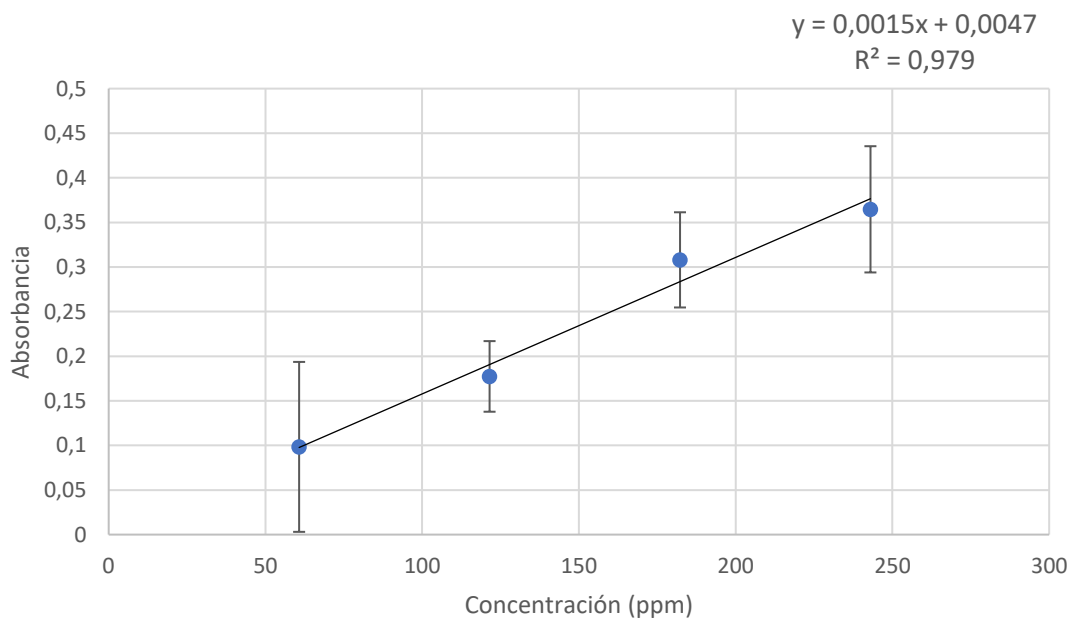


Figura 2. Recta de calibrado por patrón externo para la determinación de cloruro mediante turbidimetría

El calibrado presenta un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0,979, un límite de detección (LOD) de 129ppm y un límite de cuantificación (LOQ) de 430ppm. El LOD se estimó como 3 veces la desviación estándar de la ordenada en el origen de la recta de calibrado, dividida entre el valor de la pendiente de la recta. Así mismo, el LOQ se calculó multiplicando por 10 la desviación estándar de la ordenada en el origen de la recta de calibrado y dividiendo entre el valor de la pendiente de la recta. Tanto el LOD como el LOQ son superiores al valor mínimo medido en el calibrado, lo que supone un error en la estimación de los LOD y LOQ, y éste se puede explicar, porque las concentraciones y las señales de la recta de calibrado utilizadas para la cuantificación de ambos parámetros son muy distintas de las correspondientes al límite de detección, y ello nos obliga a hacer una extrapolación. Lo cual significa que para transportar la señal del LOD o LOQ al dominio de la concentración es imprescindible preparar una recta de calibrado en bajas concentraciones. Por ello, para una estimación más real es necesario la realización de un nuevo calibrado, que en el periodo de laboratorio no fue posible realizar (16).

Además, tal y como se muestra en la Figura 2, donde se han detallado los errores de la medida, se observa una gran dispersión en los resultados, es decir, una baja reproducibilidad, por lo que se decidió medir adicionalmente el patrón de 243ppm por triplicado usando cada vez una cubeta nueva. A modo de ejemplo, en la Figura 3, se muestran las absorbancias de las tres réplicas analizadas del patrón de 243ppm, en las que se observó que la reproducibilidad era semejante ( $RSD=8\%$ ), por lo que el “factor cubeta” no intervenía.

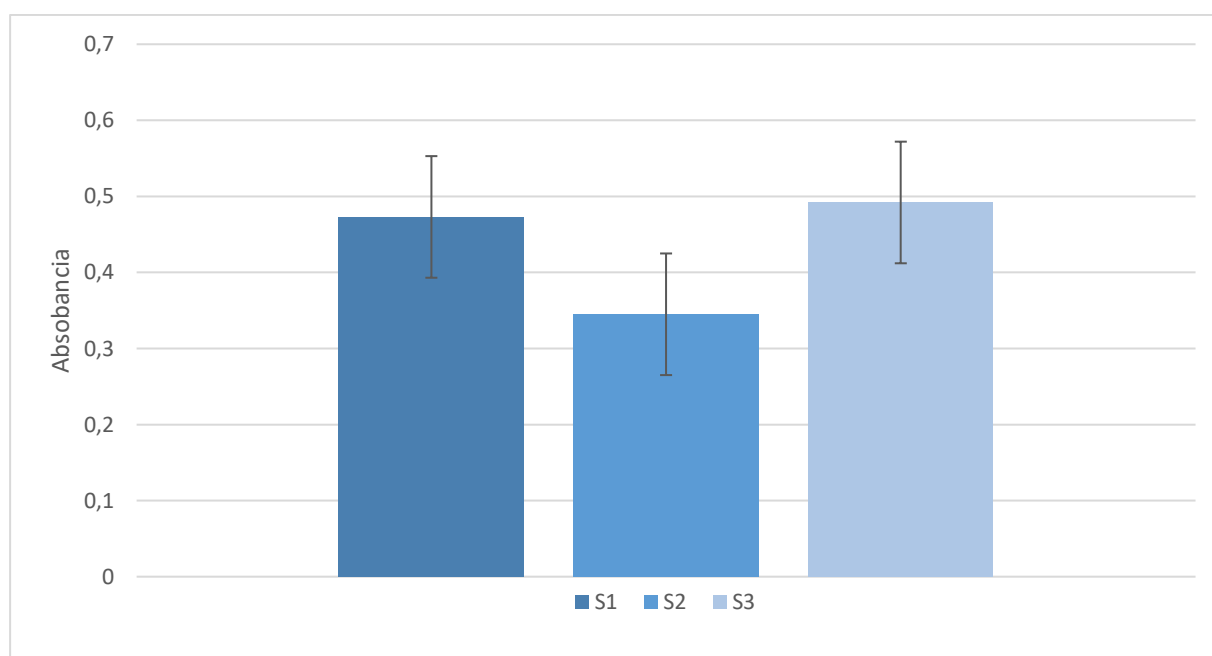


Figura 3. Medidas del patrón 243ppm cambiando cubeta de medida cada vez



Por último, se midió por triplicado la muestra de agua procedente de la industria agroalimentaria de conservación de alimentos en salmuera, obteniendo los resultados mostrados en la Tabla 3. También se puede ver que la reproducibilidad en la medida de las muestras es baja.

*Tabla 3. Resultados obtenidos en las medidas de la muestra de agua procedente de la industria agroalimentaria de conservación de alimentos en salmuera*

<b>Muestra</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración de Cl<sup>-</sup> en la disolución medida (ppm)</b>	<b>Concentración de Cl<sup>-</sup> en muestra (ppm)</b>	<b>Concentración de NaCl en muestra (g/100g de producto)</b>
1	0,425	280	12783	2,10
2	0,516	341	15551	2,56
3	0,457	302	13756	2,26

A continuación, se detallan los resultados y las correspondientes desviaciones expresados en ppm y en g NaCl /100 g de producto.

Concentración de Cl<sup>-</sup> en muestra = **14030 ± 1404 ppm**

Concentración de NaCl en la muestra = **2,31 ± 0,23 g NaCl/100g de producto**

Se expresa la concentración final tanto en ppm, para comparar con los niveles de legislación, como en unidades de g de NaCl por cada 100g de producto, ya que así está expresado en la etiqueta del envase, la cual especifica tener un valor de 1,5g de NaCl por cada 100g de producto.

## 4.2 Cromatografía iónica

### 4.2.1 Medida de patrones y muestra

Para la cuantificación de cloruros por esta técnica, se comenzó preparando un calibrado externo, inyectando, por triplicado, en el sistema cromatográfico el blanco y los patrones en un rango de concentraciones entre 1 y 50ppm con un volumen de 25µL. En la Figura 4, se muestra un ejemplo del cromatograma obtenido en la medida de una réplica del patrón de 25ppm de cloruro, en el cual se ve que, a un tiempo de 4,26 minutos, aparece un pico correspondiente al cloruro. También se observan otros picos mucho menos intensos que, de acuerdo con las características de la columna y la fase móvil empleada, podrían corresponder a otros iones, como el fluoruro a 3,52 min y el bromuro a 6,38 min (15).

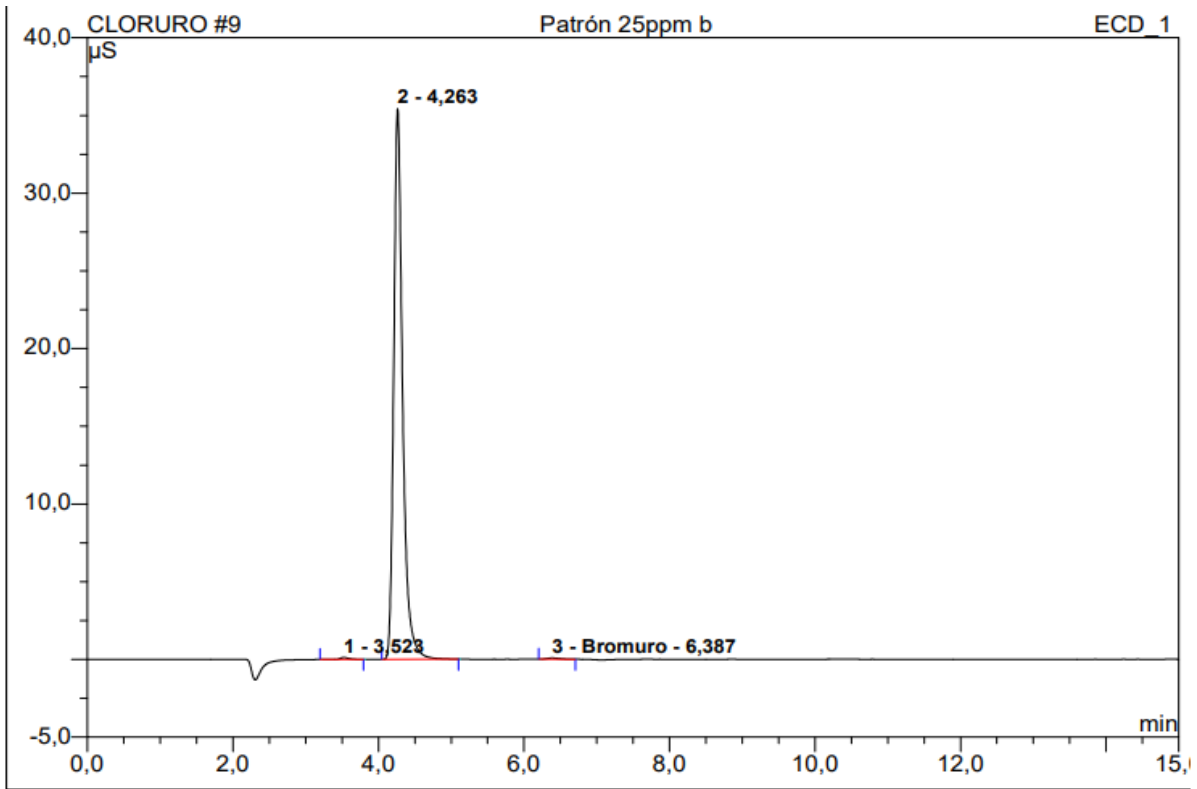


Figura 4. Cromatograma patrón de cloruros de 25ppm

Posteriormente, se realizó la recta de calibrado correspondiente a las medidas de los patrones representada en la Figura 5.

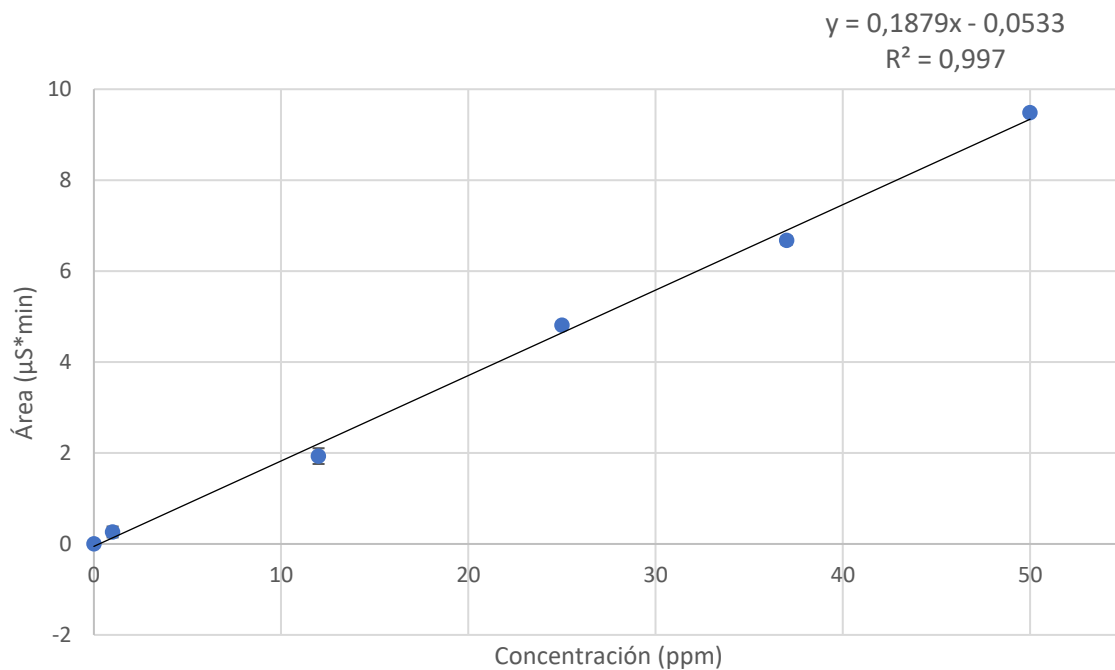


Figura 5. Recta de calibrado por patrón externo de cloruro obtenida mediante cromatografía iónica.

El calibrado presenta un  $R^2$  de 0,997; un LOD de 3,1ppm y un LOQ de 10,4ppm; calculados de la misma forma que para turbidimetría, y por tanto con el mismo error producido por la desviación de residuales y ya explicado en el apartado anterior, relacionado con el rango de patrones del calibrado que se observa en la estimación de ambos parámetros (16). Se puede comprobar que, en este caso, la dispersión de los valores de las medidas es mínima, por lo que tiene una mayor reproducibilidad.

Una vez obtenida la recta de calibrado, se midió la muestra por triplicado. En la Figura 6, se muestra un ejemplo del cromatograma obtenido en la medida de una réplica de la muestra, en el cual se observa que, a un tiempo de 4,29 min, tenemos el pico correspondiente al cloruro.

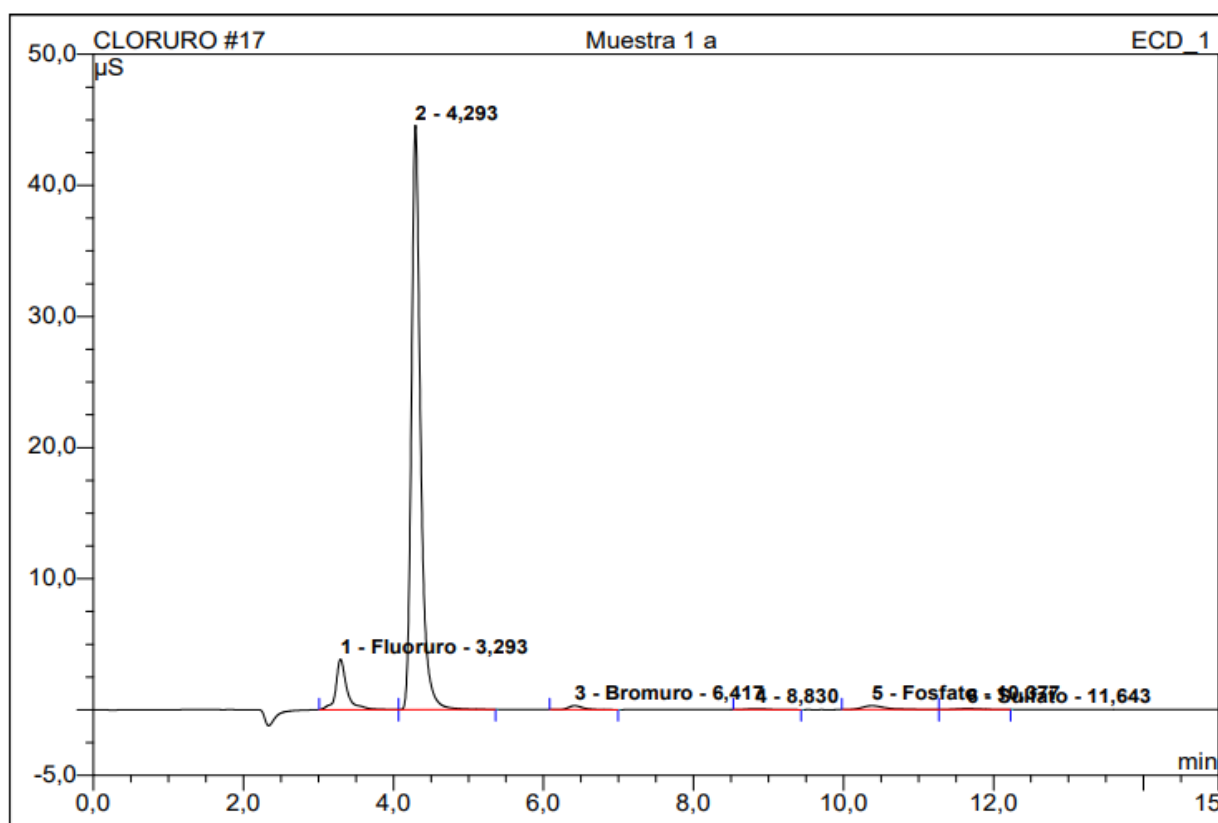


Figura 6. Cromatograma muestra

También se observan picos menos intensos correspondientes a otros iones, que al igual que en la medida de patrones, se corresponderían de acuerdo con la metodología cromatográfica desarrollada, con el fluoruro a 3,29 minutos y el bromuro a 6,41; y otros como el fosfato a 10,37 y el sulfato a 11,65.

Posteriormente, por interpolación en la recta del área del pico correspondiente al cloruro, se calcularon los resultados del análisis de la muestra procedente de la conservación en salmuera de los alimentos (ver Tabla 4).

Tabla 4. Resultados obtenidos en las medidas de la muestra de agua procedente de la industria agroalimentaria de conservación de alimentos en salmuera

<b>Muestra</b>	<b>Área (<math>\mu\text{S} \cdot \text{min}</math>)</b>	<b>Área neta (<math>\mu\text{S} \cdot \text{min}</math>)</b>	<b>Concentración de <math>\text{Cl}^-</math> en la disolución medida (ppm)</b>	<b>Concentración de <math>\text{Cl}^-</math> en muestra (ppm)</b>	<b>Concentración de NaCl en muestra (g/100g de producto)</b>
1	6,285	6,273	33,67	12199	2,01
2	6,307	6,053	32,50	11775	1,94
3	6,337	6,061	32,54	11790	1,94

A continuación, se muestran las concentraciones en ppm y en g NaCl/100 de producto obtenidas para la muestra analizada.

Concentración de  $\text{Cl}^-$  en muestra = **11921  $\pm$  241 ppm**

Concentración de NaCl en la muestra = **1,96  $\pm$  0,04 g NaCl/100g de producto**

#### 4.2.2 Estudio de recuperaciones

Por último, se realizó un estudio de la recuperación del método, en el cual se inyectaron 3 muestras a las que se añadieron concentraciones conocidas y crecientes de cloruros (5, 10 y 30ppm), además de una muestra sin cloruro añadido.

En la Figura 7 se muestran las medidas de la muestra sin adicionar y las posteriores adiciones y cómo el área neta va aumentando según se aumenta la concentración de cloruro añadido.

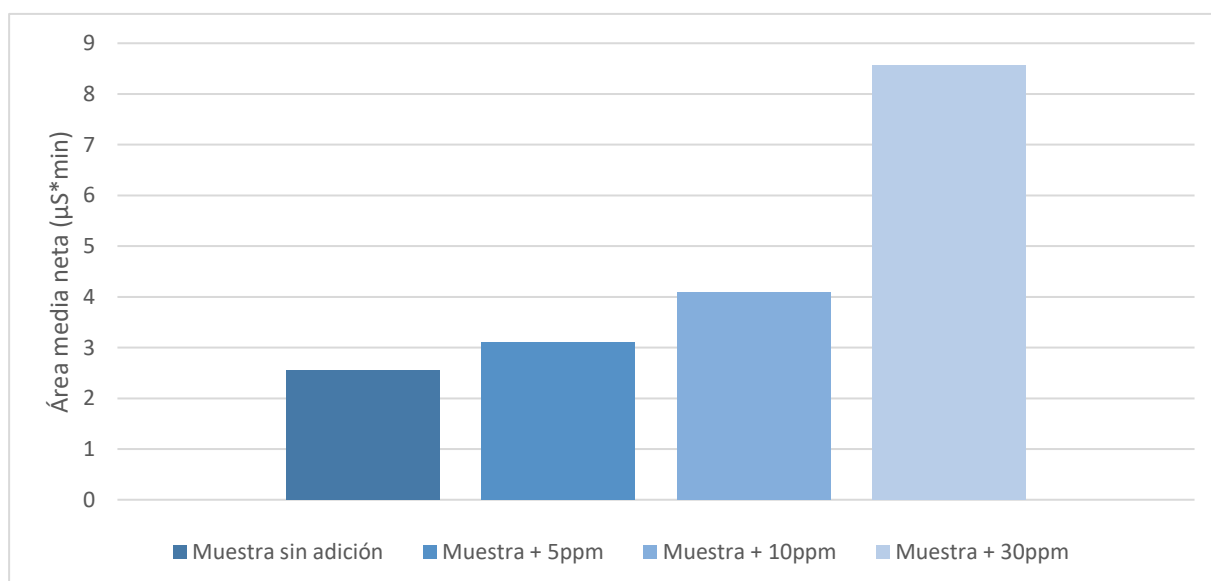


Figura 7. Estudio de recuperación del método

A continuación, para conocer si los resultados obtenidos en las recuperaciones eran buenos, se han representado las concentraciones experimentales obtenidas vs. concentraciones añadidas, ya que cuanto más se ajuste la pendiente a 1, mejores serán los resultados obtenidos. En la Figura 8, se observa una recta de pendiente 0,855, lo que nos indica buenos resultados, pero posiblemente mejorables si se hubieran podido realizar más ensayos.

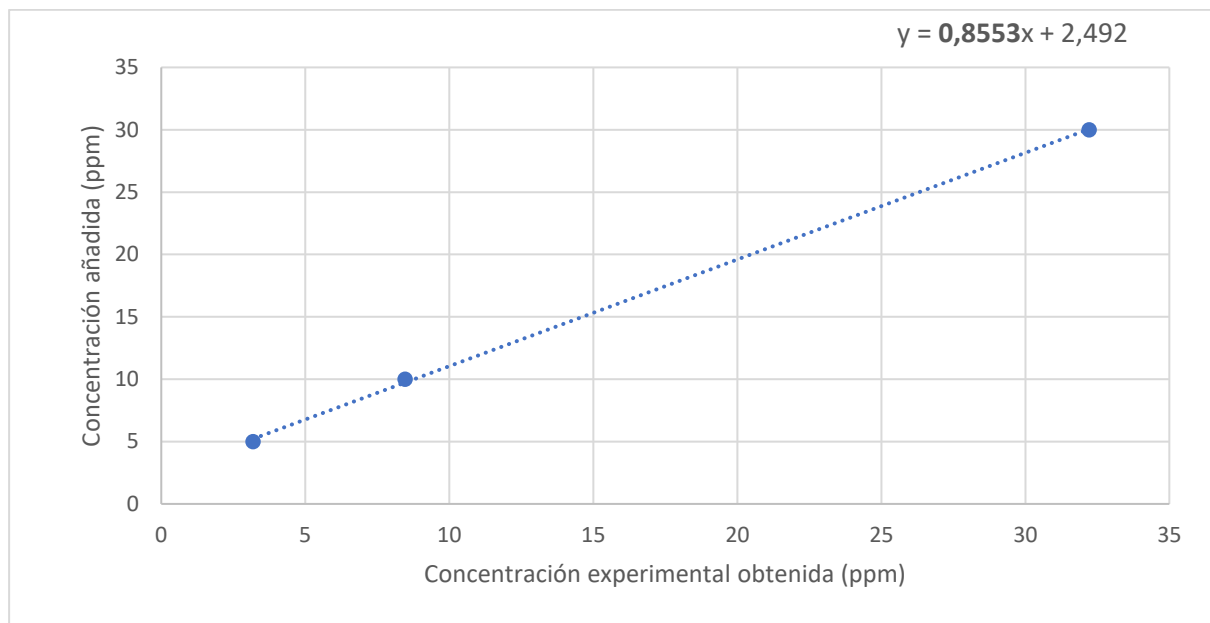


Ilustración 8. Evaluación del estudio de recuperación

Una vez obtenidos los resultados de las medidas, se calcularon los porcentajes de las recuperaciones para cada adición, mostrados en la Tabla 5. Todos los análisis se realizaron por triplicado excepto las dos últimas adiciones por falta de tiempo.

Tabla 5. Cálculos de la recuperación del método cromatográfico

	Área ( $\mu\text{S} \cdot \text{min}$ )	Área media ( $\mu\text{S} \cdot \text{min}$ )	Área neta ( $\mu\text{S} \cdot \text{min}$ )	Concentración (calibrado) (ppm)	Recuperación (%)
Muestra sin adición	2,493	2,56	0,00	0,46	
Muestra + 5ppm	3,09	3,10	0,55	3,18	<b>64</b>
Muestra + 10ppm	4,086	4,10	1,54	8,50	<b>85</b>
Muestra + 30ppm	8,459	8,56	6,00	32,22	<b>107</b>

Las recuperaciones obtenidas se encontraron entre el 85 y 107% para las adiciones de 10 y 30 ppm. En cambio, para la adición de 5ppm la recuperación encontrada fue del 64%. A la vista de los resultados,

se puede considerar que los valores de recuperación obtenidos en las adiciones de 10ppm y 30ppm son aceptables; en cambio el valor obtenido en la adición de 5ppm es muy bajo y habría sido necesario repetir el ensayo con una nueva adición para confirmar que no hubo errores en la preparación del patrón añadido, puesto que el área obtenida era lo suficientemente elevada, como para no vincular los resultados a un error en la medida.

#### 4.3 Comparación de los métodos turbidimétrico y de cromatografía iónica

A continuación, se compararán y discutirán las características analíticas de cada uno de los métodos estudiados. En la Tabla 6, se resumen dichas características.

Tabla 6. Comparación de métodos turbidimétrico y cromatográfico

	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>LOD (ppm)</b>	<b>LOQ (ppm)</b>	<b>Rango lineal (ppm)</b>	<b>RSD (%)</b>	<b>Tiempo de análisis (min)</b>
<i>Turbidimetría</i>	0,979	129	430	>430	3,9-9,5	1
<i>Cromatografía iónica</i>	0,997	3,10	10,4	10,4-50,0	2,10-17,3	5

R<sup>2</sup>= Coeficiente de determinación; LOD= Límite de detección; LOQ= Límite de cuantificación; RSD= Desviación estándar relativa.

Comenzando con el coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) se puede observar en la Tabla 6 que, en el caso de la turbidimetría, este valor nos informa de que la recta no es de buena calidad, ya que debería tener al menos un valor 0,99, para una correcta determinación analítica. Por el contrario, está el coeficiente obtenido en la cromatografía iónica, que sí cumple el requisito de una recta de buena calidad de la regresión.

Con respecto a los LOD y LOQ, hay claramente una gran diferencia entre ambos métodos. En el caso de la turbidimetría, se han obtenido unos valores muy altos con respecto al rango estudiado en el calibrado, especialmente en el valor del LOQ, que sobrepasa el mínimo nivel de concentración ensayado, debido a la excesiva contribución de la variabilidad asociada a la desviación de radicales en la recta de calibrado propuesta. En cambio, en lo que respecta a los valores en la cromatografía, estos son más bajos y entran dentro del calibrado estudiado. Aun así, teniendo en cuenta las características de los picos cromatográficos obtenidos, es posible afirmar que se puede identificar menor cantidad de la que expresa el LOD, y este error es debido, al igual que en el caso de la turbidimetría a la elevada contribución de la desviación estándar en el rango de concentraciones seleccionado. Sería necesario realizar el calibrado en un rango de concentraciones más próximos al LOQ, para obtener unos valores de LOD y LOQ coherentes con los ensayos realizados (16).

Habiendo calculado los LOQs, se pudo calcular el rango lineal del método, extendiéndose desde su correspondiente LOQ hasta el máximo nivel de concentración ensayado (16). En el caso de la turbidimetría, dado que el valor del LOQ es mayor que el patrón de más concentración de la recta de calibrado, por estar éste sobrestimado, se estableció el rango lineal a partir de 430ppm, aunque se sabe que es lineal en el rango de 50 a 250ppm estudiado. Sin embargo, el LOQ para la cromatografía sí se encuentra dentro del calibrado y el rango lineal es bastante más amplio, desde 10,4 hasta 50,0 ppm de cloruro.

En lo que respecta al estudio de reproducibilidad del método, se calcularon las desviaciones estándar en tanto por ciento, observándose un rango de valores entre 3,9%-9,5%, en la turbidimetría, y entre 2,10%-17,3%, en la cromatografía.

Por último, se ha comparado el tiempo utilizado en el análisis. Se ha definido como tiempo de análisis, al tiempo transcurrido entre la introducción de los reactivos en la cubeta y la obtención de la medida en el espectrofotómetro, en el caso de la turbidimetría; y al tiempo transcurrido entre la inyección de la muestra en el cromatógrafo y la elución del anión cloruro, en el caso de la cromatografía iónica. Se puede comprobar en la Tabla 6, que la turbidimetría es más rápida que la cromatografía ya que, en el tiempo usado para el análisis de una muestra en cromatografía, se pueden analizar 5 muestras por turbidimetría, si bien la cromatografía es fácilmente automatizable.

Con todo esto, se puede concluir que la cromatografía iónica es la técnica más apropiada para esta determinación, no solo por ofrecer mejor coeficiente de determinación, sino también por tener mejores límites de determinación y cuantificación, además es de fácil manejo y automatizable. Además, con respecto a los valores obtenidos en la determinación final de cloruros en la muestra de agua de salmuera, se obtiene un valor más cercano al del etiquetado (1,5g NaCl/100g) mediante la técnica de cromatografía, que haciendo uso de la metodología turbidimétrica, con valores de  $1,96 \pm 0,04$  g NaCl/100g y de  $2,31 \pm 0,23$  g NaCl/100g de producto, respectivamente.

## 5. CONCLUSIONES

En este trabajo se han desarrollado y validado dos propuestas metodológicas para la determinación de cloruros en aguas residuales procedentes de la industria agroalimentaria. Dichos métodos son sencillos, rápidos, así como económicos pues consumen reactivos de bajo coste.

Una vez realizada la evaluación de cada método y la comparación de sus características analíticas, se puede concluir que:

- Ambos métodos ensayados para el análisis de cloruros son viables y exactos, ya que el contenido de cloruros encontrado difiere en un 54% del valor expresado en el etiquetado para turbidimetría, y un 31% para cromatografía. Sin embargo, como se puede observar, mediante la turbidimetría se obtiene un valor mucho más elevado que en la cromatografía iónica.
- Las absorbancias obtenidas en la turbidimetría no presentan una buena reproducibilidad, lo que provoca una dificultad a la hora de cuantificar el valor de cloruros. Esta dispersión en las absorbancias pudo estar provocada por no haber seguido el mismo formato para todas las medidas, ya que es posible que en algunas de ellas se haya tardado más en medir la muestra que en otras, o que en algunas se haya agitado la cubeta antes de medir. Al ser una técnica muy manual, cualquier error humano conlleva un error en la medida espectrofotométrica.
- Los cromatogramas obtenidos en la cromatografía iónica tanto para patrones como para muestra son limpios, definidos y bien resueltos, facilitando así la cuantificación del analito.
- Las características analíticas de la cromatografía iónica ponen de manifiesto que es un método más sensible y reproducible que la turbidimetría.
- Por último, comparando los valores de cloruros obtenidos en la muestra analizada con los valores expresado en las legislaciones autonómicas que rigen el límite de cloruros permitido en aguas residuales, se puede comprobar que el valor obtenido, siendo de 14030 ppm y 11921ppm, para cada uno de los métodos usados, excede en gran medida el valor permitido, siendo de 2000 a 2500 ppm, dependiendo de la comunidad. Viendo tal diferencia, esta agua de salmuera no podría ser vertida directamente al medio natural sin antes pasar por un tratamiento de depuración.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

### 6.1. Artículos científicos, libros y leyes

(1) Sánchez, Marta Estrade. Uso de herramientas quimiométricas para evaluar episodios de contaminación: aplicación a aguas residuales urbanas. Universidad de Cádiz, España.

(2) Muñoz, Pablo Quílez. Sustancias peligrosas y límites de emisión de vertidos indirectos en la legislación autonómica. Subdirección General de Gestión Integrada del Dominio Público Hidráulico, España.

(3) Decreto 38/2004, de 24 de febrero, del Gobierno de Aragón, por el que se aprueba el Reglamento de los vertidos de aguas residuales a las redes municipales de alcantarillado. BOA 10 de Marzo 2004, núm.30



- (4) Decreto 130/2003, de 13 de mayo, de la Generalitat de Catalunya, por el que se aprueba el reglamento de los servicios públicos de saneamiento. DOGC 29 de Mayo 2003; núm.3894
- (5) Ley 5/2000, de 25 de octubre, de saneamiento y depuración de aguas residuales de La Rioja. BOR nº 135, de 31 de Octubre de 2000; pág. 4319
- (6) Decreto Foral 12/2006, de 20 de febrero, por el que se establecen las condiciones técnicas aplicables a la implantación y funcionamiento de las actividades susceptibles de realizar vertidos de aguas a colectores públicos de saneamiento. B.O. de Navarra 13 de Marzo 2006, núm.31
- (7) Cruz, Amílcar Muñoz. Análisis de agua-Characterización y tratamiento de aguas residuales-Método de prueba. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- (8) Romo, Miguel Aguilar. Análisis de agua - Determinación de cloruros totales en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba. México D.F, México.
- (9) Telegina, EV.; Moskvina, AL.; Mozzhukhin, AV. Flow-injection potentiometric determination of trace concentrations of chloride ions in low-mineralized natural waters. *Journal of Analytical Chemistry*, 65(10), 1041-1044. <https://doi.org/10.1134/S1061934810100096>
- (10) Swift, EH; Arcand, GM; Lutwack, R; Meier, DJ. Determination of Chloride-Modification of Volhard Method. *Analytical Chemistry*, 5(2), 306-308. <https://doi.org/10.1021/ac60038a021>
- (11) Cheregi, M; Danet, AF. Flow injection determination of chloride ions with spectrophotometric detection. *Analytical Letters*, 30(15), 2847-2858. <https://doi.org/10.1080/00032719708001826>
- (12) HajHussein, AT. Ultraviolet determination of chloride in water by flow injection analysis. *Analytical Chemistry*, 29(5), 793-806.
- (13) Mesquita, RBR; Fernandes, SMV; Rangel, AOSS. Turbidimetric determination of chloride in different types of water using a single sequential injection analysis system. *Journal of Environmental Monitoring*, 4(3), 458-461. <https://doi.org/10.1039/b200456a>
- (14) Morales, JA; de Graterol, LS; Mesa, J. Determination of chloride, sulfate and nitrate in groundwater samples by ion chromatography. *Journal of Chromatography A*, 884 (1-2), 185-190. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00423-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00423-4)
- (15) Dionex Corporation. Product manual for the anion self-regenerating suppressor 300 and cation self-regenerating suppressor 300.
- (16) Companyó Beltrán, R.; Ríos Castro, A. GARANTÍA DE LA CALIDAD EN LOS LABORATORIOS ANALÍTICOS. Editorial Síntesis, S.A., Edición 1ª, p.p.32. ISBN: 9788497560245

## 6.2. Páginas web

(w.a)<https://www.iagua.es/blogs/hector-rodriguez-pimentel/aguas-residuales-y-efectos-contaminantes> (último acceso 23/01/2022)

(w.b)<https://www.innotec-laboratorios.es/la-importancia-y-caracteristicas-de-las-aguas-residuales/> (último acceso 23/01/2022)

(w.c)<https://www.ecologiaverde.com/que-son-las-aguas-residuales-y-como-se-clasifican-1436.html> (último acceso 26/01/2022)

(w.d)<https://www.miteco.gob.es/es/agua/temas/concesiones-y-autorizaciones/vertidos-de-aguas-residuales/que-es-vertido/> (último acceso 26/01/2022)