



UNIVERSIDAD DE OVIEDO

FACULTAD DE QUÍMICA

EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE SULFATOS  
EN MUESTRAS DE AGUAS NATURALES PRO-  
VENIENTES DE ASTURIAS

**Departamento de Química Analítica**

**TRABAJO FIN DE GRADO EN QUÍMICA**

*Jesús Alfonso Montero García*

**Oviedo, julio, 2023**



## **Por qué'l Nalón lleva lluto**

*Escribió Milio Martínez,  
poeta de cuerpu y alma:  
«Pero el Nalón lleva luto  
desde que dejó Laviana».*

*La frás quedóse nel aire  
en sin dai mas emportancia  
que dos versos ena estrofa  
pa qu'encople con más gracia.*

*Mas, perseguro que'l vate  
Martínez el de Llaviana  
nun la dixo a la llixera,  
llanzóla con sofitancia.*

*¿Per quién lleva lluto el ríu  
Nalón cuando crucia Sama  
y otros pueblos de la cuenca?  
¿Por qué trai tan negro l'agoa?*

*Nun ye polos llavaeros  
de carbón, como se fala,  
nin ye poles escombreres  
que'n so caleyar arrastra.*

*Trai lluto polos mineros,  
Polos homes d'esa brava  
raza qu'afuraca montes  
Y que muere na batalla  
ente'l carbón y costeros  
que la tierra qu'afuraca.*

*Por eso el Nalón trai lluto  
desque dexó atrás Llaviana.  
Por eso el Nalón ta murniu  
Y dende entós ya nun canta.*

Mánfer de la Llera  
Cielo bajo tierra

### **Agradecimientos:**

A mis padres, por su apoyo incondicional.

A mi tutora Rosana Badía Laiño, por su excelente labor de orientación y el tiempo dedicado a lo largo del desarrollo de este trabajo.

A Ana Belén Soldado Cabezuelo, por su inestimable ayuda y resolución de dudas en conjunción con Rosana.

A Miguel Taboada, por sus letras inspiradoras.

## Índice: Apartados

1. Introducción.....	1
1.1. Resumen .....	1
1.2. Contexto .....	1
1.3. Necesidades analíticas y metodologías disponibles .....	3
1.4. Metodología seleccionada: descripción y fundamento.....	6
1.5. Objetivos.....	7
2. Metodología experimental.....	7
2.1. Reactivos .....	7
2.2. Instrumentación.....	7
2.3. Procedimiento operativo.....	7
2.3.2. Determinación de sulfatos.....	7
2.3.2.1. Método turbidimétrico .....	8
2.3.2.2. Método nefelométrico .....	8
3. Resultados y discusión .....	9
3.1. Estudio de interferencias espectrales y selección de longitud de onda de trabajo .....	9
3.2. Características analíticas.....	10
3.2.1. Determinación turbidimétrica .....	10
3.2.2. Determinación nefelométrica .....	11
3.2.3. Cálculo de errores en las regresiones lineales .....	12
3.2.4. Estudio de reproducibilidad del método turbidimétrico.....	13
3.2.5. Determinación de los límites de detección y cuantificación .....	14
3.3. Determinación de sulfatos en las muestras .....	15
3.3.1. Muestras medidas mediante el método turbidimétrico .....	15
3.3.2. Muestras medidas mediante el método nefelométrico .....	17
3.3.3. Errores en la determinación de sulfato en las muestras de aguas naturales .....	18
3.3.3.2. Error en las concentraciones de las disoluciones diluidas de las muestras.....	18
3.3.3.3. Errores en el cálculo de concentraciones de la muestra .....	18
4. Conclusiones.....	19
5. Bibliografía.....	20
5.1. Artículos, Revisiones, Libros y Monografías: .....	20
5.1. Recursos WEB .....	21
6. Anexos .....	22
6.1. Anexo 1: .....	22
6.2. Anexo 2: .....	22
6.3. Anexo 3 .....	23
6.4. Anexo 4 .....	24
6.5. Anexo 5 .....	25
6.6. Anexo 6 .....	27

# 1. Introducción

## 1.1. Resumen

En la naturaleza, muchos procesos están marcados por delicados equilibrios, ya sean biológicos, físicos o químicos. Son ejemplo de ellos los equilibrios salinos en las diferentes masas de agua, los cuales son vitales para el bienestar de los ecosistemas. Por su elevada abundancia en el medio ambiente, los sulfatos son sales cuyo estudio resulta de interés. Son sales inorgánicas que pueden depositarse en el medio por procesos naturales, pero también como subproductos de la actividad humana. Elevadas cantidades de sulfatos en las aguas pueden resultar perjudiciales tanto para la flora como para el ser humano. El análisis de los mismos puede ser abordado desde un amplio abanico de técnicas y metodologías, resultando de especial interés los métodos espectroscópicos de turbidimetría y nefelometría por su capacidad de análisis en rangos de concentración bajos, del orden de las ppm y las ppb (en los que se suelen encontrar los sulfatos de manera natural en las aguas), reproducibilidad, rapidez operativa y capacidad de automatización. Un estudio realizado sobre diferentes muestras de aguas naturales provenientes de Asturias confirma la efectividad de la metodología seleccionada para el análisis de sulfatos.

## 1.2. Contexto

El azufre es un elemento de elevada abundancia en la naturaleza <sup>1</sup> tanto en organismos biológicos, principalmente vegetales; como en el entorno geológico <sup>2</sup>. Puede ser hallado tanto en su forma pura como en diferentes compuestos, siendo los principales los sulfurados y sulfatados <sup>1</sup>. Los procesos biológicos de descomposición de la materia orgánica y los procesos geológicos de erosión y meteorización dan como resultado la liberación de sulfuros y sulfatos, entre otras sales inorgánicas, al medio; fundamentalmente a los suelos y las distintas masas de agua (subterráneas, ríos, lagos...) <sup>2</sup>. Los procesos mencionados confieren al suelo y al agua unos niveles naturales de estas sales. Sin embargo, estos niveles pueden verse alterados debido a procesos de enriquecimiento ya sean naturales o derivados de la actividad humana.

Los sulfatos presentes en las aguas naturales juegan, al igual que el resto de sales que contengan, un importante papel en el equilibrio de su ecosistema interno (peces, moluscos, algas...); así como del ecosistema externo en el que se integren (fauna y flora circundantes a esas masas de agua). Por ejemplo, para las plantas así como para cultivos agrícolas, un exceso de sulfatos en el agua que humedece los suelos y que en principio aporta los nutrientes correspondientes puede favorecer la aparición del estrés salino, repercutiendo negativamente en el proceso de fotosíntesis y la conversión de energía a biomasa <sup>3</sup>.

Por otra parte, ciertas masas de agua naturales pueden ser susceptibles de ser empleadas como agua de consumo sin tratamiento previo, siempre que cumplan los estándares. Son ejemplo de ello las aguas manantiales. Entre otros parámetros, para que un agua sea considerada apta para consumo humano se establece en el Real Decreto 3/2023, de 10 de enero, una concentración máxima de sulfatos de 250 mg L<sup>-1</sup> <sup>4</sup>. Concentraciones elevadas de esta sal tienen como principales efectos adversos sobre la salud problemas gástricos tales como diarrea y gastroenteritis, además de estadios de deshidratación derivados de las mismas. Se tratan de afecciones agudas de intensidad moderada a alta y corta duración por el bajo factor de bioacumulación de este compuesto <sup>5</sup>. Los principales grupos afectados son los infantes y ancianos por su mayor sensibilidad a cambios abruptos en la composición salina del agua.

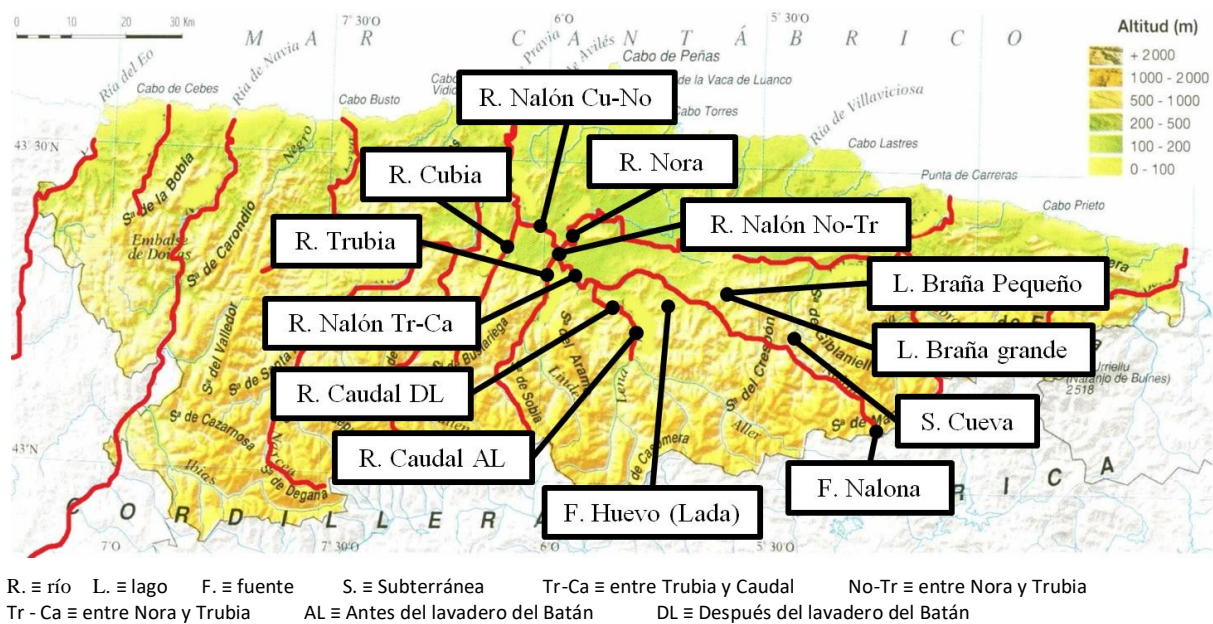
En Asturias, la actividad industrial puede favorecer el incremento del nivel de sulfatos en aguas. Es ejemplo de ello la quema de combustibles fósiles, fundamentalmente carbón, en la producción de energía eléctrica por parte de centrales térmicas, que constituye una de las principales fuentes de dióxido de azufre. Concentraciones elevadas de este gas en la atmósfera, especialmente en zonas húmedas, propician lluvias ácidas. Como resultado, el ácido sulfúrico generado llega a las masas de agua elevando el nivel de sulfatos en las mismas <sup>6</sup>. Otro foco más directo de saturación de sulfatos en aguas es el lavado del carbón en las inmediaciones de los ríos, debido a los restos de compuestos sulfurados, como la pirita, y sulfatados que puede contener este mineral <sup>7</sup>. En Asturias, el lavadero de carbón del Batán, ubicado en Mieres, es el único que permanece en activo.

Aunque en la actualidad la situación se ha estabilizado, estando los niveles de dióxido de azufre lejos de los valores límite <sup>8</sup>, y habiendo sido los planes de saneamiento de los ríos exitosos <sup>9</sup>, el control de los niveles de sulfatos en aguas naturales se sigue mostrando necesario a fin de mantener la favorable trayectoria ecológica conseguida en el Principado durante los últimos años.

En el presente trabajo, por ello, se procederá al análisis de diferentes muestras de aguas naturales de Asturias. El plan de muestreo se focalizará sobre algunas de las diferentes masas de agua del denominado “Sistema Nalón” por la Demarcación Hidrográfica del Cantábrico Occidental en el Apéndice 1.2 del Real Decreto 35/2023, de 24 de enero <sup>10</sup>, el cual comprende las cuencas de los ríos Nalón, Trubia, Caudal, Narcea, Cubia, Nora, Aboño, Piles y Alvares; y los lagos Negro y del Valle.

Las masas de agua seleccionadas de las anteriormente citadas serán del río Nalón y sus afluentes de curso alto y medio: Caudal, Trubia, Cubia y Nora. Por su relevancia geográfica, ya que se trata del río más largo de Asturias, alimentado a su vez por la mayor cuenca hidrográfica de la provincia <sup>w1</sup> y por atender las demandas agrarias, industriales y de captación para consumo de los concejos que transita <sup>10</sup>, el río Nalón así como los afluentes citados sujetos de estudio presentan un especial interés para el análisis de sus aguas. De manera complementaria, se analizarán también las aguas de los lagos de la Braña'l Río (San Martín del Rey Aurelio) y aguas subterráneas de una cueva ubicada en la parroquia de

El Condado (Laviana). Las masas de agua seleccionadas para la recopilación de muestras se hallan marcadas geográficamente en la *Figura 1*.



**Figura 1:** Mapa de zonas de muestreo para la determinación de sulfatos en aguas naturales de Asturias

### 1.3. Necesidades analíticas y metodologías disponibles

Para la búsqueda de valores de referencia sobre las concentraciones de sulfatos en aguas naturales de Asturias se recurre al Real Decreto 35/2023, de 24 de enero que recoge los planes hidrográficos para las diferentes demarcaciones hidrográficas españolas. En ausencia de datos sobre concentraciones de sulfatos en los ríos de Asturias debido a que este anión no figura como indicador de referencia de calidad de las aguas para la Confederación Hidrográfica del Cantábrico, se tomará como referencia los valores medidos en otras demarcaciones hidrográficas (Tajo, Guadiana, Guadalquivir, Ebro, Miño-Sil y Duero)<sup>10</sup>. Dichos valores hacen referencia únicamente a masas de agua subterránea, estando reflejados algunos de ellos en la Tabla 1 a modo de ejemplo. En vista de la escasa información con respecto a niveles de sulfatos en agua, se tomará también como referencia media el valor máximo admitido de sulfatos en agua de consumo de 250 ppm<sup>4</sup>.

**Tabla 1: Valores umbrales mínimos y máximos de las concentraciones de sulfatos registrados en diferentes masas de agua subterránea de las confederaciones hidrográficas del Duero, Tajo, Guadiana y Segura<sup>10</sup>.**

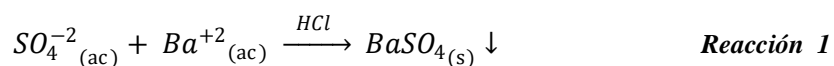
Confederación hidrográfica	Anexo	Apéndice	Valor umbral de sulfatos (ppm)	
			Mínimo	Máximo
Duero	IV	4.2.	135,0	2110,0
Tajo	V	4.2.	270,0	1780,0
Guadiana	VI	5.1.2.	142,5	2002,0
Segura	X	5.2.	136,0	910,0

Las referencias de concentraciones de sulfatos recogidas en el Real Decreto 35/2023, de 24 de enero en obedecen al orden de las ppm, estando la mayoría en un rango entre 100 y 1000 ppm. En base a los datos de referencia, es conveniente que el límite de detección del método a utilizar se halle al menos un orden de magnitud por debajo de los valores mínimos, por lo que se buscarán límites de detección de 10ppm aproximada e idealmente inferiores.

En base a ello, la selección de un método analítico óptimo para el correcto desarrollo del presente trabajo ha de cumplir con los siguientes requerimientos:

- El método debe tener límites de detección (LOD  $\equiv$  Limit Of Detection) de 1 a 10 ppm.
- El método debe ser rápido, a fin de agilizar el análisis del elevado número de muestras, teniendo en cuenta los análisis por triplicado.
- El método debe ser reproducible.

Acudiendo a la bibliografía, se comienza por examinar el método oficial establecido por el Instituto de Hidrología. El principio del método oficial es una determinación gravimétrica basada en la *Reacción 1*, en la cual se hace reaccionar a la muestra en medio ácido (ácido clorhídrico al 10%<sub>v/v</sub>) con cloruro de bario al 10%<sub>p/v</sub>, a fin de generar sulfato de bario, una sal insoluble en agua<sup>11</sup>.



**Reacción 1: Reacción de sulfato ( $SO_4^{2-}$ ) con bario ( $Ba^{2+}$ ) y consiguiente precipitación de sulfato de bario ( $BaSO_4$ ) en medio ácido clorhídrico (HCl)**

Tras un proceso de calcinación a 800°C del precipitado, la sal es pesada y determinada su concentración de acuerdo con la estequiometría de la *Ecuación 1*, recogida en el método oficial del Estado para la determinación de la concentración de sulfato ( $[SO_4^-]$ , expresada en mg L<sup>-1</sup>) en un volumen (V, expresado en ml) de muestra de agua en función del peso (P, expresado en mg) del sulfato de bario precipitado<sup>11</sup>.



$$[SO_4^-](mg L^{-1}) = \frac{0,4115 \cdot P}{V} \cdot 1000$$

*Ecuación 1*

Asimismo, el fundamento que subyace al método oficial<sup>11</sup> representado en la *Reacción 1* puede ser aplicado a otras técnicas analíticas, siendo ejemplo de ellas turbidimetría, colorimetría<sup>12</sup>, absorción atómica (AAS  $\equiv$  Atomic Absorption Spectroscopy)<sup>13 14</sup> y algunos métodos electroquímicos como la coulombimetría<sup>15</sup>. Para concentraciones del orden de las ppb el estudio mediante nefelometría puede ser adecuado<sup>16</sup>. Con respecto a procedimientos no basados en la *Reacción 1*, la potenciometría es otra opción posible<sup>17</sup> para el estudio de concentraciones bajas (ppb) de sulfato.

Para la determinación mediante turbidimetría se realizan medidas de la absorbancia de una suspensión coloidal de sulfato de bario. El método puede llegar a presentar rangos lineales entre las 5-10 a 200ppm<sup>13</sup> y límites de detección menores de 5 ppm<sup>18</sup>. Determinar concentraciones menores requiere el estudio de las muestras mediante adiciones estándar que mejorarían además la estabilidad de la señal y reduciría el ruido de la línea base<sup>13</sup>. La nefelometría es otra técnica adecuada para esta situación. En este caso se mide la intensidad de la luz dispersada en cierto ángulo, por lo general de 90° al pasar por el seno de la anteriormente mencionada suspensión coloidal<sup>12</sup>. Esta técnica puede llegar a registrar límites de detección menores a 5ppb<sup>16</sup>.

La colorimetría es otra técnica dentro de la espectrofotometría apta para el análisis de sulfatos. En este caso, el compuesto azul de metiltimol (MTB  $\equiv$  Methylthymol Blue) compleja al bario formando un quelato, tiñendo la disolución de azul. La formación de sulfato de bario está más favorecida sobre la del quelato a pH ácidos. Al liberarse el catión bario del complejo con el MTB, la disolución pasa de un tono azul a uno grisáceo. Este cambio puede ser seguido midiendo la absorbancia. El método tiene un rango lineal de 10 a 300 ppm<sup>12</sup>.

Para la determinación mediante AAS, la suspensión coloidal de sulfato de bario en etanol al 40% se atomiza por medio de una llama de óxido nitroso-acetileno<sup>13 14</sup>. El límite de detección para esta técnica es de 5ppm<sup>14</sup> y el rango lineal de trabajo va de 10 a 150ppm<sup>13 14</sup>.

Las técnicas anteriormente descritas presentan una cualidad interesante para el análisis de un elevado volumen de muestras. Son métodos fácilmente automatizables, por lo que permiten su análisis por inyección, tanto en flujo (FIA  $\equiv$  Flow Injection Analysis) como de manera secuencial (SIA  $\equiv$  Sequential Injection Analysis). La reacción de precipitación del sulfato de bario se da, por tanto, en el lecho de un líquido portador (*carrier*)<sup>13</sup>. En el caso de las técnicas espectrofotométricas, deben tenerse especialmente en cuenta las posibles obstrucciones de los conductos y la cubeta por la deposición de sulfato de bario. Se requeriría la adición de una disolución alcalina de ácido etilendiamonitetraacético (AEDT) al *carrier* para reducir la acumulación de sal formada en las vías. Complementariamente, la adición de polietilenglicol (PEG) y etanol reducen la atracción de las partículas de sulfato de bario, favoreciendo así su dispersión uniforme en el *carrier*. Como resultado, se reducen también las obs-

trucciones de las vías y la cubeta y se asegura la estabilidad del sistema FIA <sup>19</sup>.

La determinación coulombimétrica se basa en la reacción de intercambio iónico entre los iones sulfato de una disolución y cromato empaquetado en una columna. Los iones libres de cromato son susceptibles de ser medido mediante coulombimetría con un electrodo de carbono vítreo (RVC  $\equiv$  Reticulated Vitreous Carbon). El límite de detección para el método llega a ser menor de 2ppm, y la linealidad del mismo va de 4 a 100ppm <sup>15</sup>.

La técnica de potenciometría puede ser aplicada mediante el empleo de electrodos selectivos para la especie en cuestión. En este caso se trataría de un electrodo de hidrocalcita y polidimetilsiloxano (PDMS) con membrana de PVC. Los límites de detección para el método potenciométrico son del orden de las 30ppb y el rango lineal se halla entre las 95 a 300 ppb <sup>17</sup>.

## **1.4. Metodología seleccionada: descripción y fundamento**

Teniendo en cuenta las diferentes posibilidades reflejadas en la bibliografía sobre las técnicas analíticas disponibles, se eligen para la resolución del problema propuesto los métodos turbidimétrico y nefelométrico a fin de cubrir el mayor rango de concentraciones posible. Ambas metodologías presentan características analíticas acordes con las dimensiones del problema. Por otra parte, la simpleza y similitud experimental entre ambas técnicas, junto a la facilidad para adaptarlas a sistemas automatizados de análisis en flujo puede resultar conveniente para el análisis de un elevado número de muestras en el menor tiempo posible, como puede ser el caso propuesto de aguas naturales.

Tanto el método turbidimétrico como el nefelométrico se basan en la dispersión elástica de la radiación UV-Vis incidente sobre una suspensión coloidal <sup>12</sup>. Como se ha mencionado en el apartado 1.3, en turbidimetría se mide la absorbancia y en nefelometría la intensidad de la dispersión en cierto ángulo. Al tratarse de fenómenos de dispersión elástica, la radiación absorbida y la emitida tienen la misma energía. Esto supone que, para el método nefelométrico, la excitación y la emisión de la suspensión coloidal se dará a la misma longitud de onda. En suspensiones coloidales poco concentradas sucede que la intensidad de la radiación incidente es prácticamente idéntica a la de la radiación transmitida. Este fenómeno imposibilita su análisis mediante turbidimetría puesto que la fuente de radiación se encuentra en la misma dirección que el sistema de detección y por tanto, no se podrían diferenciar las señales de la radiación incidente y la transmitida. Por ello se emplea el método nefelométrico y se mide con un fluorímetro, aparato en el cual la dirección de la fuente de radiación y el detector forman un ángulo de 90°. Las suspensiones coloidales más concentradas pueden ser analizadas mediante el método turbidimétrico <sup>20</sup>.

## 1.5. Objetivos

El presente trabajo tiene como objetivos, por una parte, desarrollar una metodología analítica basada en la dispersión elástica de radiación al interactuar con una suspensión coloidal, turbidimetría y nefelometría, adecuada para la determinación de sulfatos en aguas naturales. Caracterizar la metodología a través de figuras de mérito como la reproducibilidad y parámetros de interés como los límites de detección y cuantificación; y evaluar su aplicabilidad para la determinación sulfatos en agua. Y por otra, analizar los niveles de sulfatos en muestras de aguas naturales de Asturias empleando la metodología desarrollada.

## 2. Metodología experimental

### 2.1. Reactivos

- Sulfato de sodio decahidratado (  $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  )
- Cloruro de bario dihidratado (  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  )
- Ácido clorhídrico 37% ( HCl )
- Goma arábiga

### 2.2. Instrumentación

- Espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 30 Vis
- Espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis
- Fluorímetro PerkinElmer LS-45

### 2.3. Procedimiento operativo

Se preparan las siguientes disoluciones en matraces aforados de 250 ml y enrasando con agua destilada:

- Disolución 20 mM de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$
- Disolución 1,2 M de HCl
- Disolución al 10 % de  $\text{BaCl}_2$  y 1,2 % de goma arábiga

#### 2.3.2. Determinación de sulfatos

La metodología experimental seguida para la resolución del problema propuesto está basada principalmente en la *Experiencia 20* del libro *Laboratorio de análisis instrumental* de Aucejo, A.M.; Estellés, M.J.L. y Hernández, R.H. <sup>21</sup>.

### **2.3.2.1. Método turbidimétrico**

Los patrones de sulfato de bario para las medidas turbidimétricas se preparan según el siguiente protocolo: en matraces aforados de 50 ml se añaden los volúmenes adecuados de la disolución de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 5 ml de la disolución HCl 1,2 M y 5 ml de la disolución de  $\text{BaCl}_2$  al 10% y goma arábica al 1,2%. Se enrasa con agua destilada y se deja reaccionar 5 minutos como mínimo. Se selecciona la longitud de onda más apropiada para el estudio, atendiendo a la posible presencia de interferencias de señal en los reactivos y a la linealidad en los calibrados obtenidos.

Las muestras de aguas naturales se preparan según el siguiente protocolo: se añade a un matraz aforado de 50 ml 25ml de la muestra seleccionada, 5ml de la disolución HCl 1,2M y 5 ml de la disolución de  $\text{BaCl}_2$  al 10% y goma arábica al 1,2%. Se enrasa con agua y se espera 5 minutos.

Se prepara un calibrado con rango de concentraciones desde 1 hasta 300 ppm (1, 10, 100,150, 250 y 300 ppm). De manera análoga, se prepara además un blanco de reactivos que contiene las mismas cantidades de los reactivos en un volumen de 50 ml pero en ausencia de sulfatos.

A continuación, se realiza la preparación de las muestras para ser analizadas mediante el empleo de un calibrado externo. Se miden las muestras empleando el método turbidimétrico. Aquellas muestras cuya señal esté por debajo del límite de cuantificación serán medidas mediante la técnica de nefelometría.

### **2.3.2.2. Método nefelométrico**

Para la determinación de las muestras que no han podido ser cuantificadas mediante el método turbidimétrico se acude al método nefelométrico.

Se prepara una disolución diluida 1:10 de sulfato a partir de la disolución inicial 20nM de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . A partir de esta nueva disolución se preparan los patrones de calibrado que comprenden las concentraciones entre 100 y 600 ppb (100, 250, 350, 500 y 600 ppb). Para cada uno de los patrones se añaden a un matraz de 25ml el volumen necesario de disolución diluida de sulfato para cada concentración, 2,5 ml de la disolución HCl 1,2M y 2,5 ml de la disolución de  $\text{BaCl}_2$  al 10% y goma arábica al 1,2%. Se enrasa con agua y se espera 5 minutos. Terminados de preparar los patrones, se ajustan los parámetros del fluorímetro para trabajar en un rango entre 600 y 800 nm en emisión excitando a 650 nm. Las muestras se preparan añadiendo a un matraz de 25 ml el volumen adecuado de cada de muestra, 2,5 ml de la disolución de HCl 1,2M y 2,5 ml de la disolución de  $\text{BaCl}_2$  al 10% y goma arábica al 1,2%. Se enrasa con agua y se espera 5 minutos como mínimo y se procede a medir las muestras.

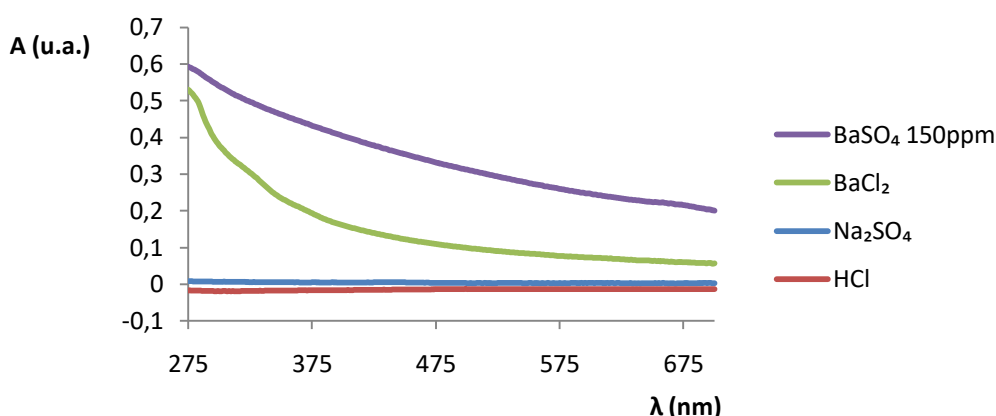
### 3. Resultados y discusión

#### 3.1. Estudio de interferencias espectrales y selección de longitud de onda de trabajo

La caracterización espectral del coloide de sulfato de bario formado según la *Reacción 1* se realiza sobre un patrón de  $\text{BaSO}_4$  de concentración 150 ppm. Para ello se añaden a un matraz aforado de 50ml 3,7ml de la disolución de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 5 ml de la disolución  $\text{HCl}$  1,2 M y 5 ml de la disolución de  $\text{BaCl}_2$  al 10% y goma arábiga al 1,2%. Al añadir el último reactivo se comienza a observar el cambio de color de la disolución, pasando de una transparencia cristalina a un aspecto turbio blanquecino. Se lleva a volumen con agua destilada y se deja reaccionar un mínimo de 5 minutos.

Con el espectrofotómetro GENESYS 10S se realiza un barrido UV-Vis desde 275 a 700nm tanto de las disoluciones de partida como de la de  $\text{BaSO}_4$  150 ppm, preparadas para identificar posibles interferencias espectrales y asegurar una correcta elección de las longitudes de onda de medida.

El estudio de interferencias espectrales para los reactivos de partida y para una disolución patrón de 150 ppm de sulfato de bario arrojan los espectros que se muestran en la *Gráfica 1*. No se observan interferencias espectrales aparentes entre los reactivos de partida  $\text{HCl}$  y  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Sin embargo, tanto la disolución patrón de  $\text{BaSO}_4$  como la de  $\text{BaCl}_2$  presentan una señal de absorbancia a lo largo de todo el espectro sin presentar una banda definida. A partir de 300 nm la diferencia entre la señal del analito y el reactivo es lo suficiente grande para poder ser empleada con fines analíticos en el desarrollo de un método nefelométrico.



*Gráfica 1: Señales de absorbancia (A) obtenidas para el barrido entre las longitudes de onda (λ) de 275 a 700nm de las disoluciones de partida ( $\text{HCl}$ ,  $\text{BaCl}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y el patrón de producto formado ( $\text{BaSO}_4$  150ppm). Medidas tomadas con espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis*

A continuación, se procede a la selección de longitud de onda de trabajo. Basados en los datos bibliográficos se seleccionan <sup>21</sup> y se comparan las prestaciones analíticas en dos longitudes de onda, 450 y 650 nm. Para ello, se preparan un blanco de reactivos y patrones de calibrado en concentraciones ascendentes desde 10 hasta 300 ppm y se realizan las medidas correspondientes en ambas longitudes de onda.

Como se observa en *Gráfica 1*, se obtienen señales de absorbancia mayores a menores longitudes de onda pero la diferencia de los valores correspondientes BaSO<sub>4</sub> como la de BaCl<sub>2</sub> se magnifica hacia el rojo. Tal como se recoge en el *Anexo 1*, la regresión obtenida para 450 nm presenta una mejor sensibilidad (0,006 u.a. ppm<sup>-1</sup>) que a 650 nm (0,0044 u.a. ppm<sup>-1</sup>), pero el coeficiente de correlación es notablemente más bajo ( $R^2=0,980$ ) respecto a la regresión obtenida para 650nm ( $R^2=0,998$ ). Por este último factor, se escoge 650 nm como longitud de onda de trabajo. Se procede entonces a la determinación turbidimétrica. Esta misma longitud de onda se seleccionó para las medidas nefelométricas, empleando para ello el fluorímetro y trabajando en un rango entre 600 y 800 nm de emisión con excitación a 650 nm. Obtenidas las señales (*Figura 2*) y habiéndose calculado la recta de calibrado para el método (*Figura 2*) a partir de las mismas, se procede a la preparación de la muestra. Para ello se añaden a un matraz de 25ml el volumen adecuado de cada de muestra, 2,5 ml de la disolución HCl 1,2M y 2,5 ml de la disolución de BaCl<sub>2</sub> al 10% y goma arábiga al 1,2%. Se enrasa con agua y se espera 5 minutos como mínimo y se procede a medir las muestras.

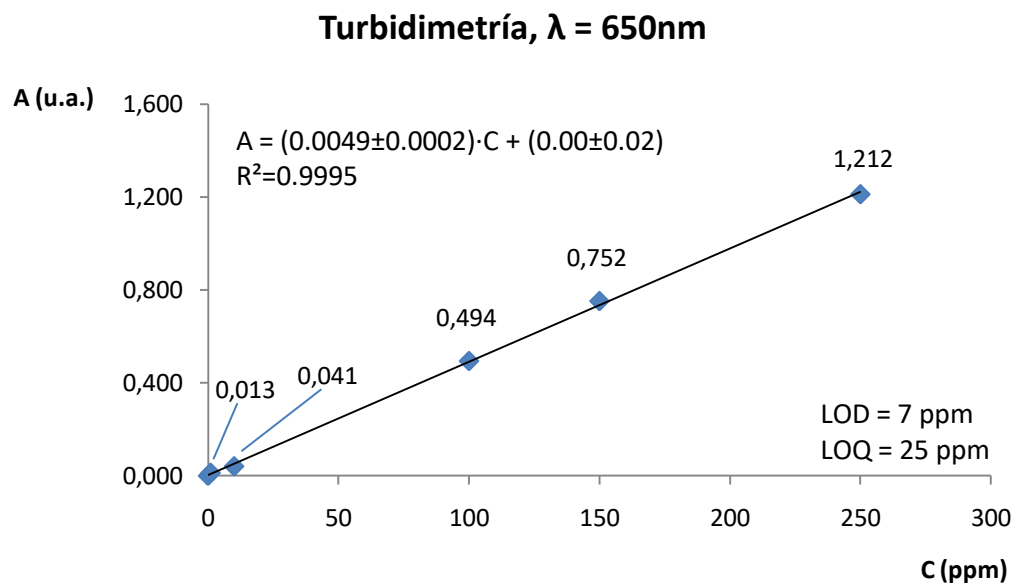
## 3.2. Características analíticas

### 3.2.1. Determinación turbidimétrica

Para la determinación turbidimétrica, se realiza un calibrado mediante patrones externos de sulfatos, en concentraciones crecientes de 10 a 300 ppm obteniéndose la recta de calibrado  $A = (0.0046 \pm 0.0003) \cdot C + (0.01 \pm 0.06)$  con un coeficiente de correlación  $R^2 = 0.995$  como se ve reflejado en el *Anexo 2*. La medición de las disoluciones de las muestras arroja como resultados las absorbancias recogidas en la *Tabla 2*.

Mediante la comparación de los valores de absorbancia dados para patrones (*Anexo3*) y muestras (*Tabla 2*) se observa que ninguna de las señales para las distintas muestras es superior a la señal correspondiente al patrón de sulfato de 250 ppm. Por ello, se prueba a eliminar del calibrado la señal del patrón de sulfato de 300 ppm y adaptar mejor el intervalo de trabajo a los valores en las muestras. Como resultado se obtiene una nueva recta de regresión  $A = (0.0049 \pm 0.0002) \cdot C + (0.00 \pm 0.02)$  con coeficiente de correlación  $R^2 = 0.9995$ , reflejada en la *Gráfica 2*. Se aprecia una mejoría del coeficiente de correlación, y por tanto de la linealidad <sup>22</sup>, con relación al del calibrado inicial del *Anexo 2*. En

conclusión, la regresión recogida en la *Gráfica 2* será empleada para el cálculo de las concentraciones de sulfatos en las muestras.



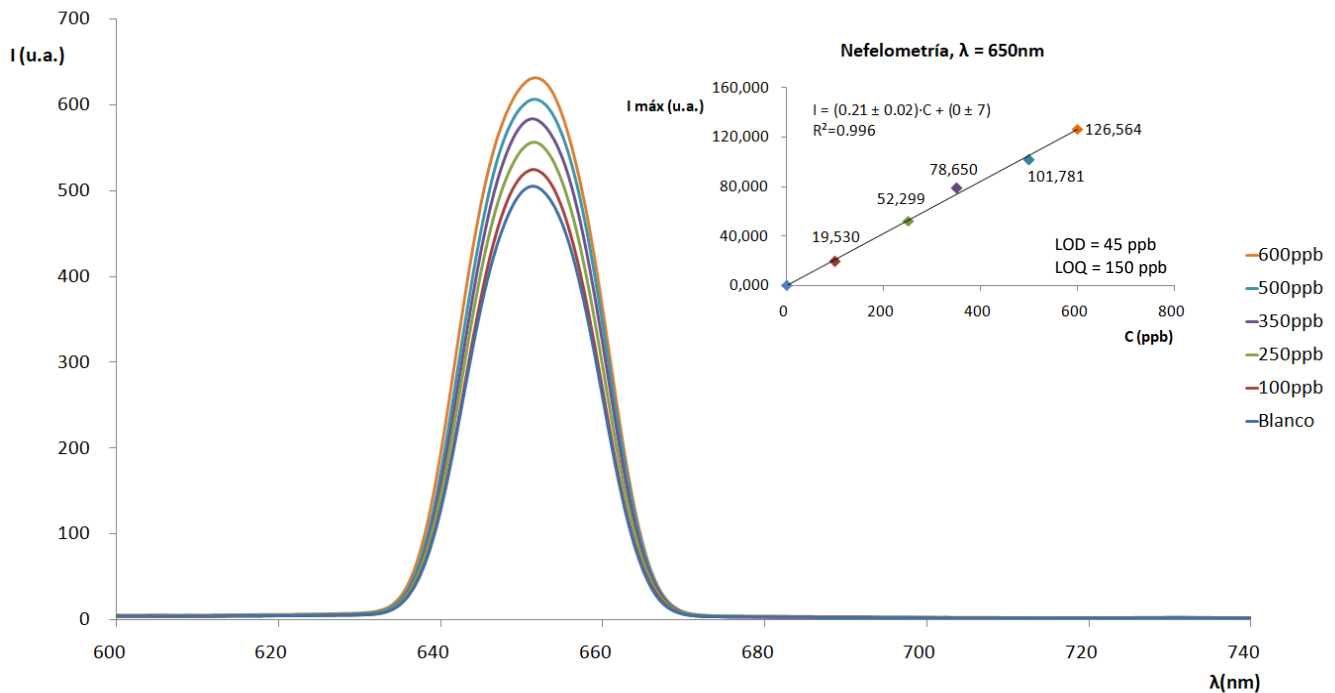
*Gráfica 2: Calibrado para los patrones del método turbidimétrico. Representación de la absorbancia (A) en unidades arbitrarias (u.a.) y medida a longitud de onda ( $\lambda$ ) de 650nm frente a la concentración de los patrones (C) en ppm. Límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ). Medidas tomadas con espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 30 Vis.*

### 3.2.2. Determinación nefelométrica

De manera análoga, para la determinación nefelométrica, se realiza un calibrado externo mediante el empleo de patrones de sulfatos en concentraciones crecientes, en este caso, de 100 a 600 ppb. Inicialmente, se registran los espectros correspondientes que se muestran en la *Figura 2*. A partir de ellos, se toman los valores máximos de cada uno, se les resta la señal del blanco y se realiza una regresión lineal, la cual se halla reflejada también en la gráfica inserta en la *Figura 2*. Como resultado se obtiene la recta de calibrado  $I = (0.21 \pm 0.02) \cdot C + (0 \pm 7)$  con un coeficiente de correlación  $R^2 = 0.996$ .

El tratamiento de errores para las regresiones lineales de la *Figura 2*, será detallado en el apartado 3.2.3.

Mediante la comparación de las pendientes para las regresiones lineales del método turbidimétrico (*Gráfica 2*) y nefelométrico (*Figura 2*) se puede observar cómo la pendiente del segundo es mayor que la del primero. Por la relación directa existente entre pendiente de la regresión y sensibilidad instrumental<sup>22</sup>, se puede afirmar que el método nefelométrico es más sensible que el turbidimétrico.



**Figura 2:** Señales de intensidad ( $I$ ) en unidades arbitrarias (u.a.) obtenidas para la emisión a 650 nm en el barrido entre las longitudes de onda ( $\lambda$ ) de 600 a 800 nm, excitando a 650 nm; para los patrones del método nefelométrico. Calibrado para los patrones del método nefelométrico. Representación de la intensidad ( $I$ ) en unidades arbitrarias (u.a.) frente a la concentración de los patrones ( $C$ ) en ppb. Límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ). Medidas tomadas con fluorímetro PerkinElmer LS-45

### 3.2.3. Cálculo de errores en las regresiones lineales

Para las ecuaciones de regresión lineal descritas en la *Gráfica 2* y la *Figura 2* se calculan los errores asociados a la pendiente ( $b$ ) y a la ordenada en el origen ( $a$ ). Se comienza por obtener la desviación estándar de los residuos de  $y$  ( $s_{y/x}$ ), reflejada en la *Ecuación 2* en la que ( $y_i - \hat{y}_i$ ) son los residuos de  $y$ ,  $\hat{y}_i$  son los puntos correspondientes a los valores de  $x$  calculados a partir de la recta de regresión y  $n$  es el número de puntos experimentales a partir de los cuales se construye la recta de regresión.

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}} \quad \text{Ecuación 2}$$

A continuación, se calculan las desviaciones estándar para la pendiente ( $s_b$ ) y de la ordenada en el origen ( $s_a$ ), siguiendo las *Ecuaciones 3* y *4*<sup>22</sup> respectivamente.

$$s_b = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{Ecuación 3}$$

$$s_a = s_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{Ecuación 4}$$



El error asociado a la pendiente ( $\Delta_b$ ) y a la ordenada en el origen ( $\Delta_a$ ) se calcula mediante las *Ecuación 5*<sup>22</sup>, resultando  $i$  sustituido por  $b$  y  $a$ , respectivamente.  $s_i$  es la desviación estándar y  $t_{p,(n-2)}$  es el valor seleccionado para la función de distribución t de Student en función de los grados de libertad  $(n - 2)$ <sup>23</sup>.

$$\Delta_i = s_i \cdot t_{p,(n-2)} \quad \text{Ecuación 5}$$

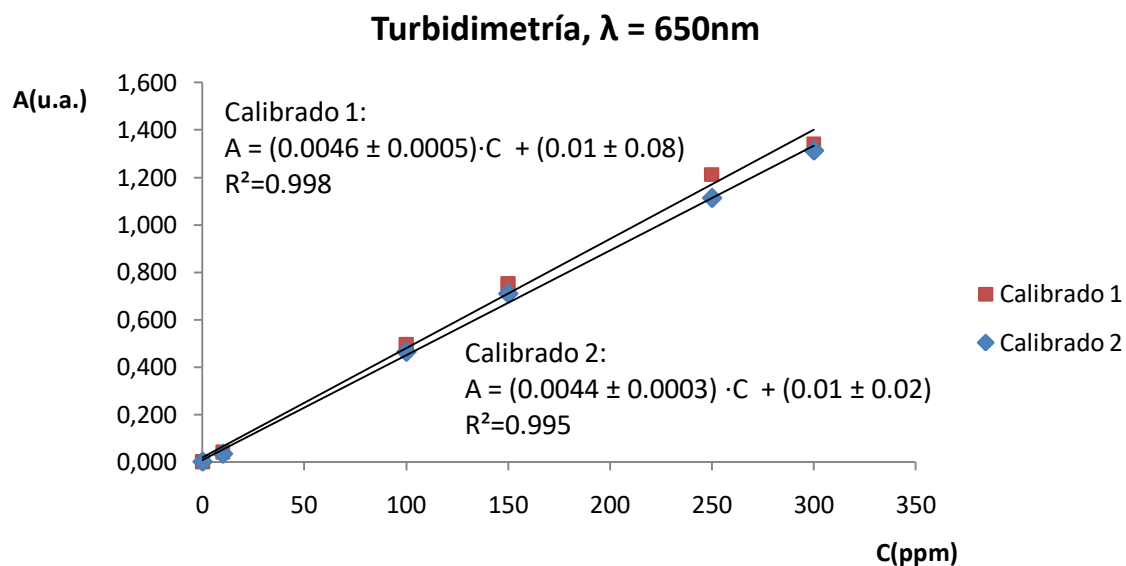
Para el método turbidimétrico ( *Gráfica 2* ) se obtienen como resultados  $\Delta_b = 0,0002$  y  $\Delta_a = 0,02$  con un intervalo de confianza del 95%. Todos los cálculos se encuentran desarrollados en el *Anexo 4*.

Asimismo, para el método nefelométrico ( *Figura 2* ) los resultados obtenidos son, para un intervalo de confianza del 95%,  $\Delta_b = 0,02$  y  $\Delta_a = 7$ . Todos los cálculos se encuentran desarrollados en el *Anexo 4*.

### 3.2.4. Estudio de reproducibilidad del método turbidimétrico

Se ha realizado un estudio de reproducibilidad del método turbidimétrico mediante comparación de dos réplicas del calibrado. Idealmente, se debería haber realizado el mismo estudio para el método nefelométrico. Sin embargo, por limitaciones de horario y disponibilidad de equipos no ha sido posible.

Los calibrados realizados para el método turbidimétrico se observan en la *Gráfica 3*.



**Gráfica 3:** Representación de la absorbancia ( $A$ ) en unidades arbitrarias ( $u.a.$ ) y medida a longitud de onda ( $\lambda$ ) de  $650\text{nm}$  frente a la concentración de los patrones ( $C$ ) en  $\text{ppm}$  para dos calibrados. Medidas tomadas con espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 30 Vis.

Se procede a la realización de un ensayo F para comprobar la homogeneidad entre las varianzas <sup>22</sup> de las pendientes de ambos calibrados. Para ello, se calcula el estadístico  $F_{calc}$  a partir de la *Ecuación 6*, en la que  $s_{b_1}$  es la desviación estándar de mayor valor y  $s_{b_2}$  la de menor.

$$F_{calc} = \frac{s_{b_1}^2}{s_{b_2}^2} \quad \text{Ecuación 6}$$

Calculado el valor,  $F_{calc} = 3.292$  se compara el resultado con el valor tabulado correspondiente  $F_{tab,95\%,v_1,v_2}$ , siendo  $v_1 = n_1 - 2$  y  $v_2 = n_2 - 2$  los grados de libertad para los calibrados 1 y 2 respectivamente. En este caso, con 6 puntos en cada recta ( $n_1 = n_2 = 6$ ),  $v_1 = v_2 = 4$  y  $F_{tab,95\%,v_1=4,v_2=4} = 9,065$ . Como se puede observar, el valor de  $F_{calc}$  es menor al de  $F_{tab,95\%,v_1=4,v_2=4}$ , lo que indica homogeneidad en las varianzas. Tomando esta consideración, se procede a la determinación estadística sobre la similitud de las pendientes mediante un ensayo t. Para el ensayo se emplea la *Ecuación 7* siendo  $b_1$  y  $b_2$  las pendientes del calibrado 1 y 2, respectivamente.

$$t_{calc} = \frac{|b_1 - b_2|}{\sqrt{s_{b_1}^2 + s_{b_2}^2}} \quad \text{Ecuación 7}$$

Obtenido el valor del estadístico,  $t_{calc} = 1.0236$ , se procede a su comparación con el valor tabulado para varianzas homogéneas  $t_{tab,95\%,n_1+n_2-4}$  cuyo valor es  $t_{tab,95\%,8} = 2.3060$ . Como se puede observar, el valor de  $t_{calc}$  es menor al de  $t_{tab,95\%,8}$  por lo que se puede afirmar que las pendientes son estadísticamente similares con un 95% de confianza y, en conclusión, el método es reproducible.

Un mayor número de réplicas del calibrado arrojarán resultados más exactos sobre la reproducibilidad del método.

### 3.2.5. Determinación de los límites de detección y cuantificación

Los límites de detección (LOD  $\equiv$  Limit Of Detection) y de cuantificación (LOQ  $\equiv$  Limit Of Quantification) se determinan por medio de las *Ecuaciones 8 y 9* <sup>22</sup>, respectivamente. Para las mismas  $y_b$  hace referencia a la señal analítica del blanco y  $s_b$  a la desviación estándar de la pendiente. Los valores obtenidos del LOD y el LOQ mediante el uso de las *Ecuaciones 8 y 9* son señales de absorbancia. Para la expresión del LOD y del LOQ en unidades de concentración se procederá a la sustitución del resultado obtenido en la ecuación de regresión lineal de la *Gráfica 2* para turbidimetría y en la ecuación de regresión lineal de la *Figura 2* para nefelometría.

$$LOD = y_b + 3s_b \quad \text{Ecuación 8}$$

$$LOQ = y_b + 10s_b \quad \text{Ecuación 9}$$

Puesto que no se ha podido realizar un estudio exhaustivo de los blancos y que  $y_b$  y  $s_b$  son términos derivados de una regresión obtenida por el método de mínimos cuadrados, se realizan dos aproximaciones sobre las *Ecuaciones 8 y 9*. Para el método de mínimos cuadrados, la variación de los puntos representados gráficamente está distribuida normal y únicamente en la dirección de  $y$ ; cuya desviación estándar se estima mediante la *Ecuación 2*. La primera aproximación es la sustitución de  $s_b$  por  $s_{y/x}$  en las *Ecuaciones 8 y 9*. La segunda, se basa en la suposición de que el valor de  $a$  para una regresión lineal realizada sobre parámetros corregidos (la señal del blanco es sustraída de la señal analítica de los patrones) debería aproximarse a la señal propia del blanco. Por ello la segunda corrección es la sustitución de  $y_b$  por  $a$ <sup>22</sup>.

Realizando los cálculos oportunos, detallados en el *Anexo 3*, se obtienen para el método turbidimétrico los valores LOD = 7 ppm y LOQ = 25 ppm.

En el caso del método nefelométrico, mediante las mismas operaciones detalladas en el *Anexo 3* se obtienen como resultado LOD = 45 ppb y LOQ = 150 ppb.

### **3.3. Determinación de sulfatos en las muestras**

#### **3.3.1. Muestras medidas mediante el método turbidimétrico**

La obtención de la concentración de sulfatos en las muestras se comienza calculando la concentración de la especie en las disoluciones diluidas de las mismas.

Atendiendo a las concentraciones calculadas reflejadas en la columna " $C_{dición. muestra}$ " de la *Tabla 2* se observa que las muestras para los ríos *Caudal DL*, *Cubia*, *Nalón (Cu-No)* y *Nalón (Tr-Ca)* podrían encontrarse por debajo del límite de detección calculado; mientras que la muestra del *Nora* se halla por debajo del límite de cuantificación. Esta situación parece contradecir la realidad de que todas las muestras han podido ser medidas y diferenciadas del blanco. No obstante, acudiendo a la bibliografía se puede dar una explicación a esta situación. Como se encuentra recogido en el libro *Garantía de calidad en los laboratorios analíticos* de Beltrán, R.C. y Castaño, C.B. "...el error de la estimación del límite de detección sería mucho mayor si la magnitud de las concentraciones y las señales de la recta de calibrado fuese muy distinta de las correspondientes al límite de detección, ya que ello nos obligaría a hacer una extrapolación" (cita literal)<sup>24</sup>. Por ello, las muestras serán analizadas mediante nefelometría. En el caso de la muestra de río *Nalón (No-Tr)* la señal dada coincide con la señal del patrón del límite inferior del calibrado. Para asegurar la mayor exactitud en los resultados, dicha muestra será analizada también por el método nefelométrico. Por ello, para minimizar el error en la estimación de los límites de detección, debería haberse realizado un calibrado en la región cercana a las mínimas concentraciones que pudiera detectar el equipo, es decir, en un intervalo de trabajo menor<sup>24</sup>.

Sustituyendo  $A$  en la regresión lineal de la *Gráfica 2* por los valores de las absorbancias recogidos en la *Tabla 2* para las muestras que entran dentro del calibrado, se obtienen las concentraciones de las mismas. Dichos valores se hallan recogidos en la columna “ $C_{\text{dición. muestra}}$ ” de la *Tabla 2*.

**Tabla 2: Medidas de absorbancia ( $A$ ) para la determinación turbidimétrica de sulfatos las muestras de aguas naturales seleccionadas, expresadas en unidades arbitrarias (u.a.) y medidas a longitud de onda ( $\lambda$ ) de 650 nm. Medidas tomadas con espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 30 Vis. Concentraciones obtenidas para las disoluciones diluidas de las muestras ( $C_{\text{dición. muestra}}$ ) y para las muestras iniciales ( $C_{\text{muestra}}$ ) medidas por el método turbidimétrico, expresadas en ppm.**

Muestra		A (u.a.) ; $\lambda = 650 \text{ nm}$	$C_{\text{dición. muestra}}$ (ppm)	$C_{\text{muestra}}$ (ppm)
Fuentes	Huevo (Lada)	1,040	213 $\pm$ 9	427 $\pm$ 7
	Nalona	0,348	71 $\pm$ 8	142 $\pm$ 6
Lagos	Braña Grande	0,406	83 $\pm$ 8	166 $\pm$ 6
	Braña Pequeño	0,400	82 $\pm$ 8	163 $\pm$ 6
Ríos	Caudal AL	0,011		
	Caudal DL	0,024	4 $\pm$ 8	9 $\pm$ 6
	Cubia	0,022	4 $\pm$ 8	8 $\pm$ 6
	Nalón (Cu-No)	0,018	3 $\pm$ 8	6 $\pm$ 6
	Nalón (No-Tr)	0,013		
	Nalón (Tr-Ca)	0,026	5 $\pm$ 8	9 $\pm$ 6
	Nora	0,062	12 $\pm$ 8	24 $\pm$ 6
	Trubia	0,004		
Subterránea	Cueva	0,000		

dición.  $\equiv$  disolución

Una vez obtenidas las concentraciones de sulfato para las disoluciones, se atiende al factor de dilución para obtener las concentraciones en las aguas naturales mediante el uso de la *Ecuación 10*, para la cual  $C_d$  es la concentración de sulfato en la disolución diluida,  $V_d$  es el volumen total de la disolución, y  $C_m$  y  $V_m$  son la concentración de sulfato y el volumen empleado de la muestra, respectivamente.

$$C_m = \frac{C_d \cdot V_d}{V_m} \quad \text{Ecuación 10}$$

De acuerdo con lo detallado en el apartado 2.3.2.1, 25 ml de las muestras ( $V_m$ ) son llevados a un volumen total de 50 ml ( $V_d$ ). Con las concentraciones obtenidas para las disoluciones, reflejadas en la columna “ $C_{dición. muestra}$ ” de la *Tabla 2* ( $C_d$ ) y la aplicación de la *Ecuación 10* se obtienen las concentraciones para las muestras, reflejadas en la columna “ $C_{muestra}$ ” de la *Tabla 2*.

El tratamiento de errores para las concentraciones recogidas en la *Tabla 2* será detallado en el apartado 3.3.3.

### 3.3.2. Muestras medidas mediante el método nefelométrico

La técnica de nefelometría se empleará para medir las muestras *Caudal AL*, *Trubia*, *Cueva* y *Nalón (No-Tr)*, de acuerdo a lo especificado en el apartado 2.3.2.2. Tras varias pruebas con los volúmenes a adicionar de las muestras, las disoluciones diluidas preparadas con 1 ml de las muestras *Caudal AL* y *Nalón (No-Tr)*, 2,5 ml de las muestras *Cueva* y *Trubia* ( $V_m$ ) y llevadas cada una a volúmenes totales de 25 ml ( $V_d$ ), dan señales dentro del calibrado. Con las concentraciones obtenidas para las disoluciones, reflejadas en la columna “ $C_{dición. muestra}$ ” de la *Tabla 3* ( $C_d$ ) y la aplicación de la *Ecuación 10* se obtienen las concentraciones para las muestras, reflejadas en la columna “ $C_{muestra}$ ” de la *Tabla 3*.

Las mediciones de las disoluciones de las muestras arrojan como resultado las intensidades recogidas en la *Tabla 3*.

**Tabla 3: Medidas de intensidad (I) para la determinación turbidimétrica de sulfatos las muestras de aguas naturales seleccionadas, expresadas en unidades arbitrarias (u.a.) y medidas a longitud de onda de emisión ( $\lambda_{emisión}$ ) de 650 nm. Medidas tomadas con fluorímetro PerkinElmer LS-4. Concentraciones obtenidas para las disoluciones de las muestras ( $C_{dición. muestra}$ ) expresadas en ppb y para las muestras ( $C_{muestra}$ ) expresadas en ppm.**

Muestra		I (u.a.) ( $\lambda_{emisión} = 650\text{nm}$ )	$C_{dición. muestra}$ (ppb)	$C_{muestra}$ (ppm)
Ríos	Caudal AL	47.297	$(23 \pm 5) \cdot 10$	$(17 \pm 5) \cdot 10^{-1}$
	Nalón (No-Tr)	65.068	$(31 \pm 5) \cdot 10$	$(77 \pm 5) \cdot 10^{-1}$
	Trubia	99.770	$(47 \pm 5) \cdot 10$	$(47 \pm 2) \cdot 10^{-1}$
Subterránea	Cueva	36.441	$(17 \pm 5) \cdot 10$	$(56 \pm 2) \cdot 10^{-1}$

Para la determinación de la concentración de sulfatos en las muestras se comienza calculando la concentración de la especie en las disoluciones preparadas a partir de las aguas naturales. Sustituyendo  $A$  en la regresión lineal de la *Figura 2* por los valores de las intensidades recogidos en la *Tabla 3* se obtienen las concentraciones de las mismas. Dichos valores se hallan recogidos en la columna “ $C_{dición. muestra}$ ” de la *Tabla 3*. A partir de los mismos se obtienen las concentraciones nativas de las

muestras haciendo uso de la *Ecuación 10*. El tratamiento de errores para las concentraciones recogidas en la *Tabla 3* será detallado en el apartado 3.3.3.

Aunque en este caso no se dé la situación paradójica acontecida en método turbidimétrico y todas las muestras medidas se encuentran por encima del LOQ, la muestra *Cueva* se encontraría en el límite. Por ello, debería hacerse la misma consideración que en el caso de turbidimetría y realizar un calibrado en la zona de mínimas concentraciones detectables por el equipo de medida.

Obtenidos todas las concentraciones de todas las muestras, se puede concluir que todas estarían dentro del límite establecido para aguas de consumo <sup>4</sup> en cuanto a límite de sulfatos se refiere, a excepción de la muestra de la fuente *Huevo (Lada)* la cual casi duplica el máximo establecido. Esto puede deberse a que se trata de una fuente de aguas termales sulfurosas, por lo que era de esperar que la concentración de sulfatos fuera elevada. A esta muestra le siguen, en cuanto a concentraciones de sulfato, las muestras de los lagos *Braña Grande* y *Braña pequeño*. El origen de esta concentración relativamente elevada de sulfatos puede recaer en la anterior explotación minera a cielo abierto <sup>7</sup> existente en la zona, la cual dio lugar a la creación de esas masas de agua una vez terminada la actividad humana.

### 3.3.3. Errores en la determinación de sulfato en las muestras de aguas naturales

#### 3.3.3.2. Error en las concentraciones de las disoluciones diluidas de las muestras

Las concentraciones de las disoluciones de las muestras son obtenidas mediante las ecuaciones de las regresiones de la *Gráfica 2* y la *Figura 2*. Por ello, el cálculo los errores asociados a las mismas se obtiene mediante la aplicación de la *Ecuación 11* <sup>22</sup>.  $s_{x_0}$  es la desviación estándar del valor estimado de  $x$  empleando la recta de regresión,  $y_0$  son los valores de  $y$  obtenidos para disoluciones de las muestras.

$$s_{x_0} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{Ecuación 11}$$

Obtenido  $s_{x_0}$  se calcula, de manera análoga a los errores de pendiente y a la ordenada en el origen, el error para las disoluciones de las muestras ( $\Delta_{x_0}$ ) se obtiene mediante la aplicación de la *Ecuación 9*, resultando  $i$  sustituido por  $x_0$ . Los cálculos se encuentran detallados en el *Anexo 5* y los resultados, expresados para un 95% de confianza, pueden observarse en las columnas “*C*ación. muestra ” de la *Tabla 2* para turbidimetría y de la *Tabla 3* para nefelometría.

#### 3.3.3.3. Errores en el cálculo de concentraciones de la muestra

Las concentraciones nativas para las muestras son calculadas a partir de la *Ecuación 10*. Puesto que se trata de una combinación de productos y cocientes, el error asociado a ella viene dado por la *Ecuación*

12<sup>24</sup>. En ella,  $u(y)$  es la incertidumbre de la medida,  $y$  es la propia medida,  $a$ ,  $b$  y  $c$  son los componentes de la ecuación (para el caso de la *Ecuación 10*  $a = C_d$ ,  $b = V_d$  y  $c = V_m$ ) y  $u(a)$ ,  $u(b)$  y  $u(c)$  son las incertidumbres de los mismos (nuevamente, para el caso de la *Ecuación 10*  $u(a) = s_{x_0}$  mientras que  $u(b)$  es la incertidumbre marcada para el matraz aforado usado para la preparación de la disolución de la muestra y  $u(c)$  es la incertidumbre marcada para la pipeta usada para adicionar la muestra al matraz).

$$u(y) = y \cdot \sqrt{\left[\frac{u(a)}{a}\right]^2 + \left[\frac{u(b)}{b}\right]^2 + \left[\frac{u(c)}{c}\right]^2} \quad \text{Ecuación 12}$$

Los cálculos se encuentran detallados en el *Anexo 6* y los resultados pueden observarse en la columna “ $C_{muestra}$ ” de la *Tabla 2* para turbidimetría y de la *Tabla 3* para nefelometría.

## 4. Conclusiones

El presente trabajo ha tenido como finalidad comprobar, por una parte, los niveles de sulfatos en muestras de aguas naturales de Asturias y por otra, validar y comparar dos técnicas analíticas, turbidimetría y nefelometría, para el estudio de los sulfatos en agua.

Como primera conclusión, la metodología seleccionada y desarrollada ha resultado altamente satisfactoria en tanto que ha proporcionado resultados fiables teniendo en cuenta los coeficientes de correlación de la *Gráfica 2* y la *Figura 2*; y errores relativamente bajos como se observan en las *Tablas 2* y *3* para intervalos de confianza del 95%, todo ello mediante una operatoria rápida por la sencillez experimental y reproducible, como se ha podido concluir en el apartado 3.2.4. Además, el uso combinado de dos metodologías ha permitido cubrir un rango de concentraciones elevado, desde 100 ppb (punto mínimo del calibrado de la *Figura 2*) hasta 300 ppm (punto máximo del calibrado de la *Gráfica 2*).

Por otra parte, se ha evidenciado la mayor sensibilidad del método nefelométrico frente al método turbidimétrico, atendiendo a la comparación entre pendientes para ambos calibrados (*Gráfica 2* y *Figura 2*). En cuanto al LOD y LOQ obtenidos para ambos métodos, se ha hecho patente la necesidad de un estudio más profundo de los límites inferiores de detección de ambos equipos por la aparente incongruencia encontrada durante el tratamiento de esos parámetros, detallada en el apartado 3.2.5.

Para las muestras, cabe resaltar lo mencionado en el apartado 3.3.2; a excepción de la muestra de la fuente *Huevo (Lada)* el resto de muestras han presentado concentraciones de sulfatos menores a la fijada como máxima para aguas de consumo humano, valor que se estipuló como referencia en el apartado 1 frente a la inexistencia de registros para concentraciones de sulfatos en aguas naturales del Principado.

## 5. Bibliografía

### 5.1. Artículos, Revisiones, Libros y Monografías:

- (1) Alfabético temática Invicta; Editorial Norma. p. 932. 2001.
- (2) Ramírez A., San José C. Anales de la Real Academia de Doctores de España, Vol 10, pp. 33-46, 2006.
- (3) Parihar, P.; Singh, S.; Singh, R.; Singh, V. P.; Prasad, S. M. Effect of Salinity Stress on Plants and Its Tolerance Strategies: A Review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2015, 22 (6), 4056–4075. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3739-1>.
- (4) Ministerio de la Presidencia, Relaciones con las Cortes y Memoria Democrática. Real Decreto 3/2023, de 10 de Enero, Por El Que Se Establecen Los Criterios Técnico-Sanitarios de La Calidad Del Agua de Consumo, Su Control y Suministro; 2023; Vol. BOE-A-2023-628, pp 4253–4354.
- (5) Backer, L. C. Assessing the Acute Gastrointestinal Effects of Ingesting Naturally Occurring, High Levels of Sulfate in Drinking Water. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2000, 37 (4), 389–400. <https://doi.org/10.1080/10408360091174259>.
- (6) Zhou, J.; Bai, X.; Tian, J. Study on the Impact of Electric Power and Thermal Power Industry of Beijing–Tianjin–Hebei Region on Industrial Sulfur Dioxide Emissions—From the Perspective of Green Technology Innovation. *Energy Rep.* 2022, 8, 837–849. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2022.02.039>.
- (7) Calkins, W. H. The Chemical Forms of Sulfur in Coal: A Review. *Fuel* 1994, 73 (4), 475–484. [https://doi.org/10.1016/0016-2361\(94\)90028-0](https://doi.org/10.1016/0016-2361(94)90028-0).
- (8) Consejería de Administración Autonómica, Medio Ambiente y Cambio climático. Informe Calidad del Aire en Asturias 2021. 2022.
- (9) Martínez, J. J. G. Las obras de saneamiento de río Nalón en Asturias.
- (10) BOE-A-2023-3511 Real Decreto 35/2023, de 24 de enero, por el que se aprueba la revisión de los planes hidrológicos de las demarcaciones hidrográficas del Cantábrico Occidental, Guadalquivir, Ceuta, Melilla, Segura y Júcar, y de la parte española de las demarcaciones hidrográficas del Cantábrico Oriental, Miño-Sil, Duero, Tajo, Guadiana y Ebro.
- (11) Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Real Decreto 1/2016, de 8 de Enero, Por El Que Se Aprueba La Revisión de Los Planes Hidrológicos de Las Demarcaciones Hidrográficas Del Cantábrico Occidental, Guadalquivir, Ceuta, Melilla, Segura y Júcar, y de La Parte Española de Las Demarcaciones Hidrográficas Del Cantábrico Oriental, Miño-Sil, Duero, Tajo, Guadiana y Ebro; 2016; Vol. BOE-A-2016-439, pp. 2972–4301.
- (12) APHA, AWWA, WPCF. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. 17ª Edición. pp.4-233 - 4-235. 1989.
- (13) Kubáň, V. Continuous Precipitation Techniques in Flow Injection Analysis. *Fresenius J. Anal. Chem.* 1993, 346 (10), 873–881. <https://doi.org/10.1007/BF00322743>.
- (14) Gallego, M.; Valcárcel, M. Indirect Automatic Atomic Absorption Determination of Sulphate Based on Its Precipitation with Barium. *Microchim. Acta* 1991, 105 (4), 163–168. <https://doi.org/10.1007/BF01243543>.



- (15) Cacho, F.; Masac, J.; Zakhar, R.; Beinrohr, E. Indirect Electrochemical Determination of Sulfates in Mineral Water by a Flow-through System. *Talanta* 2020, 207, 120281. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120281>.
- (16) Milani, M. R.; Cardoso, A. A. Construction and Performance of a Drop Cell for the Nephelometric Determination of Sulfur Dioxide. *Microchem. J.* 2003, 74 (1), 75–82. [https://doi.org/10.1016/S0026-265X\(02\)00173-X](https://doi.org/10.1016/S0026-265X(02)00173-X).
- (17) Suman, S.; Singh, R. Anion Selective Electrodes: A Brief Compilation. *Microchem. J.* 2019, 149, 104045. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104045>.
- (18) Xing, R.; Yang, Z.; Zhou, Y.; Wang, S. Rapid Determination of Total Sulfur Content in Green Liquors by Turbidimetric Method. *BioResources* 2020, 15 (1), 721–728.
- (19) Wu, S.; Li, Y.-S.; Wang, X.-L. A Flow-Injection System Exploiting Focused Beam Reflectance Applied to the Determination of High Concentrations of Sulfate. *Anal. Methods Adv. Methods Appl.* 2021, 13 (9), 1147–1153. <https://doi.org/10.1039/d0ay01707h>.
- (20) Harvey, D. *Analytical Chemistry 2.1*; Open Education Resource Libretexts Project. pp. 10.8.1, 10.8.2. 2023.
- (21) Aucejo, A. M.; Estellés, M. J. L.; Hernández, R. H. *Laboratorio de análisis instrumental*; Universitat de València, 2011.
- (24) Miller, J. N.; Miller, J. C. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*; Pearson Educación. pp.119-125. 2002.
- (25) Neave, H. R. *Elementary Statistics Tables*; Routledge, 2002.
- (26) Beltrán, R. C.; Compañó, C. B.; Castro, Á. R.; Ríos, Á. *Garantía de la Calidad en Los Laboratorios Analíticos*; Síntesis Editorial. pp. 118, 233-234. 2002.

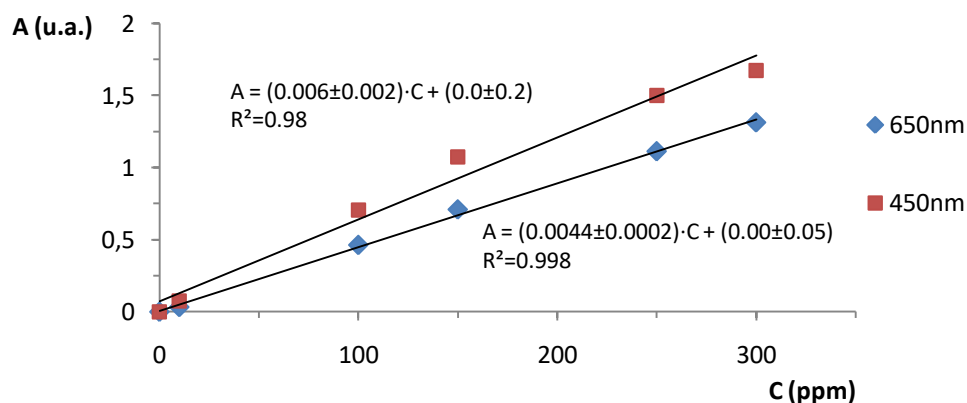
## 5.1. Recursos WEB

- (w1) [https://www.chcantabrico.es/documents/20143/83020/20220120\\_rio\\_nalon.pdf/912fedca-e982-0460-0b93-9d10329fe7d8](https://www.chcantabrico.es/documents/20143/83020/20220120_rio_nalon.pdf/912fedca-e982-0460-0b93-9d10329fe7d8) (accessed 2023-01-06).

## 6. Anexos

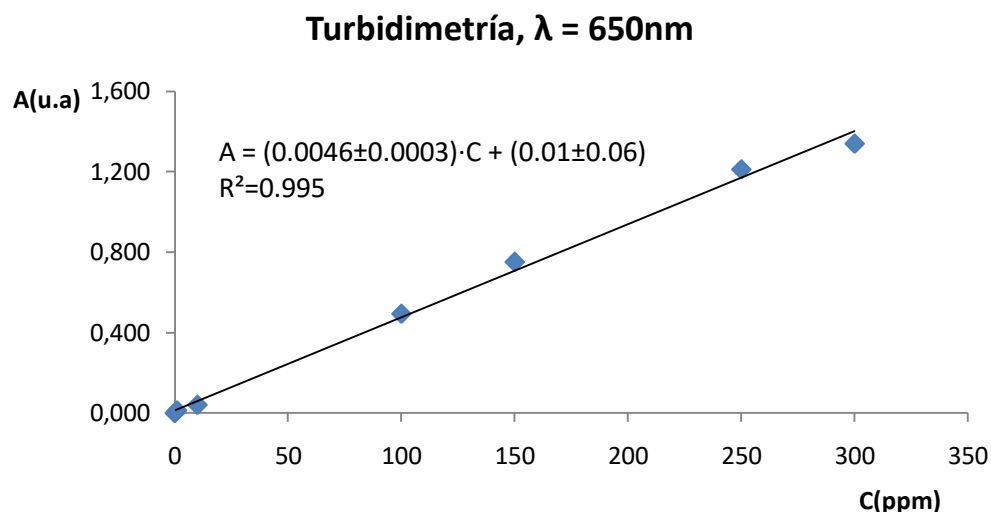
Los valores de los cálculos realizados en los anexos se hallan sin redondear. Posteriormente se tendrán en cuenta los órdenes de los errores y se ajustarán los decimales para la presentación de los resultados en el apartado 3.

### 6.1. Anexo 1:



*Anexo 1: Comparación de rectas de calibrado medidas a 450 y 560m. Representación de la absorbanza (A) en unidades arbitrarias (u.a.) frente a la concentración de los patrones (C) en ppm. Medidas tomadas con espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 30 Vis*

### 6.2. Anexo 2:



*Anexo 2: calibrado inicial para los patrones del método turbidimétrico. Representación de la absorbanza (A) en unidades arbitrarias (u.a.) frente a la concentración de los patrones (C) en ppm. Medidas tomadas con espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 30 Vis*

### 6.3. Anexo 3

Para el método turbidimétrico, se toman los valores  $s_{y/x} = 0,00057082$  y  $a = 0,003103087$  del *Anexo 4*; y considerando las aproximaciones  $y_b = a$ ;  $s_b = s_{y/x}$  se hacen las sustituciones oportunas en las *Ecuaciones 8 y 9*.

$$LOD = y_b + 3s_b = a + 3s_{y/x} = 0,038940838$$

$$LOQ = y_b + 3s_b = a + 10s_{y/x} = 0,122562257$$

Los resultados se sustituyen en la ecuación de la regresión lineal de la *Gráfica 2* y se obtienen los valores del LOD y LOQ expresados en concentraciones:  $LOD = 7,3715508 \approx 7$  ppm;  $LOQ = 24,5718361 \approx 25$  ppm.

Para el método nefelométrico, se opera de manera análogo, tomando los valores  $s_{y/x} = 3,152088565$  y  $a = 0,038844421$ .

$$LOD = a + 3s_{y/x} = 9,495110116$$

$$LOQ = a + 10s_{y/x} = 31,55973007$$

Los resultados se sustituyen en la ecuación de la regresión lineal de la *Figura 2* y se obtienen los valores del LOD y LOQ expresados en concentraciones:  $LOD = 44,9595725 \approx 45$  ppb;  $LOQ = 149,8652417 \approx 150$  ppb.

## 6.4. Anexo 4

Para obtener  $s_{y/x}$ , se emplea la *Ecuación 2*. Para obtener  $s_b$  y  $s_a$  se emplean las *Ecuaciones 3 y 4*, respectivamente. Para obtener  $\Delta_b$  y  $\Delta_a$  se emplea la *Ecuación 5*, respectivamente. Se parte de las regresiones lineales obtenidas para la *Gráfica 2* y la *Figura 2*. (previas al tratamiento de errores).

NEFELOMETRÍA				
<b>x = C (ppb)</b>	<b>y = I (u.a.)</b>	<b><math>\hat{y}_i</math> (u.a.)</b>	<b><math>y_i - \hat{y}_i</math> (u.a.)</b>	<b><math>x_i - \bar{x}</math> (ppm)</b>
0	0,000	0,038844421	-0,038844421	-301,0975351
100	19,530	21,14861136	-1,61885736	-200,7316901
250	52,299	52,81326177	-0,514309768	-50,18292251
350	78,650	73,92302871	4,727246293	50,18292251
500	101,781	105,5876791	-3,806735115	200,7316901
600	126,564	126,6974461	-0,133555054	301,0975351
n = 6 $\bar{x} = 301,0975351$ $p = 0,975$ (95%) $y_{0,975;4} = 2,7764$		$\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2 = 39,74264928$ $s_{y/x} = 3,152088565$		$\sum_i (x_i - \bar{x})^2 = 266942,5255$ $s_b = 0,00608633$ $\Delta_b = 0,016898086$ $s_a = 2,229347641$ $\Delta_a = 6,189560792$
Regresión <i>Figura 2</i> : $y = b \cdot x + a$ $b = 0,210328194$ $a = 0,038844421$ $R^2 = 0,996$				

## 6.5. Anexo 5

Para obtener  $s_{x_0}$  se hace uso de la *Ecuación 12*. Con respecto al cálculo de  $\Delta_{x_0}$ , los resultados se obtienen por aplicación de la *Ecuación 5*.

TURBIDIMETRÍA						
Calibrado		Muestra		$(y_0 - \bar{y})^2$ (u.a.)	$s_{x_0}$ (ppm)	$\Delta_{x_0}$ (ppm)
x = C (ppm)	y = A (u.a.)	Fuentes				
0	0		Lagos	Huevo (Lada)	0,6084	3,114403136
1	0,013	Nalona		0,007744	2,660421609	7,386394555
10	0,041	Ríos	Braña Grande	0,021316	2,671531472	7,417239978
100	0,494		Braña Pequeño	0,0196	2,670129329	7,41334707
150	0,752		Caudal DL	0,055696	2,699469888	7,494808197
250	1,212		Cubia	0,056644	2,700236171	7,496935706
n = 6 $\bar{y} = 0,260$ $p = 0,975$ (95%) $y_{0,975;4} = 2,7764$ $\sum_i (x_i - \bar{x})^2 = 58527,54157$			Nalón (Cu-No)	0,058564	2,701787472	7,501242736
			Nalón (Tr-Ca)	0,054756	2,698709856	7,492698045
		Nora	0,039204	2,686104164	7,4576996	
Regresión Gráfica 2: $y = b \cdot x + a$ $b = 0,00486163$ $a = 0,003103087$ $R^2 = 0,9995$						

NEFELOMETRÍA						
Calibrado		Muestra		$(y_0 - \bar{y})^2$ (u.a.)	$s_{x_0}$ (ppm)	$\Delta_{x_0}$ (ppm)
x = C (ppm)	y = I (u.a.)	Ríos	Caudal AL	250,916836	16,33403687	45,34981997
0	0,000		Nalon No-Tr	3,728306585	16,1894863	44,94848976
100	19,530		Trubia	1341,9192	16,95731706	47,08029507
250	52,299		Subterránea	Cueva	712,6795483	16,60069438
350	78,650					
500	101,781					
600	126,564					
n = 6 $\bar{y} = 63,137$ $p = 0,975$ (95%) $y_{0,975;4} = 2,7764$ $\sum_i (x_i - \bar{x})^2 = 266942,5255$						
Regresión <i>Figura 2</i> : $y = b \cdot x + a$ $b = 0,210328194$ $a = 0,038844421$ $R^2 = 0,996$						

## 6.6. Anexo 6

Para obtener  $u(y)$  se hace uso de la *Ecuación 12*.

TURBIDIMETRÍA							
Muestra		$s_{x_0}$ (ppm)	$C_d$ (ppm)	$\left[\frac{u(a)}{a}\right]^2$	$\left[\frac{u(b)}{b}\right]^2$	$\left[\frac{u(c)}{c}\right]^2$	$u(y)$ (ppm)
<b>Fuentes</b>	Huevo (Lada)	3,114403136	213,2817514	0,000213227	0,00000144	0,000016	6,478529738
	Nalona	2,660421609	70,94265271	0,001406326	0,00000144	0,000016	5,353733731
<b>Lagos</b>	Braña Grande	2,671531472	82,87280838	0,001039194	0,00000144	0,000016	5,387710691
	Braña Pequeño	2,670129329	81,63865435	0,001069727	0,00000144	0,000016	5,383614387
<b>Ríos</b>	Caudal DL	2,699469888	4,298334836	0,394417783	0,00000144	0,000016	5,399059137
	Cubia	2,700236171	3,886950158	0,482598044	0,00000144	0,000016	5,400569922
	Nalón (Cu-Tr)	2,701787472	3,064180801	0,777452014	0,00000144	0,000016	5,40363555
	Nalon (Tr-Ca)	2,698709856	4,709719514	0,328338873	0,00000144	0,000016	5,397563055
	Nora	2,686104164	12,11464372	0,049161419	0,00000144	0,000016	5,373161138

$$a = C_d ; u(a) = s_{x_0}$$

$$b = V_d = 50 \text{ ml} ; u(b) = 0,06 \text{ ml}$$

$$c = V_m = 25 \text{ ml} ; u(c) = 0,04 \text{ ml}$$

NEFELOMETRÍA							
Muestra		$s_{x_0}$ (ppm)	$C_d$ (ppb)	$\left[\frac{u(a)}{a}\right]^2$	$\left[\frac{u(b)}{b}\right]^2$	$\left[\frac{u(c)}{c}\right]^2$	$u(y)$ (ppm)
Ríos	Caudal AL	16,33403687	224,6874404	0,005284811	0,00000256	0,0009	441,8469772
	Nalon (No-Tr)	16,1894863	309,1803305	0,009199992	0,00000256	0,0009	466,621777
Subterránea	Trubia	16,95731706	474,1669275	0,002741842	0,00000256	0,000144	179,0257839
	Cueva	16,60069438	173,0742744	0,001278945	0,00000256	0,000144	167,3240017

$$a = C_d ; u(a) = s_{x_0}$$

$$b = V_d = 25 \text{ ml} ; u(b) = 0,04 \text{ ml}$$

$$c = V_m = \begin{cases} 1 \text{ ml (Caudal, Nalón (No - Tr))} \\ 2,5 \text{ ml (Trubia, Cueva)} \end{cases} ; u(c) = 0,03 \text{ ml}$$



