



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

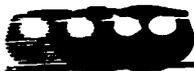


EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

TECNICAS ANALITICAS DE ESPECIACION DE
ALUMINIO, ARSENICO, CROMO, MERCURIO
Y PLOMO EN AGUA.

TRABAJO MONOGRAFICO DE
ACTUALIZACION
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
Q U I M I C A
P R E S E N T A :
NOEMI JIMENEZ MARTINEZ

ASESOR: M. EN I. J. LUIS MARTINEZ PALACIOS.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1997

24
Del.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente
Vocal
Secretario
1er. Suplente
2do. Suplente

Prof. Sanson Ortega María del Carmen
Prof. Baeza Reyes José Alejandro
Prof. Martínez Palacios José Luis
Prof. Luna Pabello Víctor Manuel
Prof. Ramírez Burgos Landy Irene

Sitio donde se desarrolló el tema:
Instituto de Ingeniería, Coordinación de Ingeniería Ambiental, UNAM.
Coyoacán, D. F.

ASESOR DEL TEMA:



M. en I. José Luis Martínez Palacios

SUSTENTANTE:



Noemí Jiménez Martínez

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Ing. J. Luis Martínez todas sus atenciones académicas y personales.

Al Ing. Víctor Franco por sus consideraciones para conmigo.

A la Coordinación de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería por las facilidades brindadas.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por los conocimientos adquiridos a lo largo de mi carrera.

DEDICATORIA

Esta tesis la dedico a todos los seres que
quiero, en los que pienso, comparto mi vida
y viven en mi interior.

Noemi

INDICE

	<i>página</i>
RESUMEN	i
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ESPECIACIÓN	3
2.1 Especiación de aluminio	3
2.1.1 Principios y métodos	4
2.1.2 Metodologías analíticas	
a) Aplicación en muestras sintéticas	6
b) Aplicación en muestras de agua natural	9
2.1.3 Análisis de las metodologías analíticas de Al	15
2.2 Especiación de arsénico	16
2.2.1 Principios y métodos	18
2.2.2 Metodologías analíticas	
a) Aplicación en muestras sintéticas	20
b) Aplicación en muestras de agua natural	31
c) Aplicación en muestras marinas y sedimento	40
2.2.3 Análisis de las metodologías analíticas de As	42

2.3 Especiación de cromo	44
2.3.1 Principios y métodos	46
2.3.2 Metodologías analíticas	
a) Aplicación en muestras sintéticas	47
b) Aplicación en muestras de agua natural	54
c) Aplicación en muestras de suelo	59
2.3.3 Análisis de las metodologías analíticas de Cr	61
2.4 Especiación de mercurio	62
2.4.1 Principios y métodos	64
2.4.2 Metodologías analíticas	
a) Aplicación en muestras sintéticas	66
b) Aplicación en muestras de agua natural	74
c) Aplicación en líquenes, suelo, sedimento, muestras marinas y varios medios.	85
2.4.3 Análisis de las metodologías analíticas de Hg	88
2.5 Especiación de plomo	90
2.5.1 Principios y métodos	92
2.5.2 Metodologías analíticas	
a) Aplicación en muestras sintéticas	94
b) Aplicación en muestras de agua natural	103
c) Aplicación en muestras de aire	108
2.5.3 Análisis de las metodologías analíticas de Pb	111

3. TÉCNICAS ANALÍTICAS

113

3.1 Espectroscopia de Absorción Atómica

3.1.1 Conceptos teóricos	113
3.1.2 Instrumentación	114
3.1.3 Absorción atómica	
a) Flama	115
b) Horno de grafito	116
c) Métodos de generación de vapor	116

3.2 Espectroscopia de Ultravioleta-Visible

3.2.1 Conceptos teóricos	117
3.2.2 Instrumentación	118
3.2.3 Interferencias y desviaciones	119

3.3 Polarografía

3.3.1 Conceptos teóricos	120
3.3.2 Instrumentación	121
3.3.3 Polarografía Diferencial de Pulsos	122
3.3.4 Aplicaciones	123

3.4 Cromatografía

3.4.1 Introducción a la cromatografía	123
3.4.2 Cromatografía de Gases	124
3.4.3 Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución	127
3.4.4 Tipos de cromatografía	130

3.5 Espectroscopia de Emisión Atómica- Plasma Acoplado Inductivamente

3.5.1 Conceptos teóricos	131
3.5.2 Instrumentación	132
3.5.3 Aplicaciones	134
3.5.4 Interferencias	135

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	136
--	------------

REFERENCIAS	138
--------------------	------------

ANEXO 1	<i>Figura A1-1</i>
	<i>Figura A1-2</i>
	<i>Figura A1-3</i>
	<i>Figura A1-4</i>
	<i>Figura A1-5</i>

ANEXO 2	<i>Tabla A2-1</i>
----------------	-------------------

ANEXO 3	<i>Evaluación de una metodología de especiación de arsénico en una muestra acuosa sintética.</i>
----------------	--

RESUMEN

Son importantes los estudios sobre la especiación de elementos tóxicos en agua por la valiosa información que proveen. A través de los estudios de especiación es posible conocer el estado de oxidación, las especies químicas y la concentración total de un elemento en una muestra. La información sobre las especies de un elemento en agua se utiliza para realizar evaluaciones de impacto ambiental y toxicológicas, además de apoyar en los estudios de procesos de remoción de un elemento en agua.

Este trabajo monográfico se fundamenta en la recopilación de información de metodologías analíticas para la especiación de aluminio, arsénico, cromo, mercurio y plomo en agua. La búsqueda de información se realizó principalmente en publicaciones de educación científica en el área de química analítica y ambiental.

La información recopilada para cada elemento se analizó y organizó de acuerdo a los siguientes conceptos: generalidades del elemento, principios y métodos de los estudios revisados, descripción de las metodologías analíticas de acuerdo con la aplicación en muestras sintéticas y naturales, y finalmente el análisis de las metodologías descritas. Por otra parte, para la mayoría de los elementos se hace una breve descripción de estudios aplicados a diversas muestras naturales.

Posteriormente se describen las cinco técnicas analíticas más aplicadas en los estudios revisados, entre las que figuran Espectroscopía de Absorción Atómica, Espectroscopía de Ultravioleta Visible, Polarografía, Cromatografía y Espectroscopía de Emisión Atómica-Plasma Acoplado Inductivamente. En la descripción de las técnicas se menciona principalmente el fundamento en el que se basa la técnica, los componentes básicos que conforman el equipo analítico, así como aplicaciones, interferencias y límites de detección.

Por último, se evalúa una metodología analítica de especiación de arsénico trivalente y pentavalente en una muestra acuosa sintética. Se describe el material, reactivos y equipo analítico utilizados, procedimiento experimental, resultados obtenidos y conclusiones.

Con base en la revisión, se concluye que la especiación de los elementos seleccionados es importante y compleja a la vez. La importancia se denota en cada estudio, y es compleja por que implica conocimientos más profundos de la química del elemento y su comportamiento en sistemas acuosos; además de que la experiencia juega un papel importante para realizar cualquier estudio de especiación.

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se ha observado un incremento en la concentración de algunos elementos en el medio ambiente principalmente por la actividad industrial. Varios de estos *elementos* son *tóxicos* y causan daños a la salud y bienestar del hombre y seres vivos.

El seguimiento de estos *elementos tóxicos* en el ambiente se realiza determinando la concentración total y estableciendo un máximo nivel permisible en normas de declaración ambiental. En la Norma Oficial Mexicana-127-SSA1-1994 los niveles máximos permisibles se reportan en términos de concentración total para varios elementos, a excepción del cromo que está especificado con valencia hexavalente. El uso de la concentración total como un criterio para avaluar los efectos potenciales de toxicidad, implica que todas las formas de un elemento en particular tienen similar impacto en el ambiente. Sin embargo, se ha demostrado que la capacidad tóxica de los elementos depende de la forma orgánica o inorgánica y del estado de oxidación en el que se encuentre.

En la actualidad se han desarrollado nuevas metodologías analíticas que permiten determinar las *especies* presentes de un elemento en muestras de estudio. En química analítica éstas metodologías se conocen con el nombre de *especiación*. La *especiación* se define como la determinación cualitativa y cuantitativa de cada una de las formas bioquímicas, orgánica e inorgánica y su estado de oxidación de un elemento en una muestra. Así, la especiación no sólo permite conocer la concentración total de un elemento, sino también las especies que lo representan en su totalidad.

La *especiación* es importante por diversas razones. En los sistemas biológicos se requiere conocer de las especies de un elemento para establecer la forma en la que dichos sistemas manejan y dirigen las formas químicas del elemento. En los ciclos geoquímicos las propiedades químicas de las especies afectan considerablemente las

velocidades de descomposición y transportación local y/o global de varios elementos, así también las propiedades físicas de solubilidad y volatilidad repercuten en los cambios físicos.

Los estudios de *especiación* se requieren en diferentes circunstancias. En los estudios de evaluación toxicológica se determinan las especies presentes de un elemento para aquilatar el potencial de toxicidad. Por ejemplo, Chen *et al* (1994) realizaron un estudio sobre la especiación de arsénico en muestras de agua subterránea (pozo) con el fin de correlacionar la presencia de especies tóxicas como arsénico trivalente y la enfermedad de "pies negros" en Taiwan.

Con relación a lo anteriormente citado, la *especiación de elementos tóxicos* en agua contaminada resulta ser relevante. La *especiación de elementos tóxicos* en agua, por ejemplo *iones metálicos*, es importante por su toxicidad y comportamiento acumulativo, ya que a diferencia de otros contaminantes no son bio-degradables.

El presente trabajo tiene como objetivo recopilar información de las metodologías analíticas para especiar aluminio, arsénico, cromo, mercurio y plomo en muestras de agua. Los cinco elementos fueron seleccionados de los parámetros inorgánicos reportados en la NOM-127-SSA-1994 para agua de consumo humano considerando la importancia ambiental y toxicológica que poseen. Con la finalidad de acentuar la importancia de los elementos seleccionados, se citan brevemente estudios de *especiación* aplicados a otros tipos de muestras.

El propósito del trabajo es disponer de información actualizada y resumida de las metodologías de *especiación* desarrolladas en investigaciones de los elementos seleccionados, para facilitar a estudios futuros la evaluación y aplicación de esas metodologías en la solución de problemas de interés. El conocimiento de las *especies del metal* en solución permitirá definir adecuadamente los niveles de concentración permisibles en agua de consumo humano, así como también determinar los procesos de tratamiento que optimicen la remoción del *metal* en agua.

2. ESPECIACIÓN

2.1 Especiación de aluminio

El aluminio es el tercer elemento más abundante en la corteza terrestre (8%). El metal no se encuentra libre en la naturaleza ya que es altamente reactivo, pero compuestos de Al existen en todos los materiales geológicos. Además de encontrarse en minerales, especialmente feldespatos y micas, se halla en arcillas sedimentarias como montmorillonita y kaolinita (Howells, 1995).

Generalmente la concentración de Al en cuerpos de agua es muy baja debido a que los minerales de Al (feldespatos en rocas ígneas y metamórficas) son poco solubles. La concentración de Al en agua de río y lago a $\text{pH} > 5.5$ es aproximadamente de 100 $\mu\text{g Al/L}$; en agua superficial y subterránea a $\text{pH} < 5.5$ las concentraciones varían en el intervalo de 0.1 a 0.7 mg Al/L (Friberg *et al.*, 1990).

El aluminio en solución presenta propiedades particulares de comportamiento anfotérico, cinéticas de hidrólisis lentas, marcada influencia del pH en la solubilidad, etc., que lo caracteriza como un analito (Campbell *et al.*, 1983). El estado de oxidación más común es $3+$, y aunque es metálico exhibe marcada tendencia covalente para formar complejos estables con compuestos inorgánicos y orgánicos. Los compuestos inorgánicos son especies solubles que incluyen el ion acuoso Al^{3+} y productos de hidrólisis [$\text{Al}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, $\text{Al}(\text{OH})_3$, $\text{Al}(\text{OH})_4^-$] que dependen del pH de la solución (Howells, 1995). La zona de dominio para cada especie se presenta en la *figura A1-1* (anexo 1).

La presencia de Al en suelos y sistemas acuáticos se ha incrementado como resultado de la precipitación atmosférica en forma de lluvia ácida (Quintela *et al.*, 1993). La acidificación del agua tiene el efecto de incrementar la solubilidad de los iones

metálicos. El cambio de pH debido a la acidificación permite solubilizar la especie neutra de $\text{Al}(\text{OH})_3$, originando especies tóxicas de $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ y Al^{3+} (Kramer *et al.*, 1991).

La química del Al es importante debido a la toxicidad de este elemento hacia organismos acuáticos y terrestres. El Al en un intervalo de pH 5 a 6 es más tóxico debido a que está presente en forma de hidroxilo. Las formas hidroxilo son tóxicas para peces a concentraciones cerca de $60 \mu\text{g/L}$, su presencia afecta las funciones de las branquillas alterando los procesos de regulación de ion y respiración (Howells, 1995). En la salud humana el Al altera la homeostásis de calcio, la energía del metabolismo y la producción de macromoléculas como RNA. También juega un papel importante con la degeneración neuronal asociada con "neurofibrillary degeneration" observada en la enfermedad de Alzheimer's (Zakrzewski, 1991).

La Norma Oficial Mexicana (NOM)-127-SSA1-1994 establece que el límite permisible de Al es de 0.20 mg/L para agua de consumo humano, a diferencia de la Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología en los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua CE-CCA-001/89, que estableció 0.02 mg/L de Al para agua potable.

En los últimos años se ha observado un incremento en la movilidad geológica del Al probablemente debido a la depositación ácida, que aunado con los estudios de toxicidad del Al para la salud humana y seres vivos especialmente marinos, hace que la especiación de Al adquiera importancia en estudios ambientales.

2.1.1 Principios y métodos

Los estudios que se citan posteriormente se aplicaron a la especiación de aluminio en muestras acuosas sintéticas y naturales. Se describen a continuación las metodologías de especiación revisadas.

En la mayor parte de los estudios se utilizó la cromatografía y UV-Vis (Ultraviolet-Visible) como métodos de separación y detección, respectivamente. LaZerte *et al* (1988) aplican una resina de intercambio iónico para retener el Al monomérico inorgánico y separarlo del Al monomérico orgánico, después cada uno reacciona con violeta de catecol para formar un complejo que será determinado por colorimetría. De forma similar, Quintela *et al* (1993) emplean una resina de intercambio iónico para enlazar los complejos inorgánicos de aluminio (hidróxidos, sulfatos, fluoruros) y separarlos de los complejos monoméricos orgánicos, posteriormente reaccionan con violeta de pirocatecol para determinarse por UV-Vis (Ultraviolet-Visible). Además, determinan aluminio total y aluminio monomérico total por la formación de complejos con violeta de pirocatecol a diferentes condiciones de pH.

Campbell *et al* (1983) separaron física y químicamente las especies de aluminio. La separación física implicó la filtración de las especies solubles de las "no solubles" (aluminio en partícula). La separación química se efectuó por intercambio iónico con diversas muestras en condiciones diferentes para diferenciar las especies intercambiables de las "no intercambiables". Posterior a la separación cada muestra se analizó por AAS (Atomic Absorption Spectrometry). No todas las especies se determinaron directamente, sino que dos se cuantificaron por diferencia de las mediciones realizadas.

Jones y Paull (1992) mediante intercambio iónico separaron las especies de aluminio cargadas positivamente (hidróxidos y fluoruros) de las especies orgánicas de aluminio. El aluminio orgánico no retenido se determinó por fluorescencia después de reaccionar con un reactivo específico. Las especies positivas intercambiadas después de eluidas se determinaron igual que el aluminio orgánico. Similarmente, Bertsch *et al* (1989) intercambiaron los complejos inorgánicos de aluminio cargados positivamente utilizando una resina de cromatografía iónica. Después de un proceso de elución las especies reaccionaron con un agente específico para formar un complejo y determinarlo por UV-Vis.

Por último, los autores Sutheimer y Cabaniss (1995) emplean cromatografía líquida de alta resolución para separar las especies de aluminio de acuerdo a su densidad de carga. El Al^{3+} y especies positivas de complejos orgánicos de aluminio (citratos, acetatos, silicatos) reaccionaron con "lumogalion" para detectar la fluorescencia de los complejos formados.

2.1.2 Metodologías analíticas

a) Aplicación en muestras sintéticas

Bertsch *et al* (1989) consideraron importante especiar aluminio en un sistema acuoso por el incremento del elemento en los sistemas acuáticos y la toxicidad que representa hacia los organismos en estos sistemas. La determinación de los complejos hidroxialuminio mononucleares y polinucleares se realizó utilizando Ion Chromatography (IC).

Las soluciones acuosas de prueba contenían 6.2×10^{-2} M de Al. Todas las soluciones se prepararon 48 horas antes de usarse sin especificar la forma de conservarlas. La *figura 2.1.2.1* muestra el procedimiento analítico para determinar los complejos inorgánicos de hidroxialuminio. En la columna se inyectó la muestra junto con el eluyente (NH_4Cl , 0.7 M) para separar los complejos catiónicos de Al. Después de ser eluidos de la columna, los iones hidroxialuminio a diferentes tiempos se mezclaron con Tiron (4,5 dihydroxi-m-benzenedisulfonic acid) para detectarse por espectroscopía UV/VIS (Ultraviolet Visible).

Mediante IC se logró determinar las especies mononucleares de aluminio, considerándose $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$, $\text{Al}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_5^{2+}$ y $\text{Al}(\text{OH})_2(\text{H}_2\text{O})_4^+$. Las especies polinucleares de Al [$\text{Al}_{13}\text{O}_4(\text{OH})_{24}\text{H}_2\text{O}_{12}^{7+}$, $\text{Al}_2(\text{OH})_2(\text{H}_2\text{O})_8^{4+}$] se detectaron en ^{27}Al NMR

(Nuclear Magnetic Resonance) y sólo aquí se observaron. El límite de detección fue de 0.01 mg/L.

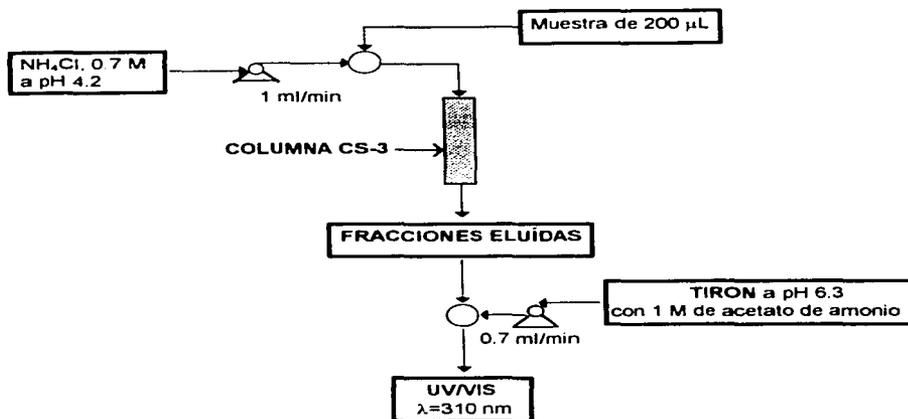


Figura 2.1.2.1. Determinación de complejos inorgánicos de hidroxialuminio por cromatografía iónica.

Campbell *et al* (1983) realizaron un estudio con el propósito de desarrollar y validar una metodología analítica apropiada para determinar las especies de aluminio en aguas naturales que sufren depositación ácida. La metodología analítica se estudió en soluciones sintéticas y luego se evaluó en una muestra de agua natural.

Las soluciones sintéticas contenían de 20 a 80 µg de Al por litro. Las muestras de agua natural se colectaron del Lago Tantaré (Québec) en recipientes de polietileno (o policarbonato) previamente lavados con HNO₃ al 10% por 24 horas y enjuagados con agua desionizada. El esquema analítico separó el Al no soluble (aluminio en partícula)

del soluble, de este último se determinaron las especies solubles inorgánicas y orgánicas de Al (figura 2.1.2.2).

El Al filtrable intercambiable (E) y el Al filtrable orgánico no-intercambiable (F) se determinaron por diferencia ($E = B - C$, $F = C - D$). Las concentraciones de todas las muestras se analizaron por AAS (Atomic Absorption Spectrophotometry). En soluciones sintéticas se determinó que las especies filtrables intercambiables (E) en pH 3.3 a 5.0 consistieron de complejos monoméricos de hidroxialuminio [Al^{3+} , $AlOH^{2+}$ y $Al(OH)^+_2$] y polinucleares. Las especies filtrables no intercambiables (F) se supuso consistieron de especies de Al coloidales.

En las muestras naturales y sintéticas se determinaron las especies filtrables intercambiables como complejos monoméricos de hidroxialuminio y polinucleares. Las especies filtrables no intercambiables orgánicas (F) se asignaron al Al asociado con ácidos fúlvico y húmico de origen natural.

En las sintéticas la retención de las especies intercambiables de las no intercambiables en la resina fue >85%. En las muestras de agua de lago se observó que el intercambio de aluminio en la resina descendió en comparación con las muestras sintéticas, obteniéndose aproximadamente un 45% de retención de las especies intercambiables.

Se estudiaron las interferencias de ciertos ligandos naturales sobre el intercambio del Al en la resina en soluciones sintéticas. El ion fluoruro presente en el agua natural se considera un ligando inorgánico potencial que puede afectar la especiación de Al. Los resultados mostraron que a los niveles de concentración del ion fluoruro estudiados (0, 50 y 100 $\mu\text{g/L}$) no hay efecto en el intercambio de Al en la resina. El límite de detección fue de aproximadamente 1 μg de Al/L.

Se concluyó que por medio del uso de la resina Chelex 100 es posible diferenciar entre las formas intercambiables de Al y aquellas formas no-intercambiables asociadas con ácidos fúlvico y húmico.

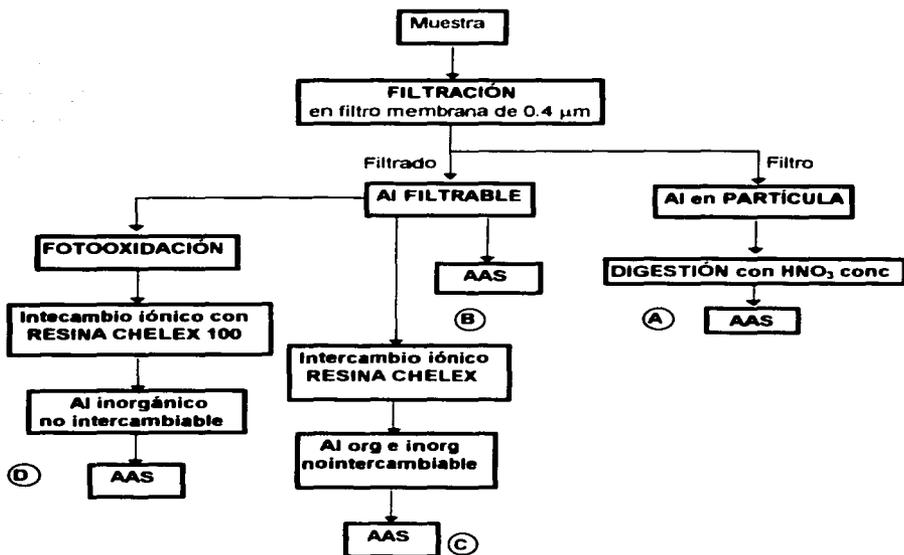


Figura 2.1.2.2. Determinación de especies de aluminio por separación física y química.

b) Aplicación en muestras de agua natural

La depositación ácida en lagos del noreste de los Estados Unidos ha llamado la atención de varios investigadores. Sutheimer y Cabaniss (1995) propusieron una metodología para determinar el ion Al^{3+} y complejos orgánicos iónicos de Al en muestras de agua de lago. Emplearon HPLC (High Performance Liquid Chromatography) con detección por fluorescencia del complejo aluminio-lumogation

para separar y determinar las especies iónicas.

Las muestras del lago Adirondack (New York) se hicieron pasar a través de un filtro de $0.45\ \mu\text{m}$ y se conservaron bajo refrigeración. El análisis de la muestras se realizó dentro de los cuatro días de la colección. La determinación de Al^{3+} y los complejos iónicos de Al (fluoruro, citrato, silicato y acetato) se muestra en la *figura 2.1.2.3*.

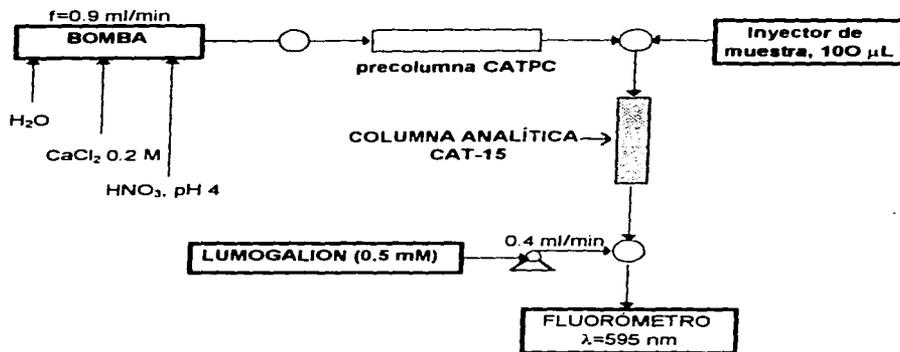


Figura 2.1.2.3. Determinación de Al^{3+} y complejos orgánicos iónicos de aluminio.

Para este experimento, el eluyente se sometió a limpieza con la precolumna CATPC para eliminar las trazas de aluminio y posteriormente se mezcló con la muestra. El eluyente (constituído por $\text{H}_2\text{O} + \text{CaCl}_2 + \text{HNO}_3$) junto con la muestra se introdujo a la columna analítica CAT-15 para que las especies fueran separadas de acuerdo a su densidad de carga. Las especies eluidas a diferentes tiempos se mezclaron con lumogalion para formar el complejo correspondiente y detectarlo por fluorescencia.

En la separación de las especies de Al por HPLC la columna resultó ser un excelente medio para la separación de las especies cargadas. El cromatograma de las muestras

del lago Adirondack, para las diferentes especies del complejo, ya sea citrato, acetato, fluoruro o silicato, muestra principalmente tres picos: el primero a 3.6 min correspondiente a especies con carga igual o menor a 1+ asignado al Al enlazado orgánicamente, el pico de 7.4 min correspondió a especies con carga 2+, y finalmente el pico de 11.6 min representó el Alf, que es el Al^{3+} y sus productos de hidrólisis [Al^{3+} , $Al(OH)^{2+}$, $Al(OH)_2^+$, $Al(OH)_3$, $Al(OH)_4^-$].

El pico predominante de la muestra de agua fue el correspondiente al Alf, indicando que se encuentran cantidades considerables de aluminio monomérico (65-76%) en el lago. El límite de detección fue de 7 nM (nanomolar) y la desviación estándar relativa fue de 3% en 2µM. El sistema de HPLC propuesto fue selectivo para aluminio y no informó algún tipo de interferencia, sin embargo, se indicó que el galio puede ser detectado si está presente en la muestra de agua natural.

La especiación de aluminio inorgánico y orgánico en muestras de agua natural se realizó por LaZerte *et al.*, 1988. El sistema para determinar las dos formas de Al consistió de una columna de intercambio iónico y la reacción con el violeta de catecol para detectarse por colorimetría. Las aguas en estudio sufrieron acidificación por depositación ácida y se obtuvieron de agua natural superficial en Muskoka-Haliburton, Ontario. Se almacenaron en recipientes de poliestireno a 4 °C y se analizaron entre los tres días a partir de la colección. En la *figura 2.1.2.4* se presenta el diagrama analítico para determinar las especies de aluminio.

Las especies fueron separadas utilizando la columna de intercambio iónico que contenía Amberlite IR-120. En la resina se retuvo el Al monomérico inorgánico cargado positivamente y el Al monomérico orgánico pasó sin retención. Después de eluir, el Al monomérico orgánico reaccionó con el violeta de pirocatecol para detectarse por colorimetría. La determinación del Al total y el Al monomérico orgánico permitió cuantificar por diferencia el Al monomérico inorgánico.

La determinación del Al monomérico inorgánico fue satisfactoria. El intervalo de

aluminio inorgánico en las muestras fue aproximadamente de 0 a 500 μL . Los autores mencionan que el procedimiento puede ser aplicado a estudios de lixiviación de suelo debido a la pequeña cantidad de muestra que se requiere (10 ml).

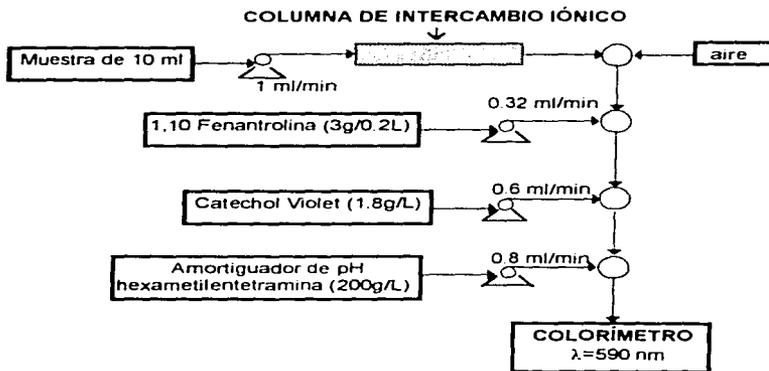


Figura 2.1.2.4. Diagrama analítico para determinar Al inorgánico y orgánico por intercambio iónico.

Quintela *et al* (1993) citaron que en anteriores investigaciones han demostrado que en solución ácida, las especies iónicas de hidroxialuminio son más tóxicas para los peces que los complejos orgánicos de aluminio. Por lo anterior, propusieron una metodología analítica para determinar las especies de aluminio en cuerpos de agua. La metodología se basó en intercambio iónico-quelatación con VPC (violeta de pirocatecol) y detección por UV-VIS (Ultraviolet-Visible Spectrophotometry).

Las muestras de agua de grifo y río se colectaron en recipientes de polietileno y se guardaron a temperatura ambiente en la obscuridad. Los recipientes de polietileno se descontaminaron con HNO_3 al 10% por 48 horas y se enjuagaron con agua ultrapura. El diagrama para determinar las especies de Al se muestra en la *figura 2.1.2.5*.

Mediante el diagrama se determinaron el aluminio total reactivo (Alr), el aluminio total monomérico (Ala) y el aluminio monomérico no-lábil (Alo).

El (Alr) se determinó con 10 ml de muestra y acidificando a pH 1 con 150 μ L de HCl. El (Ala) se determinó acidificando 10 ml de muestra a pH 3.5 y analizando inmediatamente. El (Alo) se determinó con 10 ml de muestra a pH 3.5 obtenida de la columna de intercambio iónico. Las muestras por separado se inyectaron al sistema para formar el complejo y detectarlo por UV-VIS. El aluminio monomérico lábil (Al'o) y aluminio soluble ácido (Ali) se cuantificaron por diferencia entre Ala - Alo y Alr - Ala, respectivamente.

En todas las muestras de agua estudiadas se detectó el (Alr), (Ala), (Alo) y (Al'o). El (Alo) representó a los complejos monoméricos orgánicos de aluminio y (Al'o) representó a los complejos con sulfato, fluoruro e hidróxidos de aluminio. No se detectó en las muestras de agua (Ali). El límite de detección fue de 5 μ g/L.

Se estudió el potencial de interferencia debido al ion Fe^{2+} en la especiación de Al al sustituir la solución del reactivo enmascarante de hierro por agua destilada. El Fe^{2+} interfirió cuando su concentración fue de 5.5 μ g/ml. El reactivo enmascarante también previno las interferencias de Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} y Co^{2+} cuando las concentraciones de estos fueron de 15 μ g/ml.

Debido a las recientes investigaciones que han surgido en relación a los niveles de Al en agua y la enfermedad Alzheimers, autores como Jones y Paull (1992) se interesaron en la especiación de aluminio. Por esta razón, llevaron a cabo un estudio de especiación de Al en agua potable utilizando IC (Ion Chromatography) para separar las especies y analizarlas por fluorescencia.

Las muestras de agua potable se obtuvieron de Dartmoor, Torquay y Exeter, localidades que se sitúan en el sudoeste de Inglaterra. Se realizó la especiación de Al inyectando la muestra en una fase móvil de sulfato de potasio ajustada a pH 3 dentro

de la columna. En la columna cromatográfica las especies fueron separadas utilizando una resina de intercambio catiónico y posterior a una reacción que se realizó al final de columna se detectaron por fluorescencia.

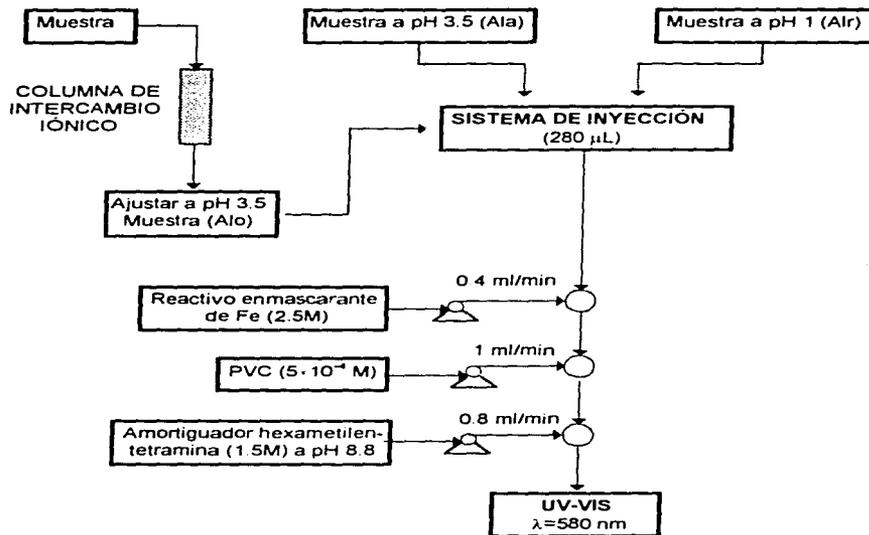


Figura 2.1.2.5. Diagrama para determinar Alr, Ala y Alo en agua de grifo y río.

Se observaron tres especies de Al monomérico disuelto dependiendo del pH y composición del agua. En el agua no tratada de Dartmoor se detectó el Al orgánico y $Al(OH)_x^{(3-x)}$. En el agua tratada de Torquay se detectaron AlF^{2+} , AlF_2^+ y $Al(OH)_x^{(3-x)}$, mientras que en el agua de Exeter se detectó $Al(OH)_x^{(3-x)}$ y AlF^{2+} . La concentración más pequeña que se determinó fue de 5 µg/L.

2.1.3 Análisis de las metodologías analíticas de Al

Las metodologías analíticas estudiadas permiten la determinación de Al^{3+} , complejos inorgánicos de hidroxialuminio, complejos orgánicos de aluminio (fluoruros, citratos, acetatos) y aluminio total.

La mayoría de los autores indican el procedimiento para la conservación de muestras de agua natural. LaZerte *et al* (1988) y Sutheimer y Cabaniss (1995) conservaron muestras de agua superficial y lago, respectivamente, colocándolas en refrigeración y analizándolas en los tres primeros días a partir de la colección. Quintela *et al* (1993) conservaron muestras de agua de grifo y río a temperatura ambiente y en la obscuridad; así también mencionaron que los recipientes de polietileno utilizados se trataron con HNO_3 diluido y agua ultrapura.

La metodología para separar las especies de aluminio generalmente implicó un proceso cromatográfico de elución (HPLC, IC) e intercambio iónico. La determinación se efectuó por medio de la absorbancia en UV-Vis, fluorescencia emitida o colorimetría de los complejos formados por las especies. Para las técnicas analíticas anteriores se informaron principalmente los límites de detección en $\mu g/L$.

Las interferencias en la especiación de aluminio se mencionan en los estudios realizados por Quintela *et al* (1993) y Sutheimer y Cabaniss (1995). Los primeros autores mencionaron interferencias por Fe en la formación del complejo con violeta de pirocatecol, ésta interferencia se eliminó con una solución enmascarante y previno además la interferencia de Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} y Co^{2+} . Sutheimer y Cabaniss (1995) observaron que el galio puede detectarse utilizando el método citado.

2.2 Espectación de arsénico

El arsénico es un elemento que se encuentra distribuido en toda la corteza terrestre en niveles de concentración promedio de 2 a 5 ppm, bajo la forma de mineral y principalmente como impureza de otros minerales (Galvao *et al.*, 1987). Los principales minerales que contienen arsénico son: arsenopirita (FeAsS), sulfarsenido de níquel (NiAsS), sulfarsenido de cobalto (CoAsS), tenantita ($\text{Cu}_{12}\text{As}_4\text{S}_{13}$), luzonita (Cu_3AsS_4) y arsénico nativo (Bodek *et al.*, 1988).

En el ambiente el metaloide se encuentra en aire, suelo y agua. El nivel de As en el suelo es cerca de 7 mg/kg, pero puede incrementarse a 1000 mg/kg en los alrededores de fundidoras de metales o en suelos agrícolas donde se utilizan pesticidas y herbicidas. En aire, el arsénico se encuentra principalmente en forma de trióxido de arsénico en niveles de 1 a 10 ng/m³ en áreas rurales y de 20 ng/m³ en áreas urbanas. El contenido de As en agua superficial es normalmente de 0.15 a 0.45 µg/L (Merian, 1991). La abundancia de As en aguas marinas es aproximadamente de 1.75×10^{-3} ppm en el Océano Pacífico, y de 1.53×10^{-3} en el Océano Atlántico (Emsley, 1991).

El arsénico es un metaloide que pertenece a la familia 15 de la tabla periódica y puede presentar los estados de oxidación -3, 0, +3, +5. El As forma enlaces covalentes con C, H, O, F, Cl, S y As (Emsley, 1991). El arsénico tri y pentavalente en sistemas acuosos exhibe comportamiento aniónico y dependiendo de las condiciones redox y pH presenta diferentes especies en solución (*figura A1-2, anexo 1*) (Bodek *et al.*, 1988).

El As en el ambiente forma compuestos orgánicos (carbono, hidrógeno) e inorgánicos (oxígeno, cloruro y sulfuro) con estado de oxidación trivalente y pentavalente. Los compuestos inorgánicos más comunes de As (III) son trióxido de arsénico (As_2O_3), arsenito de sodio (Na_3AsO_3) y tricloruro de arsénico (AsCl_3). Los compuestos inorgánicos de As (V) son pentóxido de arsénico (As_2O_5), ácido arsénico (H_3AsO_4) y arsenatos de plomo [$\text{Pb}_3(\text{AsO}_4)_2$] y calcio [$\text{Ca}_3(\text{AsO}_4)_2$]. Comúnmente los compuestos de

As orgánico son los ácidos metilarsénico [$\text{CH}_3\text{AsO}(\text{OH})_2$], dimetilarsénico [$(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$] y arsenobetaina [$(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{CO}_2^-$] (Friberg *et al.*, 1990).

Las fuentes de arsénico en el ambiente son de origen natural y antropogénico. Las fuentes naturales de **As** son la brisa marina, incendios forestales, actividad volcánica, volatilización a baja temperatura de compuestos de arsénico metilados (metilación biológica), y dentro de las cuales las dos últimas son las más importantes (Hutchinson *et al.*, 1987). El arsénico que se encuentra en la naturaleza es en gran parte pentavalente, el cual es relativamente poco tóxico (Galvao *et al.*, 1987).

La principal fuente antropogénica es la industria química que genera grandes cantidades de arsénico, y las más importantes se encuentran en la manufactura y aplicación de pesticidas, fundición de plomo y cobre, combustión de carbón, las cuales introducen grandes cantidades de éste metal al ambiente (Hutchinson *et al.*, 1987). El arsénico de origen industrial se da preferentemente bajo la forma trivalente, forma que es considerada más tóxica para los seres vivos (Galvao *et al.*, 1987).

Los principales usos del arsénico en la industria son en pesticidas, herbicidas, desecante de algodón y conservación de madera. En medicina un compuesto inorgánico de **As** conocido como solución de Fowler fue usado en 1963 para el tratamiento de leucemia psoriasis y asma crónica bronquial (Friberg *et al.*, 1990).

El arsénico se introduce al cuerpo humano principalmente por la boca al ingerir comida o agua, absorbiéndose rápidamente por el estómago y los intestinos para entrar al torrente sanguíneo. El arsénico también se introduce al inhalar o respirar, pero no se considera muy importante (As ATSDR, 1989). La Norma Oficial Mexicana (NOM)-127-SSA1-1994 establece que el límite permisible de **As** es 0.05 mg/L para agua de consumo humano, valor que está acorde con lo establecido por los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua CE-CCA-001/89.

La toxicidad del arsénico varía de acuerdo a su estado de oxidación en la especie

química. El grado de toxicidad es inversamente proporcional a la velocidad de excreción del cuerpo, el patrón general de toxicidad es: $\text{AsH}_3 > \text{As(III)} > \text{As(V)} > \text{R-As-X}$ (R=alquil, aril; X=halógeno) (Puttemans y Massart, 1982). Los efectos tóxicos del arsénico en el organismo humano residen en la reactividad con los grupos -SH (sulfhidrilo) de las enzimas. Bioquímicamente, el As actúa como coagulante de proteínas, forma complejos con coenzimas e inhibe la producción de adenosin trifosfato (ATP) en procesos metabólicos (Manahan *et al.*, 1991).

Los estudios sobre especiación de arsénico han cobrado importancia en los últimos años debido al impacto ambiental que ha originado. En general, la determinación de las especies de arsénico está vinculada con estudios de riesgo ambiental, toxicología y contaminación de suelo y agua.

2.2.1 Principios y métodos

Las metodologías de especiación de arsénico que se describen a continuación se aplicaron a muestras acuosas sintéticas y naturales. Debido a la importancia toxicológica del arsénico, en la parte final se citan estudios de especiación del elemento en muestras de organismos marinos y sedimento.

En las metodologías analíticas aplicadas a muestras sintéticas citan diferentes medios para separar y determinar las especies. Los métodos de separación contemplan extracción con fase orgánica, reducción selectiva a diferente pH, procesos de adsorción en fase sólida y volatilización selectiva de arsinas por diversidad en los puntos de ebullición. Las determinaciones en su mayoría se realizaron por AAS (Atomic Absorption Spectrometry).

Puttemans y Massart (1982) cuantificaron As (III) y As total en una muestra sintética. **Extrajeron el As (III)** con un agente quelatante disuelto en fase orgánica, y posterior a

una re-extracción acuosa se determinó por ETAAS (Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry). El As total se determinó por ETAAS después de reducir el As (V) a As (III) con una mezcla de bisulfito/tiosulfato de sodio. López *et al* (1992) cuantificaron As (III) y As total por reducción con NaBH₄ en HCl 6M y ácido cítrico/citrato a pH 4.5, respectivamente. Las determinaciones se realizaron por AAS y MAS (Molecular Visible Spectrometry). Nyamah y Torgbor (1986) determinaron As (V) y As total mediante un método colorimétrico. El As (V) se puso a reaccionar con yoduro para liberar una cantidad equivalente de yodo, que al extraerlo en CCl₄ impartió un color rosa al disolvente permitiendo medir la absorbancia. El As total se determinó igual que As (V) después de oxidar el As (III) con peróxido de hidrógeno en medio alcalino.

La especiación de As (V) y As (III) mediante un proceso de adsorción en un algodón impregnado con ácido tioglicólico se realizó por Yu *et al*, 1983. El algodón funcionó como fase estacionaria para separar las especies, el As (III) después de ser retenido se desorbió con HCl y se determinó por HG-AAS (Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry). El As (V) no retenido se analizó igual que As (III) después de haber sido reducido con KI en medio ácido.

Le *et al* (1994) especiaron arsénico inorgánico (V) y orgánico (V) utilizando una serie de pasos analíticos que comprendieron: formación de compuestos organosulfuro con cisteína, generación de arsinas de los compuestos, congelamiento criogénico, volatilización selectiva de las arsinas y por último, separación y detección en GC-AAS (Gas Chromatography-Atomic Absorption Spectrometry). Howard y Arbab-Zavar (1981) especiaron arsénico inorgánico (As³⁺ y As⁵⁺) y orgánico (ácidos metilarsénico y dimetilarsénico) generando las arsinas de cada especie a diferente pH, y después de los procedimientos de congelamiento criogénico y volatilización selectiva se detectaron por AAS. Braman *et al* (1977) especiaron As (III) y As (V) inorgánico por generación de arsinas a pH diferente, y analizaron las concentraciones por AES (Atomic Emission Spectrometry).

En muestras de agua natural se especió el arsénico inorgánico junto con orgánico por

medios de separación y detección semejantes a los aplicados en muestras sintéticas. Hasegawa *et al* (1994) cuantificaron **As** inorgánico (III) y orgánico (III) por extracción de los complejos de dietilditiocarbamato en CCl_4 , y después de ser re-extraídos en una fase acuosa se determinaron por HG-AAS. El **As** total que comprendió orgánico e inorgánico en ambos estados de oxidación se determinó directamente por HG-AAS. Van Elteren *et al* (1994) especieron arsénico inorgánico y orgánico mediante diferentes métodos. El **As** (III) y **As** (V) inorgánicos se determinaron por precipitación selectiva en medio ácido con reactivos específicos, y después de disolver los precipitados la solución obtenida se analizó por AAS. El **As** orgánico se determinó por generación de arsinas, congelamiento criogénico y volatilización selectiva para analizarse por AAS.

Buldini *et al* (1980) determinaron **As** (III) inorgánico, **As** total inorgánico y **As** total por DPP (Differential Pulse Polarographic) utilizando en cada caso diferentes condiciones de pH y oxido-reducción. Aurillo *et al* (1994) especieron **As** inorgánico y orgánico por generación de las arsinas a diferente pH, congelamiento criogénico, separación utilizando una columna cromatográfica y determinación por AAS. Chen *et al* (1994) emplearon una columna cromatográfica para separar las especies orgánicas e inorgánicas de arsénico. Se obtuvieron a diferentes tiempos cuatro efluentes que se analizaron por HG-AAS. Además, se analizó el arsénico no soluble (partícula) en la muestra por NAA (Neutron Activation Analysis).

2.2.2 Metodologías analíticas

a) Aplicación en muestras sintéticas

Puttemans y Massart (1982) realizaron la especiación de arsénico inorgánico tri y pentavalente en una muestra acuosa, con el objetivo de aplicar la metodología desarrollada a una muestra de agua mineral envasada. La determinación de **As**(III) se

realizó por extracción con un agente quelatante en fase orgánica, y después de una re-extracción en fase acuosa se analizó por ETAAS (Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry). El As total se determinó reduciendo el As (V) para analizarse como As (III). El As (V) se cuantificó por la diferencia del As total y As (III).

Las soluciones estándares de arsénico tri y pentavalente contenían 10, 20 o 30 ng/ml de cada una de las especies. Todo el material de vidrio se lavó con ácido nítrico diluido antes de usarse. El procedimiento analítico se representa en la *figura 2.2.2.1*.

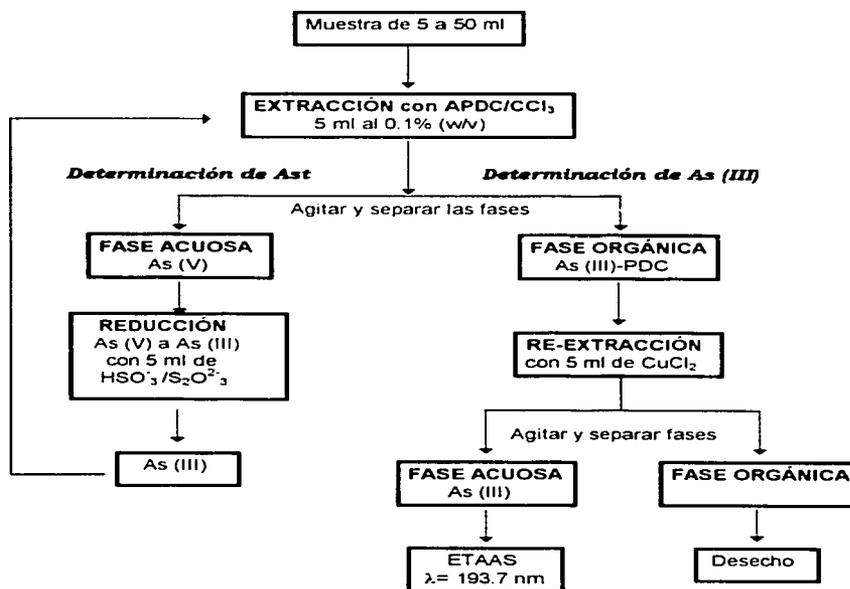


Figura 2.2.2.1. Esquema analítico para determinar As total y As (III) con el sistema de extracción APDC.

Se realizó la extracción de As (III) con APDC (ammonium pyrrolidinedithiocarbamate)/CCl₃ o HDEDTP (o,o-diethyldithiophosphate)/CCl₃. El As (III) en fase orgánica se re-extrajo con una solución de cloruro de cobre de 200 mg/L y 1000 mg/L para los sistemas de extracción APDC/CCl₃ y HDEDTP/CCl₃, respectivamente. El As total se determinó al reducir As (V) a As (III) con una solución de HSO₃⁻/S₂O₃²⁻ (bisulfito/tiosulfato). Se utilizó ETAAS para analizar todas las soluciones.

El As (III) extraído utilizando el sistema APDC fue de 93%. La cantidad determinada de As (III) a la concentración de 10, 20 y 30 ng/ml, fue de 9.3, 19.5 y 28.5 ng/ml, respectivamente. La metodología descrita se probó en muestras de agua mineral envasada. Los resultados fueron informados para el contenido de arsénico total, ya que As (III) no se detectó en las muestras. La cantidad de arsénico total en muestras de agua mineral fue de 41.1 a 47.5 ng/ml.

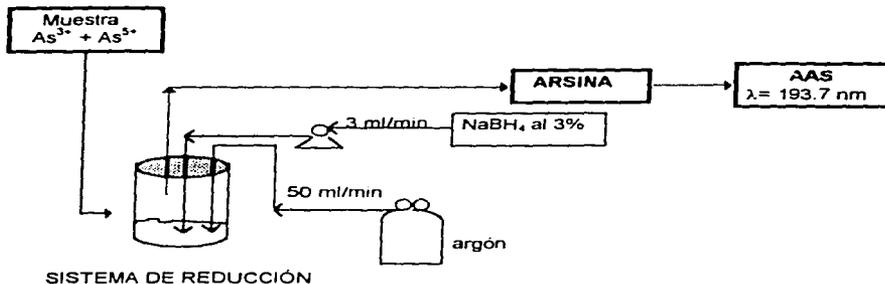
El desarrollo de metodologías analíticas para la especiación de arsénico inorgánico adquiere importancia debido a la toxicidad del metaloide. López *et al* (1992) describieron la determinación de As (III) y As total aplicando diferentes medios de reducción: ácido clorhídrico 6M y ácido cítrico/citrato a pH 4.5 para As total y As (III), respectivamente. Los análisis se realizaron por HG-AAS (Hydride Generation-Atomic Absorption Spectrophotometry) y MAS (Molecular Absorption Spectrophotometry).

Las muestras sintéticas contenían 10 µg de As (III) y As (V) en HCl 2M (MAS) y 50 ng de As (III) y As (V) en HCl 6M (AAS). Los procedimientos analíticos de la *figura 2.2.2.2* muestran las metodologías para determinar por dos métodos el As (III) y As total.

La muestra se ajustó a pH 4.5 con el amortiguador de ácido cítrico/citrato para determinar As (III) empleando AAS y MAS. En AAS la arsina generada se transportó por gas argón al sistema de lectura. En MAS la arsina generada se burbujeó en una solución de dietilditiocarbamato de plata (Ag-DDTC) para formar el complejo

polinuclear de dietilditiocarbamato para determinarse por el sistema. De igual forma, el **As** total se determinó por los dos sistemas, a diferencia que la muestra se encontraba en HCl 6M. La cantidad de As (V) se obtuvo por la diferencia de arsénico total (Ast) y As (III).

Esquema para determinar As (III) y As total por AAS



Esquema para determinar As (III) y As total por MAS

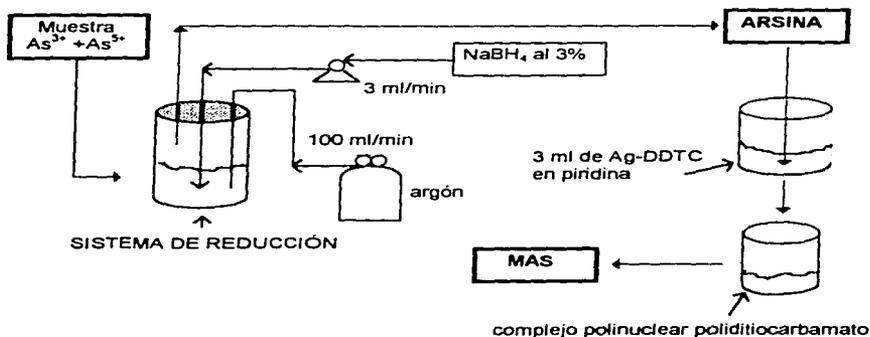


Figura 2.2.2.2. Determinación de As (III) y As total por AAS y MAS.

Los resultados indicaron que el As total se determinó cuantitativamente en HCl 6M independientemente del estado de oxidación. Las condiciones de reducción para determinar exclusivamente el As (III) fueron las más adecuadas y permitieron determinarlo cuantitativamente. Se citó que las anteriores determinaciones fueron posibles siempre y cuando la presencia de As metilado (ác. monometilarsénico y ácido dimetilarsénico) no represente más del 40% de As total. Los procedimientos optimizados se aplicaron a muestras de agua de grifo y residual, obteniéndose resultados satisfactorios. Los límites de detección de As^{3+} fueron de 0.5 ppb y de 0.2 ppm para AAS y MAS, respectivamente.

Le *et al* (1994) estudiaron la especiación de As inorgánico y orgánico en muestras sintéticas. El incremento del arsénico en el ambiente y las propiedades tóxicas de sus especies fue la justificación del estudio. La especiación se realizó por generación de hidruros de los compuestos con cisteína y determinación en GC-AAS (Gas Chromatography-Atomic Absorption Spectrometry).

Las soluciones sintéticas contenían 20 ng/ml de As (V) inorgánico, ácido metilarsénico (V) y ácido dimetilarsénico (V). No se menciona la forma de almacenamiento y conservación. El procedimiento analítico se muestra en la *figura 2.2.2.3*. La generación de arsinas se realizó mezclando la muestra con $NaBH_4$ (0.65M), HCl (0.7M) y en presencia de cisteína al 2%. Las arsinas de cada especie pasaron a través de un baño de hielo seco-acetona para eliminar la humedad, de aquí fueron atrapadas en una trampa criogénica de N_2 líquido. Después de remover el N_2 líquido, la trampa se calentó a 70 °C con un baño de agua para desprender las arsinas, que se transportaron con He gas hacia GC para separarlas y determinarlas por AAS.

La presencia de cisteína al 2% permitió que se obtuviera la misma respuesta de las especies para generar el hidruro correspondiente, ya que la formación de cada hidruro es dependiente del pH por los valores individuales de pka para cada ácido de arsénico. La especiación por generación de hidruros de As en presencia de cisteína permitió determinar cuantitativamente la especie inorgánica (As^{5+}) y orgánicas.

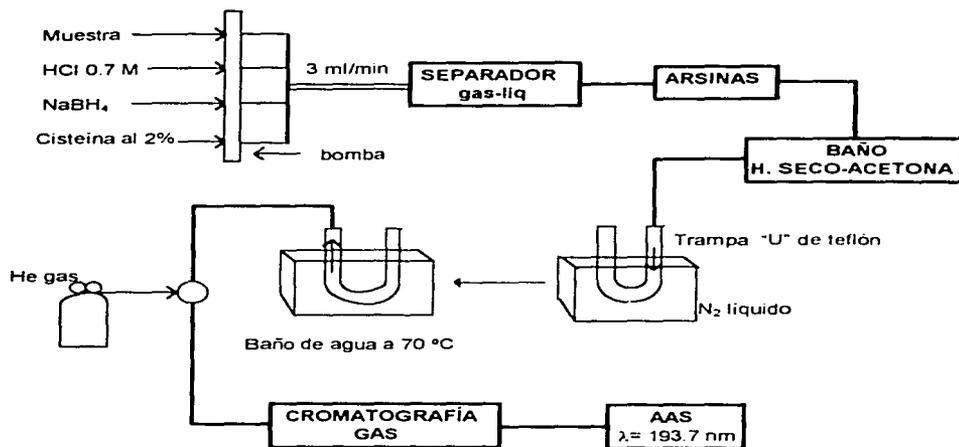


Figura 2.2.2.3. Especiación de arsénico inorgánico y orgánico pentavalente en presencia de cisteína.

Howard y Arbab-Zavar (1981) desarrollaron una metodología analítica para especiar arsénico por su importancia ambiental y toxicológica. La especiación de **As** inorgánico (+3,+5) y orgánico (**AMA** y **ADA**) se basó en la generación de arsinas, condensación, volatilización y detección en AAS (Atomic Absorption Spectrometry).

Las soluciones sintéticas contenían 10 ng/L de **As** (III), **As** (V), **ADA** (ácido dimetilarsénico) y **AMA** (ácido metilarsénico). Las anteriores soluciones se prepararon el día de la experimentación y el material de vidrio se lavó con HNO_3 (1+10) y enjuagó con agua destilada. La determinación de As^{3+} junto con **ADA** y **AMA** a pH 5 se realizó mediante el diagrama analítico de la *figura 2.2.2.4*. La determinación del **As** total inorgánico se realizó con HCl 1 M empleando el mismo sistema. La diferencia entre los valores obtenidos del As^{T} y As^{3+} inorgánico permitió cuantificar el As^{5+} inorgánico.

El procedimiento se inició generando las arsinas con NaBH_4 (borohidruro de sodio) en HCl (1 M o pH 5). Las arsinas generadas se acarrearon con N_2 gas hacia el separador gas-líquido, trampa de acetato de plomo y trampa desecante. Las arsinas libres de interferencias y humedad, se condensaron en una trampa criogénica de N_2 líquido. Las arsinas se volatilizaron a diferentes temperaturas por calentamiento de la trampa y se determinaron por AAS.

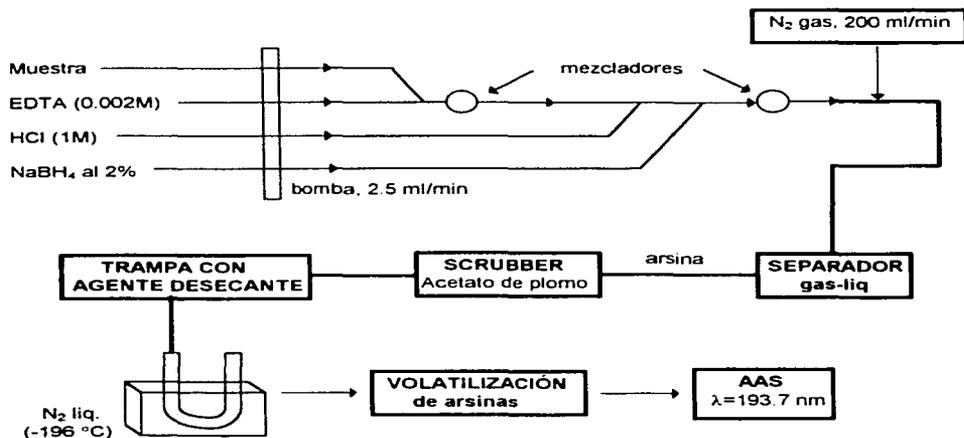


Figura 2.2.2.4. Diagrama Analítico para especiación arsénico inorgánico y orgánico según Howard y Arbab-Zavar, 1981.

La adición de EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) a la muestra antes de generar las arsinas permitió enmascarar los iones metálicos interferentes. Los gráficos de calibración fueron lineales para las cuatro especies en un intervalo de 0 a 50 ng de As. El límite de detección de la técnica fue aproximadamente 0.25 ng como As para As (III), As (V), metilarsénico y dimetilarsénico.

La influencia de iones foráneos en el análisis fue evaluada por la omisión de EDTA a la muestra, para tal propósito se adicionaron 5 ml de ion interferente en distintas concentraciones con 20 ng como As de cada especie. Se observó interferencia por la presencia de Ag^{1+} , Au^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ge^{4+} , Mo^{6+} , Sb^{3+} , Sb^{5+} , Sn^{2+} , Mn^{2+} y nitrito en concentraciones de 1 a 10 $\mu\text{g/ml}$.

Braman *et al* (1977) consideran importante desarrollar una metodología analítica que permita especiar el arsénico en muestras naturales, ya que han observado un incremento en la depositación del metal en suelo y agua debido al uso de pesticidas. Los autores realizaron un estudio para determinar arsénico inorgánico y orgánico por generación de hidruros y AES (Atomic Emission Spectrometry).

Se realizó la determinación de As inorgánico (+3, +5) y orgánico (AMA y ADA) en soluciones sintéticas que contenían al máximo 100 ng como As de cada especie. Las diferentes condiciones de pH en la muestra y siguiendo el esquema analítico de la *figura 2.2.2.5* permitió diferenciar las especies de As.

El análisis de As (III), As (V) y alquilarsénico (ADA y AMA) se realizó de la siguiente manera: a una muestra se le ajustó el pH a 3.5-4.0 agregando biftalato de potasio para determinar el As (III), después de ser analizada se le agregó ácido oxálico en agua para amortiguar el pH a 1.0-1.5 y poder analizar el As (V). La muestra para analizar alquilarsénico se trató de forma similar que para As (V), a diferencia de la adición de NaBH_4 , que se realizó a intervalos de tiempo. Las arsinas generadas se transportaron con He gas hacia la trampa criogénica para condensarlas. El calentamiento de la trampa permitió desprender las arsinas y conducir las a una celda de descarga eléctrica para obtener una lectura en AES.

Los resultados informaron un límite de detección aproximado de 1 μg para la arsina formada de cada especie. Se probaron un número de iones metálicos como interferencia en el método analítico; se observó que los iones Ag^{1+} y Cu^{2+} a 200 ppm inhibieron parcialmente la evolución de la arsina. Las interferencias de plata y cobre se

removieron al pasar la muestra a través de una columna de intercambio catiónico en la forma de NH_4^+ (ion amonio). El procedimiento analítico fue utilizado para el análisis de una variedad de muestras, tales como: lagos, ríos, agua de mar y materiales biológicos.

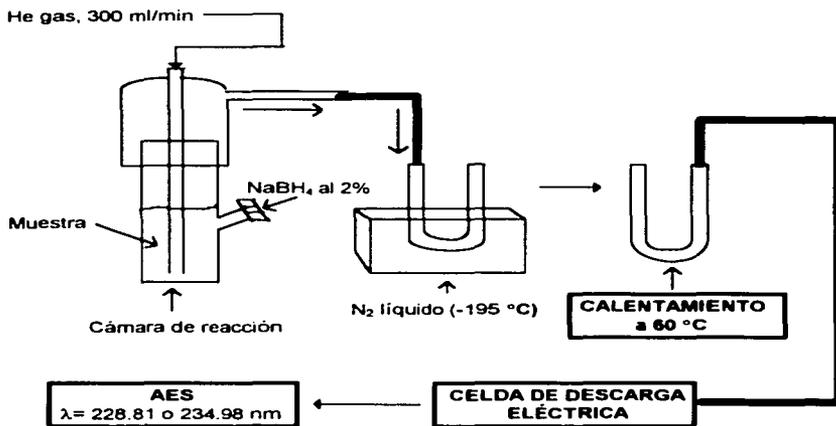


Figura 2.2.2.5. Esquema general de especiación de arsénico inorgánico y orgánico por Braman et al, 1977.

Un nuevo método para determinar As (III) a nivel de traza basándose en el enriquecimiento y separación en un algodón impregnado con ácido tioglicólico, y la determinación por HG-AAS (Hydride Generation-Absorption Atomic Spectrophotometry) se citó por Yu *et al*, 1983.

El método analítico se estudió en muestras de agua sintética y posteriormente se realizó una evaluación previa en agua de río natural y contaminada. La concentración de As trivalente y pentavalente en la solución sintética fue de 10 ng/ml. La forma de muestrear y conservar las muestras acuosas de río no se menciona. En la *figura*

2.2.2.6 se presenta un diagrama de flujo del método analítico. El paso de la muestra a través del algodón impregnado con ácido tioglicólico permitió separar el As (III) por adsorción, y dejar el As (V) en solución. El efluente obtenido en la desorción de As (III) con HCl 1 M se analizó por GH-AAS. El As (V) en solución se redujo en medio ácido con yoduro de potasio y tiourea para analizarse como As (III).

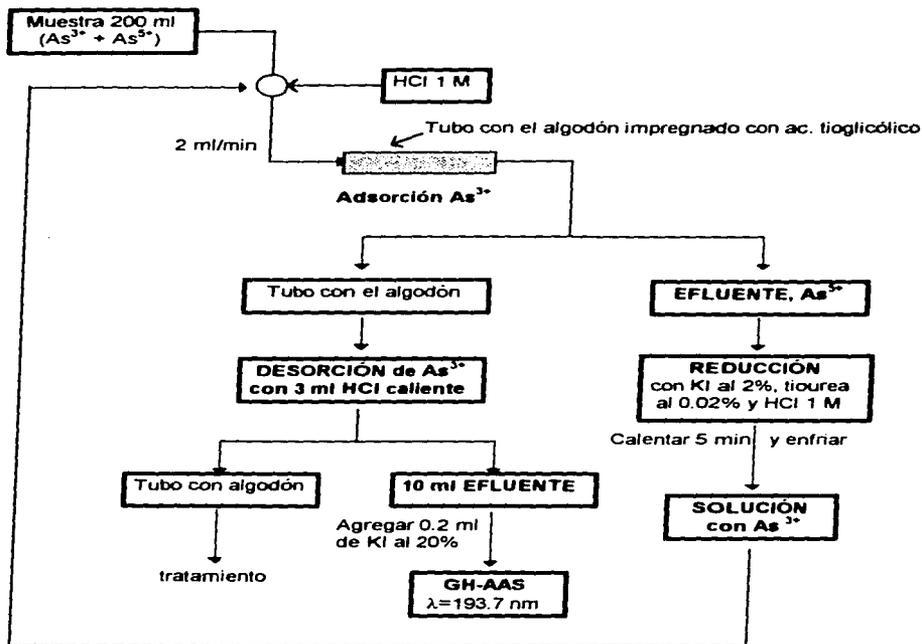


Figura 2.2.2.6. Especiación de As (III) y As (V) por adsorción en algodón impregnado con ácido tioglicólico.

Los procesos de adsorción y desorción de As (III) mostraron ser dependientes de la concentración de ácido clorhídrico. El límite de detección fue de 0.006 ng/ml. En la evaluación previa del método a muestras de agua natural (agua de manantial, de río contaminada y no contaminada) se obtuvieron resultados satisfactorios.

La interferencia de los iones Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Sn^{4+} , Bi^{3+} , Pb^{2+} y Ag^{1+} en el proceso de adsorción se eliminó al tratar el algodón con HCl 1 o 2 M. La metodología tiene extensa aplicación, ya que el estudio contempló la determinación de antimonio, selenio y telurio en varios estados de oxidación.

Nyamah y Torgbor (1986) estudiaron un método colorimétrico para determinar arsénico pentavalente y arsénico total en soluciones sintéticas. La metodología analítica se aplicó posteriormente a muestras de agua de lago, río y potable.

Las soluciones estándares comprendieron concentraciones de 0.1 a 5 y 0.5 a 10 mg/L de As (III) y As (V), respectivamente. Las muestras sintéticas y naturales se analizaron siguiendo el procedimiento analítico de la *figura 2.2.2.7*. El As (V) se hizo reaccionar con el yoduro (I) para originar una cantidad equivalente de yodo (I_2), el cual al ser extraído en tetracloruro de carbono (CCl_4) impartió un color rosa al disolvente. Al extracto I_2/CCl_4 se le midió la absorbancia a $\lambda=515$ nm en un espectrofotómetro. La cuantificación de As total se realizó al oxidar la especie As (III) a As (V) con peróxido de hidrógeno en solución alcalina. El As (III) se obtuvo por la diferencia de As total y As (V).

Los resultados obtenidos a partir de soluciones sintéticas indicaron que la metodología permitió determinar cuantitativamente las dos especies. En las muestras de agua natural se hallaron las dos especies de arsénico, predominando el As (V). El límite de detección fue de 0.5 $\mu\text{g/L}$. El efecto de varios iones se estudió en la determinación de As (V) en soluciones sintéticas. Los iones de estudio fueron Fe (III), Ce (IV), Sn (IV), Pb (IV), V(V) y Hg (II) cada elemento a una concentración de 10 mg/L. Los resultados mostraron que los iones Sn (IV), Ce (IV) y V(V) interfieren cuando As (V) se encuentra

a una concentración de 0.002 mg/L. Los iones Hg (II) y Sn (IV) afectaron cuando As (V) se encuentra a una concentración de 0.5 mg/L.

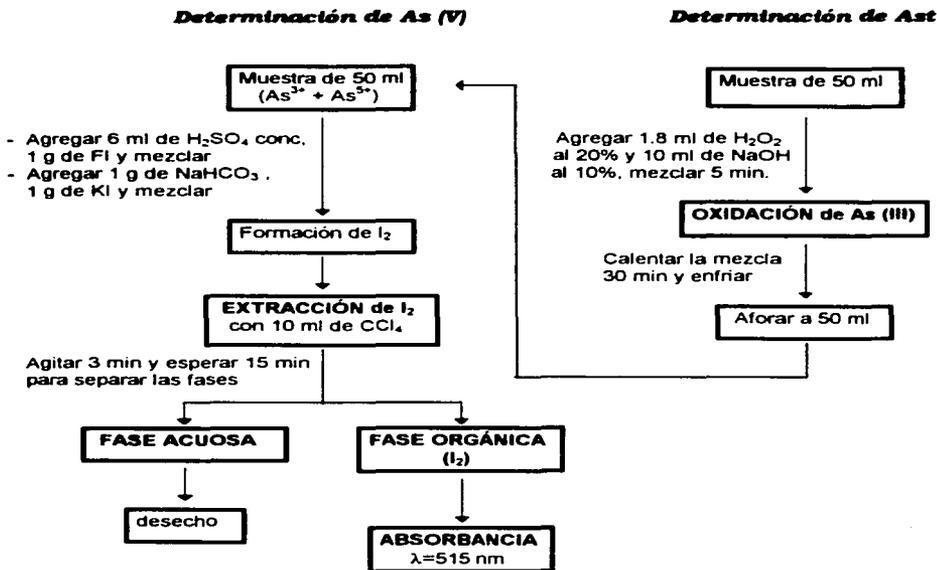


Figura 2.2.2.7. Diagrama analítico para determinar As (V) y As total por Nyamah y Torgbor, 1986.

b) Aplicación en muestras de agua natural

La especiación de arsénico orgánico e inorgánico se estudió en muestras de agua natural por Hasegawa *et al* (1994), los cuales consideran importante la especiación de As por la toxicidad informada para el metaloide. La técnica analítica empleada fue HG-

AAS (Hydride Generation-Atomic Absorption Spectrometry).

Las muestras de agua del Lago Biwa y Setouti (Japón) fueron muestreadas mediante un sistema de bombeo. El esquema analítico de la *figura 2.2.2.8* permite separar el As (III) del As(V) en la forma inorgánica y orgánica (ác. metilarsénico y dimetilarsénico), así también puede determinarse el **As total** [inorgánico (III,V) y orgánico (III,V)]. Las muestras fueron analizadas entre 1 a 2 días de la colección.

El As (III) en la forma inorgánica y orgánica se separó del As (V) por complejación con DDDC (diethylammonium diethyldithiocarbamate) en tetracloruro de carbono (CCl_4). El As (III) se re-extrajo a una fase acuosa de NaOH 0.1 M, posteriormente se realizó la oxidación de materia orgánica restante con NaClO y HCl bajo calentamiento. La muestra en medio ácido se determinó por HG-AAS. El contenido de **As total** en la muestra se determinó en medio ácido por HG-AAS, permitiendo cuantificar el As (V) por diferencia del As (III).

En las muestras de los lagos estudiados se detectaron especies orgánicas e inorgánicas en los dos estados de oxidación. Las cantidades de **As orgánico** en estado tri y pentavalente fueron variables con respecto a la profundidad de muestreo. Los límites de detección para las especies pentavalentes fueron 0.14, 0.18 y 0.11 nM de As inorgánico, ácido metilarsénico, ácido dimetilarsénico, respectivamente; para especies trivalentes fueron 0.015, 0.017 y 0.013 nM de As inorgánico, ácido metilarsénico, ácido dimetilarsénico, respectivamente.

En la determinación de As (III) por HG-AAS se hallaron interferencias debido a los productos de descomposición del dietilditiocarbamato (disulfuro de carbono y sulfuro de hidrógeno) y tetracloruro de carbono. Las anteriores interferencias se eliminaron **agregando hipoclorito de sodio** junto con HCl y calentando a 100 °C por 20 minutos. La **interferencia** debida al hierro fue eliminada **agregando EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid)**.

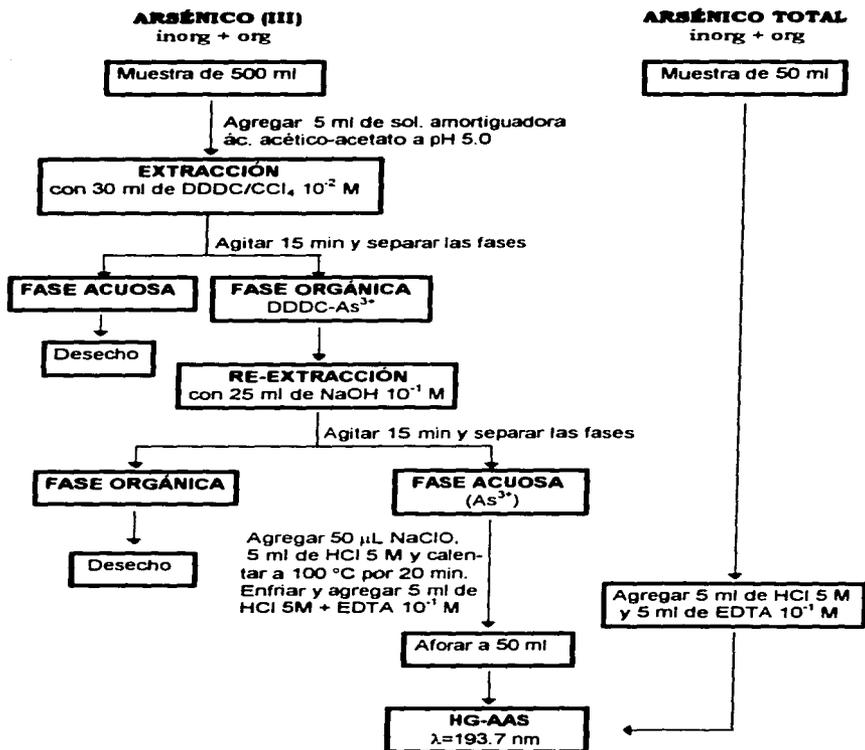


Figura 2.2.2.8. Diagrama de flujo para la especiación de As trivalente y pentavalente por Hasegawa et al, 1994.

Aurillo et al (1994) especieron arsénico inorgánico y orgánico en muestras de agua natural. La necesidad de evaluar los riesgos que representan los sitios de actividad industrial sobre la salud humana y su posterior impacto ambiental justificó la realización

del estudio. La especiación se realizó por generación de hidruros, congelamiento criogénico, separación cromatográfica seguida por la detección en AAS (Atomic Absorption Spectrometry).

Los cuerpos de agua estudiados fueron el Lago Superior Mystic (LSM), Lago Inferior Mystic (LIM) y el Hall's Brook Storage Area (HBSA) localizados al norte de Boston, E.U. El muestreo del agua de los lagos Mystic se realizó utilizando una bomba peristáltica con lavado ácido. Las muestras de HBSA se colectaron manualmente usando jeringas de vidrio y recipientes de polietileno lavados previamente con ácido. Todas las muestras colectadas se colocaron inmediatamente en un baño de hielo y se analizaron entre las 24 hrs. de la colección.

El análisis de las especies de arsénico inorgánicas (III, V) y orgánicas (ácidos metilarsénico y dimetilarsénico) se realizó mediante el procedimiento analítico de la *figura 2.2.2.9*. El procedimiento se realizó en dos pasos: el As (III) inorgánico se redujo a arsina (AsH_3) con una solución al 4% de NaBH_4 a pH neutro, después la muestra se acidificó a $\text{pH} < 1$ con HCl y se agregó nuevamente la sol. de NaBH_4 para convertir el As (V) y As metilado a las arsinas correspondientes. Las arsinas formadas por las especies de As fueron separadas por sus diferentes puntos de ebullición al calentar la trampa criogénica, y luego de pasar a través del cromatógrafo de gases se analizaron por AAS.

El estudio de especiación demostró que en las aguas de los lagos Mystic el As (III) inorgánico y As metilado son las especies predominantes. En HBSA el As (III) fue la especie predominante representando el 80% del As total, mientras que las especies metiladas de As no se detectaron. Los límites de detección fueron 0.4 y 0.5 nM para As(III) y As (V), respectivamente, 0.3 y 0.2 nM para ácido metilarsénico (AMA) y ácido dimetilarsénico (ADA), respectivamente. La precisión de las determinaciones fue del 15% para As (III), As (V) y ácido dimetilarsénico, y del 30% para el ácido metilarsénico. El estudio no mencionó algún tipo de interferencia.

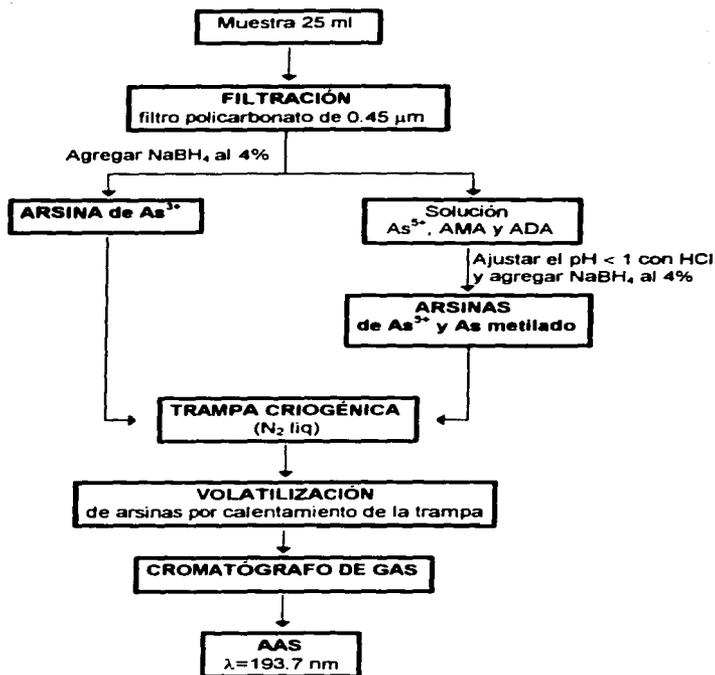


Figura 2.2.2.9. Especiación de arsénico inorgánico y orgánico por Aurillo et al, 1994.

El especiar arsénico en aguas subterráneas de Taiwan es importante por la posible relación del metaloide con la enfermedad de Blackfoot ("pies negros") (Chen *et al*, 1994). Las especies de As se determinaron por las técnicas HG-AAS (Hydride Generation-Atomic Absorption Spectrophotometry) y NAA (Neutron Activation Analysis).

La investigación se realizó en un área de la costa sudoeste de Taiwan donde se ha encontrado la enfermedad de "pies negros". Las muestras de agua se obtuvieron de tres pozos en Putai y Hsinchu, Taiwan. El agua de pozo se obtuvo por una tubería de bombeo, enseguida se paso a través de un filtro membrana y se depositó en recipientes de polietileno previamente lavados con HNO_3 (10%) y enjuagados con H_2O desionizada. Las muestras se acidificaron con 2 ml de H_2SO_4 y se almacenaron a 4 °C para el estudio de especiación (*figura 2.2.2.10*).

La muestra de agua se inyectó a la columna de separación NS-1 (poliestireno divinilbenceno) para retener y concentrar las especies de As. La elución con fosfato de tetrabutilamonio (5×10^{-3})/ metanol al 5% a pH 7.3 permitió la elución de las especies a diferentes tiempos. Cada efluente obtenido se acidificó con HCl y se le agregó NaBH_4 para generar la arsina y detectarla por AAS. El As insoluble colectado en el filtro membrana después de la filtración se lavó con agua desionizada, y seco se determinó por NAA.

Las principales especies de As encontradas en el agua de pozo fueron As^{3+} y As^{5+} , con un radio promedio $\text{As}^{3+}/\text{As}^{5+}$ cerca de 2.6. Los metilarsenicales (AMA y ADA) fueron de bajo límite de detección ($< 1 \mu\text{g/L}$) en el agua de pozo. Los límites de detección para As^{3+} , As^{5+} , AMA y ADA utilizando HGAAS fueron 0.7, 1.5, 1.0 y 1.0 $\mu\text{g/L}$, respectivamente.

El agua colectada de los tres pozos estudiados contenían en promedio $671 \pm 149 \mu\text{g}$ de As total disuelto/L. Los resultados muestran que el valor promedio de As disuelto en el agua de los tres pozos analizados es 13 veces mayor que el MCL (Maximum Contaminat Level) establecido por CFR (Code of Federal Regulations, U.S.) para As en agua potable, el cual establece que el MCL de As en comunidad de sistemas de agua es 0.05 mg/L. Basándose en los resultados obtenidos se concluyó que el As es el primer sospechoso en causar la enfermedad de "pies negros" en Taiwan. La metodología utilizada no menciona ninguna interferencia en el estudio.

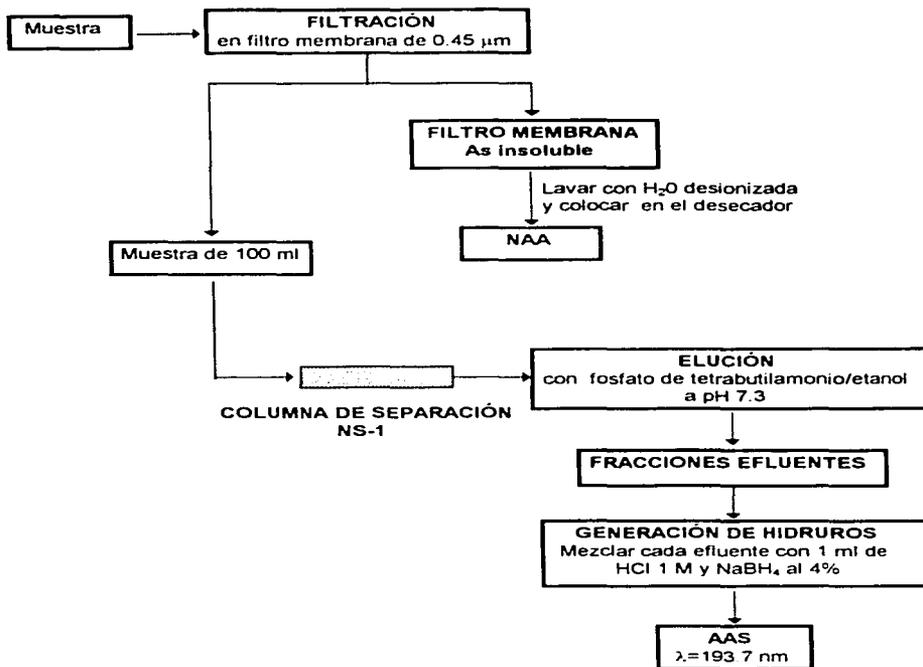


Figura 2.2.2.10. Especiación de **As** inorgánico y orgánico (AMA, ADA) por Chen et al, 1994.

Van Elteren et al (1994) desarrollaron una metodología analítica para especiar arsénico en el agua intersticial de un sedimento. La diferenciación entre As (III) y As (V) se efectuó por métodos selectivos de precipitación. Separadamente, las especies de arsénico orgánico (AMA y ADA) fueron determinadas por un sistema automático que comprendió la generación de arsinas, unidad de secado, congelamiento criogénico y

sistema de detección. Se utilizó HG-AAS para analizar las muestras.

El material de vidrio y recipientes de polietileno utilizados fueron lavados con HNO_3 diluido y enjuagados con agua desionizada antes de usarse. La muestra de sedimento con agua se obtuvo al dragar en la zona "Chemiehaven" en Rotterdam. El sedimento fue sujeto a una filtración a presión empleando un filtro membrana de $0.45 \mu\text{m}$. Una porción de agua intersticial obtenida se analizó enseguida para As (III) y As (V) inorgánico, el resto del agua se guardó a 4°C para la determinar el As orgánico. En la *figura 2.2.2.11* se muestran los procedimientos analíticos para determinar As inorgánico y orgánico.

El As (III) y As (V) se diferenciaron por precipitación selectiva. El As (III) se precipitó en medio ácido con dibenzilditiocarbamato de sodio y se aisló por filtración. Al filtrado obtenido se le agregó molibdato de sodio para precipitar el As(V) y separarlo por filtración. Los precipitados colectados en los filtros se sometieron a disolución con HCl (37%), HNO_3 (65%) y H_2SO_4 (48%) para analizarse en solución por HG-AAS.

La determinación del ácido metilarsénico (AMA) y ácido dimetilarsénico (ADA) se realizó por generación de arsinas, congelamiento criogénico y volatilización por calentamiento de la trampa para separarlas de acuerdo a su punto de ebullición y detectarlas en AAS.

El estudio de especiación de As en el agua intersticial mostró que las concentraciones de As (III) y As (V) son relativamente altas en comparación con las concentraciones de las especies metiladas. Las concentraciones fueron 28.5, 26.8 y 0.60 ng/ml para As (III), As (V) y AMA, respectivamente, mientras que la concentración de ADA fue debajo de 0.16 ng/ml. Así, la aplicación de metodologías de preconcentración para As (III) y As (V) combinadas con trampas criogénicas para metilarsinas, permitió especiar arsénico selectivamente en agua intersticial de sedimento.

La técnica Polarografía Diferencial de Pulsos (PDP) fue empleada por Buldini *et al*

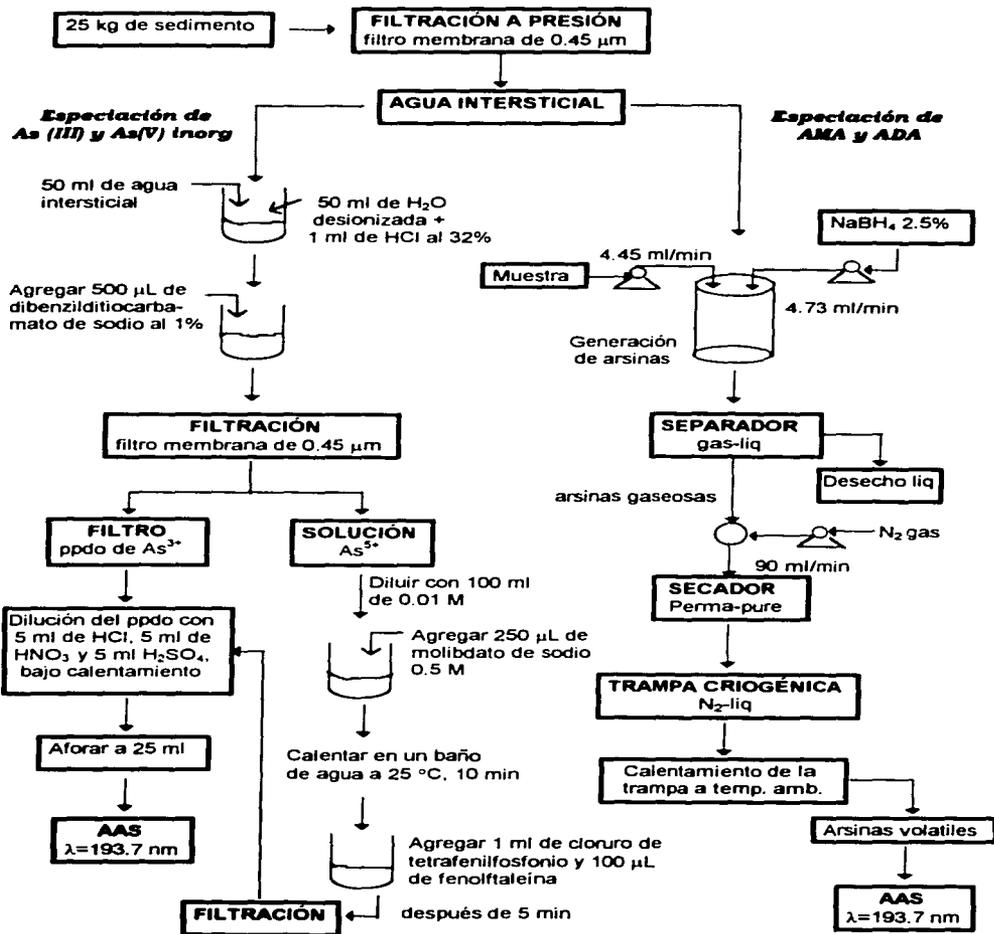


Figura 2.2.2.11. Especiación de As inorgánico y orgánico en agua intersticial de sedimento por Van Elteren et al, 1994.

(1980) para determinar arsénico orgánico e inorgánico en agua de manantial. El estudio se justificó a razón de la toxicidad que representa el elemento hacia los seres vivos incluyendo al hombre.

Las muestras de agua de manantial se almacenaron en recipientes de polietileno previamente lavados con HCl. El muestreo de agua se realizó enjuagando varias veces el recipiente antes de tomar la muestra de análisis. Todo el material de cristalería utilizado fue lavado con H_2SO_4 concentrado y enjuagado con agua desionizada antes de usarse. La preparación y análisis de la muestra para determinar As (III), As total inorgánico y As total se presenta en la *figura 2.2.2.12*. El As (V) se cuantificó por la diferencia de As total inorgánico y As (III), y el As orgánico se cuantificó por la diferencia de As total y As total inorgánico.

El As (III) se determinó directamente por PDP utilizando HCl 2 M como electrolito de soporte. El As total inorgánico ($As^{3+} + As^{5+}$) se determinó después de reducir el As (V) con sulfito de sodio. El As total (orgánico + inorgánico) se determinó después de un tratamiento oxidativo con $KMnO_4$ y $Mg(NO_3)_2$, y reducción a As (III) con Na_2SO_3 .

Los resultados mostraron que el agua de manantial no contiene cantidades detectables de As (III). El As inorgánico y orgánico se detectaron en pequeñas cantidades no mayores de 7 y 6 $\mu g/L$, respectivamente. Los límites de detección fueron 10, 1 y 1 $\mu g/L$ para As (III), As total inorgánico y As total, respectivamente. Las interferencias en la determinación de As bajo las condiciones descritas se debieron solo a Pb (II) y Cu (II), los cuales exhibieron picos dentro del potencial de trabajo. Los iones interferentes se removieron al pasar la muestra a través de una columna que contenía una resina de intercambio aniónico (Ambertile IRA-402).

c) Aplicación en muestras marinas (algas, bivalvos, crustáceos) y sedimento

El estudio de especiación de arsénico orgánico (arsenoazúcar y arsenobetaina) en

organismos marinos como algas marinas, bivalvos y crustáceos se realizó por las técnicas analíticas de HG-AAS (Hydride Generation-Atomic Absorption Spectrophotometry) y HPLC/ICPMS (High Performance Liquid Chromatography with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrophotometry). Los resultados demostraron que

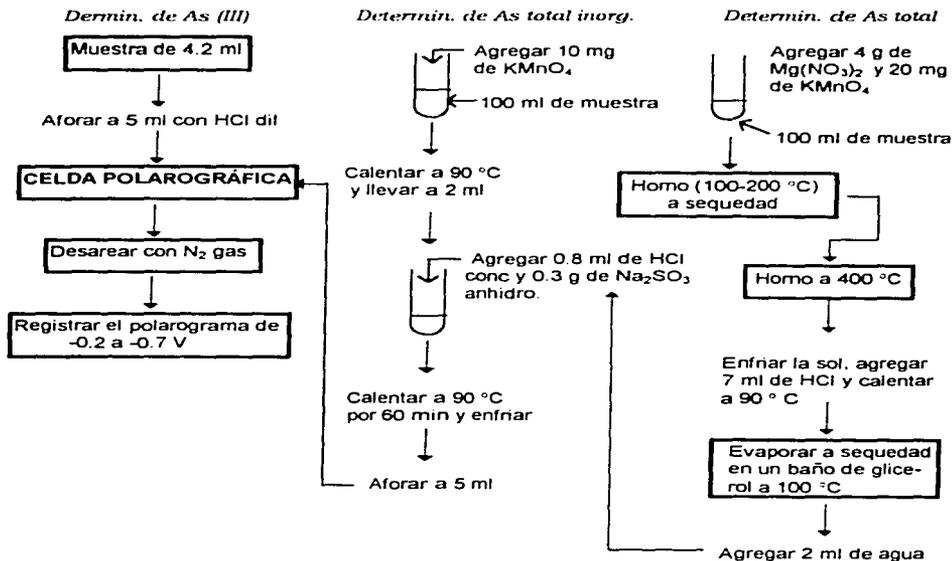


Figura 2.2.2.12. Especiación de **As** inorgánico y orgánico por polarografía diferencial de pulsos.

el **As** forma arsenozúcar en algas marinas, y arsenobetaina en cangrejo y camarón; el límite de detección fue de 0.02 µg/g de **As** (Le *et al.*, 1994).

La especiación de arsénico tri y pentavalente inorgánico en una muestra de sedimento

fue realizada por Ficklin, 1990. El As se extrajo del sedimento con HCl 4.0 M. La separación de las especies se realizó en una resina de intercambio iónico Dowex 1-X8 con HCl 0.12 M como eluyente. Se hallaron resultados no uniformes en las determinaciones de As que probablemente se debieron a la no homogeneidad de las muestras. Las concentraciones de As (III) y As (V) detectables fueron 0.33 y 0.42 mg/kg, respectivamente.

2.2.3 Análisis de las metodologías analíticas de As

En los estudios citados se especificaron las formas inorgánicas [As (III), As (V)] y orgánicas (ácido metilarsénico y ácido dimetilarsénico) de arsénico. La mayor parte de los estudios determinó las dos formas químicas mediante procedimientos similares. La cuantificación de especies se realizó en forma directa por la metodología y en algunos casos, indirectamente (por diferencia).

Las concentraciones de arsénico en las muestras sintéticas fueron principalmente de µg/L, ng/L y ng/ml. La preservación de muestras sintéticas no se mencionó por los estudios citados. Howard *et al* (1981) y Braman *et al* (1977) que emplearon soluciones sintéticas mencionaron que la preparación de éstas se realiza el día del análisis. Los tipos de agua natural que se consideraron en los estudios fueron: agua de lago, manantial, intersticial de sedimento y subterránea (pozo). Los autores Hasegawa *et al* (1994), Aurillo *et al* (1994) y Chen *et al* (1994) utilizaron un sistema de bombeo para muestrear el agua de lago y pozo.

La conservación de la muestra natural es un requerimiento importante para el estudio de especiación. Van Elteren *et al* (1991) estudiaron la estabilidad de As (III) y As (V) en muestras de agua potable y de mar, bajo condiciones experimentales de temperatura y pH. Observaron que As (III) en agua potable es estable a las condiciones de pH=2 y 4 °C en un período de almacenamiento de 30 días, sin embargo, en agua de mar no se

hallaron condiciones satisfactorias de almacenamiento. En el caso de As (V) no hay cambio significativo en la concentración bajo las condiciones estudiadas (pH natural y pH=2 a temperatura ambiente) para los dos tipos de agua, sin embargo, en agua desionizada es completamente convertido al estado trivalente en un periodo aproximado de una semana. Chen *et al* (1994) conservaron muestras de agua de lago con ácido sulfúrico bajo refrigeración (4 °C).

El material de vidrio y recipientes de polietileno fueron generalmente lavados con ácido (regularmente HNO₃) y enjuagados con agua destilada o desionizada, en los estudios realizados por Howard *et al* (1981), Puttemans y Massart (1982), Aurillo *et al* (1994), Chen *et al* (1994) y Van Elteren *et al* (1994).

La separación de especies inorgánicas y orgánicas se realizó en forma diferente. Las especies inorgánicas se separaron mediante procedimientos de extracción, adsorción y reducción, mientras que las especies orgánicas principalmente se determinaron por generación de arsinas, congelamiento criogénico y separación por volatilización selectiva. La técnica analítica más utilizada para determinar arsénico fue HG-AAS. Los límites de detección se notificaron principalmente en mg/L y ng/L, aunque también se citaron en concentraciones nM (nanomolar) y pM (picomolar).

En los análisis de As por AAS se han citado diferentes interferencias debido a cationes y aniones inorgánicos en la muestra. Pierce y Brown (1976) realizaron un estudio para analizar la cantidad de interferencia inorgánica en la determinación de arsénico y selenio por AAS. El análisis de los resultados condujo a establecer que la interferencia de los iones depende en cierta forma del orden de adición de reactivos como NaBH₄ y HCl. La adición de NaBH₄ previa al HCl en iones como Al³⁺, Cr²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Pb²⁺, Ni²⁺, Ag¹⁺, Sn²⁺, V²⁺, Zn²⁺, MoO₄⁻¹ y S₂O₅²⁻ en el intervalo de concentración de 16.7 a 33.3 mg/L, se observó un efecto total de supresión de la señal en el análisis de As, donde se propuso que cationes como Fe³⁺, Co²⁺, Cu²⁺ y Pb²⁺ compiten con As o Se en la reducción consumiendo el agente reductor. Yu *et al* (1983) informaron interferencias de Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Sn⁴⁺, Bi²⁺, Pb²⁺ y Ag¹⁺ en la adsorción de As (III) en el algodón

impregnado con ácido tioglicólico. Los iones adsorbidos en el algodón se removieron con una solución diluida de HCl. Braman *et al* (1977) notaron interferencias por Ag^{1+} y Cu^{2+} a 200 ppm en la producción de arsinas de arsénico inorgánico y orgánico.

Howard y Arbab-Zavar (1981) investigaron el efecto de varios iones dentro del estudio contemplado. Las interferencias que se detectaron por los iones analizados se eliminaron con EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid). Del mismo modo, Hasegawa *et al* (1994) eliminaron la interferencia de hierro agregando este complejante. En la especiación polarográfica de arsénico por Buldini *et al* (1980) se halló interferencia de Pb (II) y Cu (II) en el potencial de trabajo. Los iones interferentes fueron eliminados de la muestra pasándola a través de una columna de intercambio iónico.

Es necesario indicar que los estudios realizados con muestras sintéticas aplicaron posteriormente la metodología a muestras de agua de mar, río, manantial, lago, mineral envasada y residual.

2.3 Especiación de cromo

El cromo es un elemento que se encuentra distribuido ampliamente en la corteza terrestre en un promedio de 125 mg/kg de suelo (Friberg *et al*, 1990). Se halla formando principalmente el mineral cromito $(\text{Fe,Mg})\text{O}(\text{Cr,Al,Fe})_2\text{O}_3$ que contiene óxido crómico (52-56%) y óxido ferroso (10-26%). Otro mineral de importancia es $\text{FeO}(\text{Cr}_2\text{O}_3)$ (cromito de hierro) que contienen 68% de óxido crómico y 32% de óxido ferroso (Bodek *et al*, 1988).

La concentración de cromo en ríos y lagos es de 1 a 10 $\mu\text{g/L}$, mientras que en agua de mar es aproximadamente de 0.1 a 5.0 $\mu\text{g/L}$. En el suelo se encuentra desde nivel de traza hasta 250 mg/kg (Friberg *et al*, 1990).

El cromo pertenece a la serie de metales pesados de transición de la tabla periódica. El Cr presenta los estados de oxidación de 0, +2, +3 y +6, dentro de los cuales los dos últimos son los más importantes. La distribución de las especies de cromo en sistemas acuosos de acuerdo a consideraciones termodinámicas, depende del pH y E (potencial redox). El ion cromoso (Cr^{2+}) es inestable en agua y se conoce poco acerca de su hidrólisis (Bodek *et al.*, 1988). La distribución de Cr (III) y Cr(VI) con sus productos de hidrólisis en diferentes condiciones de pH y E se muestra en la *figura A1-3* (anexo 1).

El Cr (III) se encuentra en forma natural en el medio ambiente, mientras que el Cr (VI) y Cr (0) se producen generalmente por procesos industriales. El cromo se utiliza en la industria refractaria para elaborar ladrillos de hornos metalúrgicos; además, se usa en la industria del acero para producir ferroaleaciones que son resistentes a la corrosión y oxidación. El cromo se utiliza también para la producción de acero inoxidable, pigmentos y en la industria textil y química (Cr ATSDR, 1989).

El Cr (III) se considera un elemento esencial para mantener el metabolismo del hombre y de los animales; en el cuerpo humano juega un papel importante en el metabolismo de la glucosa y el colesterol (Cr ATSDR, 1989). Sin embargo, el Cr (VI) en la forma de cromato (CrO_4^{2-}) se solubiliza en el agua del cuerpo y se absorbe por el torrente sanguíneo a los pulmones. Estudios toxicológicos realizados han demostrado que la especie Cr (VI) y compuestos de ésta son cancerígenos (Manahan, 1989).

El peligro que el cromo representa para la salud humana ha sido el motivo para que se establezcan normas de calidad de agua. La NOM-127-SSA1-1994 establece que el límite permisible de Cr total en agua de consumo humano sea de 0.05 mg/L, mientras que los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (CE-CCA-001/89) establecen que el agua potable contendrá como máximo 0.05 mg/L de Cr hexavalente. Los estudios realizados sobre la especiación de cromo demuestran la importancia ambiental y geológica del elemento. Principalmente la justificación de los estudios realizados se relaciona con la toxicidad y contaminación del cromo hacia el medio ambiente.

2.3.1 Principios y métodos

Los estudios revisados sobre la especiación de cromo fueron principalmente aplicados a muestras acuosas sintéticas y naturales; sin embargo, por la importancia del cromo en el ambiente se mencionan brevemente estudios aplicados a muestras de suelo.

La especiación de cromo inorgánico (III, VI) en soluciones sintéticas se realizó con diferentes métodos de separación y técnicas de análisis. Los métodos de separación comprendieron: cromatografía de intercambio iónico, líquida y adsorción; así como reacciones que implicaban la formación de quelatos o precipitados. Las determinaciones se realizaron por técnicas espectrofotométricas de emisión y absorción, detección de quimiluminiscencia y métodos de valoración.

Las diferentes metodologías analizaron directamente Cr (III) o Cr (VI), y por diferencia entre el contenido total de cromo y la especie analizada determinaron la especie faltante. Miyazaki y Barnes (1981) analizaron el Cr(VI) por quelatación con una resina y el cromo total por oxidación de Cr (III) a Cr (VI), todas las concentraciones se determinaron por ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry). El-Wakil *et al* (1993) determinaron por separado las dos especies, el Cr (III) por iodometría y el Cr (VI) después ser reducido se analizó en la forma de Cr(III).

Gammelgaard *et al* (1992) separaron las especies por intercambio iónico y se cuantificaron por la cantidad de quimiluminiscencia originada después de haber reaccionado con un compuesto específico. Powell *et al* (1995) separaron las especies Cr (III) y Cr(VI) en base a los diferentes tiempos de retención en HPLC (High-Pressure Liquid Chromatography) y las determinaron por DIN-ICP-MS (Direct Injection Nebulization-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry).

Las metodologías analíticas que se aplicaron a muestras naturales comprenden diferentes métodos de separación: reacciones de precipitación y quelatación, procesos

de adsorción en una fase sólida e intercambio iónico en resinas. Los análisis se realizaron por las técnicas de NAA (Neutron Activation Analysis), ETAAS (Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry) y GFAAS (Graphite Furnance Atomic Absorption Spectrometry).

Beaubien *et al* (1994) analizaron en agua de lago Cr inorgánico (III, VI) y coloidal. La resina de intercambio iónico empacada en una columna permitió retener las especies Cr (VI) y Cr coloidal, sin retención de Cr (III). El análisis de las fracciones obtenidas después de un tratamiento de la resina y de la solución eluyente de la columna se realizó por GFAAS. Kubrakova *et al* (1994) determinaron las especies Cr(III) y Cr(VI) en agua de río. La separación de las especies se basó en un proceso de adsorción en un sorbente a diferente pH, para adsorber Cr (III) pH 7 y para Cr(VI) pH 3. Las especies desorbidas se determinaron por ETAAS.

Lan *et al* (1991) analizaron Cr(III) y Cr(VI) en agua marina y subterránea (pozo), utilizaron reacciones de precipitación a diferentes valores de pH y determinaron las concentraciones por NAA. Sperling *et al* (1992) analizaron en agua de lago Cr(VI) por quelatación con dietilditiocarbamato y Cr total por oxidación de Cr(III) a Cr(VI), y determinando las dos especies por ETAAS.

2.3.2 Metodologías analíticas

a) Aplicación en muestras sintéticas

Powell *et al* (1995) desarrollaron un método analítico para especiar cromo en muestras sintéticas y evaluarlo posteriormente en muestras de agua residual. El arreglo analítico fue una combinación de los sistemas HPLC (High Performance Liquid

Chromatography)-DIN-ICPMS (Direct Injection Nebulization Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry).

Se prepararon soluciones sintéticas de Cr(VI) y Cr(III) a una concentración de 100 µg/L, partiendo de soluciones estándares de cada una de las especies. Las soluciones anteriores se preservaron con ácido nítrico. El conjunto de los sistemas empleados se muestra en la *figura 2.3.2.1*. La muestra se inyectó a la columna de separación (HPLC) por un muestreador automático. Las especies eluidas a diferentes tiempos pasaron a través del nebulizador (DIN) para introducirse al sistema de detección (ICPMS).

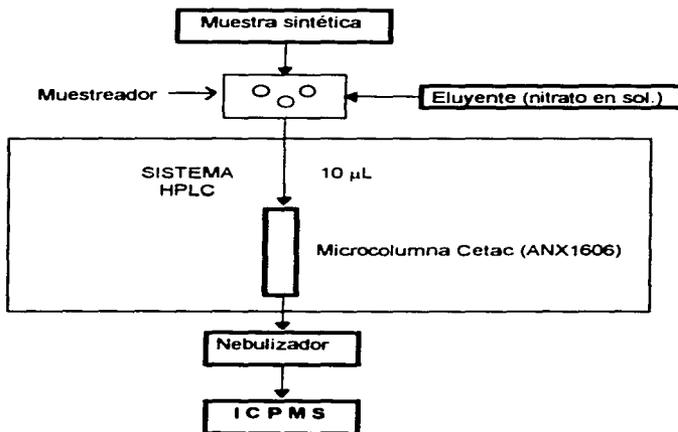


Figura 2.3.2.1. Arreglo analítico de sistemas HPLC-DIN-ICPMS para determinar Cr(III) y Cr(VI).

El arreglo analítico se optimizó con distintos parámetros que influyeron en cada uno de los sistemas. El parámetro más importante fue el pH en la columna de separación, determinándose como pH óptimo el intervalo de 4 a 9 para las dos especies de estudio.

Los límites de detección del sistema optimizado fueron de 60 y 180 ng/L para Cr(III) y Cr(VI), respectivamente.

El método analítico fue posteriormente aplicado a muestras de agua residual. En los resultados obtenidos se observó que el Cr(VI) agregado a la muestra se redujo ligeramente a Cr(III) en un período de tres semanas. En el análisis del agua residual se obtuvieron resultados satisfactorios.

El estudio de especiación de Cr(III) y Cr(VI) en soluciones sintéticas se realizó por Gammelgaard *et al.*, 1992. La separación de especies se realizó en una columna de intercambio catiónico y la determinación por quimiluminiscencia producida después de reaccionar con luminol (5-amino-2,3-dihydrophthalazine-1,4-dione).

La concentración de las especies Cr (III) y Cr (VI) en solución fue de 20 µg/L, partiendo de soluciones estándares de tricloruro de cromo y cromato de potasio, respectivamente. Todo el material utilizado fue colocado en HNO₃ (4 M) por una semana y enjuagado con H₂O ultrapura. En la *figura 2.3.2.2* se muestra el procedimiento analítico esquematizado.

La muestra inyectada se condujo por el eluyente hacia la columna de intercambio, donde se retuvo el Cr(III) y el Cr(VI) pasó sin retención. El Cr(VI) no retenido se redujo con K₂SO₃ (sulfito de potasio) para reaccionar con luminol y producir una cantidad de quimiluminiscencia proporcional a la concentración de la especie. El Cr(III) después de ser retenido 115 segundos en la columna, es eluido para reaccionar con luminol y ser determinado de igual forma que Cr(VI).

El límite de detección para las dos especies de cromo fue de 5µg/L. La precisión a una concentración de 20 µg/L fue 3.5 y 3.3% para Cr (III) y Cr (VI), respectivamente. La posibilidad de interferencia por iones de Cu²⁺, Al³⁺, Mn²⁺, Co²⁺, Fe²⁺ y Fe³⁺ fue analizada, ya que estos iones podían catalizar la reacción con luminol; una concentración de 20 µg/L del ion interferente no causó efecto catalítico con luminol. La

única interferencia se debió al Fe^{2+} en el proceso de reducción del Cr(VI) , eliminándose al agregar EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid).

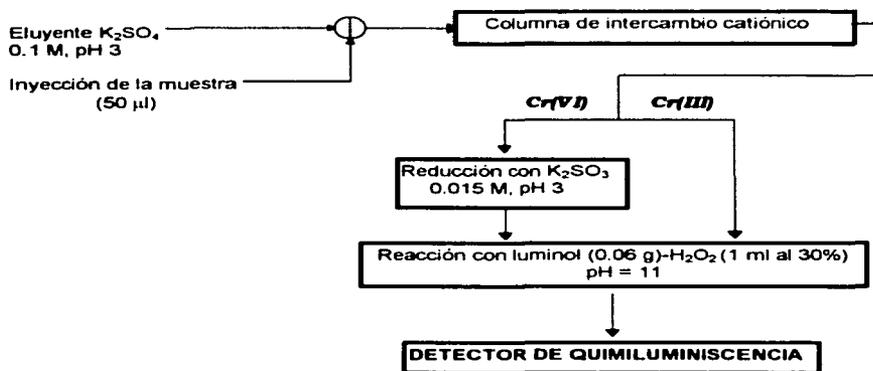


Figura 2.3.2.2. Diagrama de flujo para la especiación de Cr(VI) y Cr(III) .

La especiación de cromo en agua es importante por las características tóxicas del Cr(VI) , el cual puede introducirse a sistemas de distribución de agua potable por el uso de inhibidores de corrosión en la tubería; por tal motivo, El-Wakil *et al* (1993) analizaron Cr(III) y Cr total por iodometría, para determinar indirectamente Cr(VI) en una solución sintética.

Las soluciones de trabajo contenían cromo trivalente (20 a 310 $\mu\text{g/L}$) y cromo hexavalente (310 $\mu\text{g/L}$). El Cr(III) en solución es oxidado con periodato (IO_4^-) en pH 3.2 para liberar iodato (IO_3^-) en solución. El iodato formado reacciona con el yoduro de potasio agregado para producir yodo, que se valora con una solución de tiosulfato de sodio. El Cr total después de haber sido reducido con sulfito de sodio se analizó de la misma forma que Cr(III) . El exceso de periodato libre se enmascaró con molibdato. El diagrama de flujo para determinar Cr(III) y Cr total se muestra en la figura 2.3.2.3.

En este estudio se realizó también la determinación de cromo en compuestos orgánicos, como oxinato de cromo $[\text{Cr}(\text{C}_9\text{H}_6\text{ON})_3]$ y acetilacetato de cromo $[\text{Cr}(\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2)_3]$ (figura 2.3.2.4).

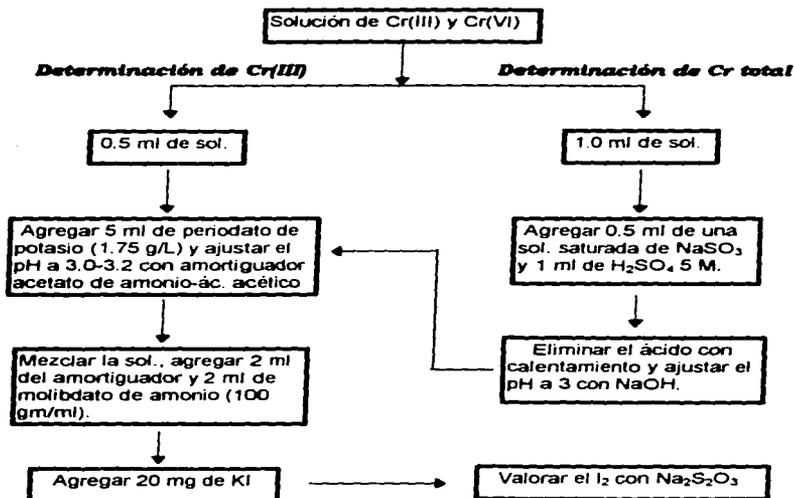


Figura 2.3.2.3. Diagrama de flujo para determinar Cr(III) y Cr total inorgánico.

En los resultados obtenidos las cantidades determinadas para las dos especies fue acorde a la cantidad inicial de estudio. La desviación estándar fue menor a $0.9 \mu\text{g}$ para una concentración de $310 \mu\text{g/L}$. El nivel de detección de cromo en compuestos orgánicos fue 10.7 y $14.9 \mu\text{g}$ para oxinato y acetilacetato de cromo, respectivamente.

El propósito de Miyazaki y Barnes (1981) fue desarrollar una metodología analítica para diferenciar Cr(VI) y Cr(III) al nivel de traza en un medio acuoso. La metodología se aplicó a muestras de agua sintética para determinar Cr(VI) y Cr total.

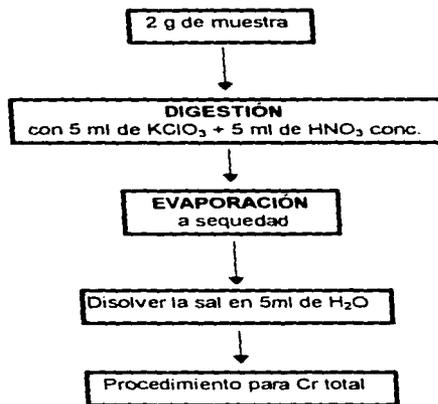


Figura 2.3.2.4. Diagrama analítico para determinar Cr en compuestos orgánicos.

Las concentraciones de estudio fueron 10, 20 y 30 mg/L para Cr (VI), y 10, 20, 30 y 60 mg/L para Cr(III). En la figura 2.3.2.5 se muestra el procedimiento analítico para determinar el Cr(VI) y Cr total. El Cr(VI) se complejó en la resina poli(ditiocarbamato) al pasar la muestra que lo contenía a través de una columna empacada con esta resina. La resina se digirió con HNO₃ y el Cr(VI) en solución se analizó por ICP-AES (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry).

El Cr total se determinó en la forma de Cr(VI) después de oxidar el Cr(III) con permanganato de potasio. El Cr(III) se determinó por diferencia de las mediciones realizadas [Cr total-Cr(VI)]. Los límites de detección fueron de 12 y 36 ng/L para Cr(VI)

y Cr total, respectivamente. La recuperación del Cr(VI) en la resina fue del 92%, mientras que el Cr total se recuperó al 100%.

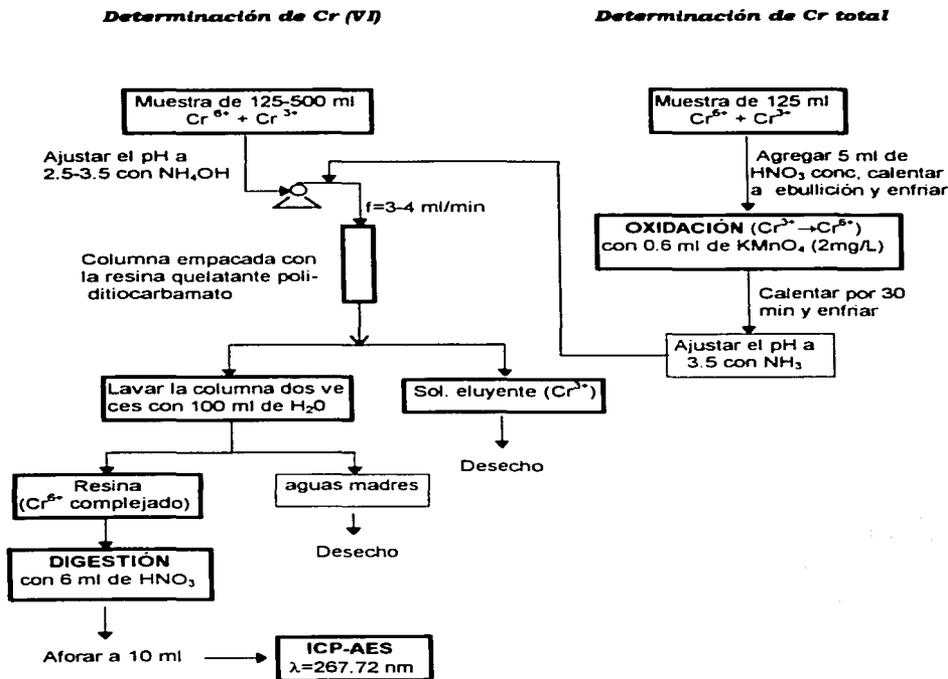


Figura 2.3.2.5. Esquema analítico para determinar cromo hexavalente y Cr total en una muestra sintética.

b) Aplicación en muestras de agua natural

La precipitación en función del pH se aplicó como medio analítico para diferenciar las especies de cromo en agua y determinarlas por medio de Neutron Activation Analysis (NAA) (Lan *et al.*, 1991). La separación de las especies se realizó precipitando el Cr (VI) a pH 4.0 y Cr (III) a pH 9.0 con Pb(PDC)₂ (PDC= pyrrolidine dithiocarbamate).

La metodología analítica se aplicó a muestras de agua potable, marina y de pozo. El diagrama analítico de la *figura 2.3.2.6* muestra la determinación de Cr(III), Cr(VI) y Cr total. El Cr(VI) en la muestra se determinó por precipitación en medio ácido (pH 4) con Pb(PDC)₂, mientras que el Cr(III) en solución se precipitó posteriormente con el mismo reactivo en pH básico (pH 9). El contenido de Cr total en la muestra se determinó como Cr(III) después de reducir el Cr(VI) con NaHSO₃. Los precipitados de Cr total y de las especies se analizaron por NAA (Neutron Activation Analysis).

La cantidad de Cr total que se determinó fue de 0.54, 0.25 y 0.33 ng/ml en agua marina, de pozo y potable, respectivamente. El Cr (III) se encontró en mayor proporción en agua marina y de pozo, con 0.49 y 0.20 ng/ml, respectivamente. El Cr (VI) se encontró en el agua de pozo en una cantidad de 0.13 ng/ml. El contenido de Cr(III) y Cr (VI) fue acorde con el contenido de Cr total en todas las muestras estudiadas. El límite de detección fue 0.03 ng/ml de Cr.

El cromo hexavalente presente en agua de desecho industrial implica un riesgo ambiental, ya que este elemento en solución puede persistir extensos períodos de tiempo sin cambio alguno, por lo anterior, Kubrakova *et al* (1994) especieron cromo tri y hexavalente en un cuerpo de agua.

La separación de las especies Cr (III) y Cr(VI) presentes en el agua de río, se realizó por adsorción (formación de un complejo con los grupos aminocarboxílicos) a pH diferente en un sorbente Detata (sólido polimérico en una base de poliestireno) con

calentamiento en un horno de microondas. Después de un proceso de desorción en la columna, las determinaciones se realizaron por Electrothermal Atomic Absorption Spec-

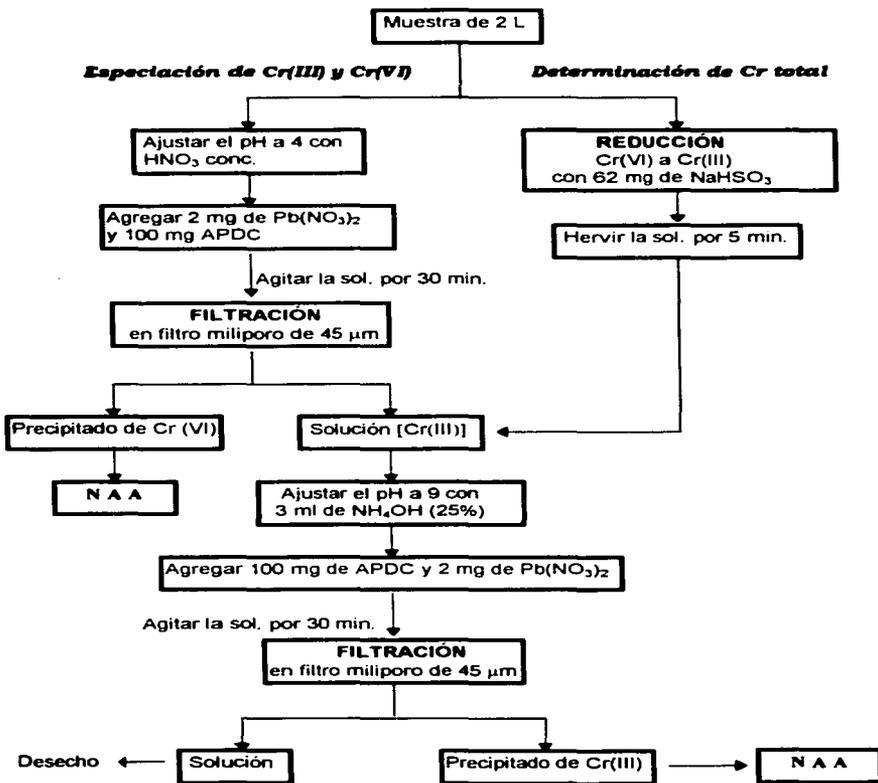


Figura 2.3.2.6. Esquema de especiación de cromo tri y hexavalente, y determinación de cromo total.

trometry (ETAAS). La muestra de agua se pasó a través de un filtro membrana, parte del filtrado se ajustó a pH 7 para determinar Cr(III) y otra porción se acidificó a pH 3 para determinar Cr(VI), cada una de las especies se analizó siguiendo el diagrama analítico que se presenta en la *figura 2.3.2.7*.

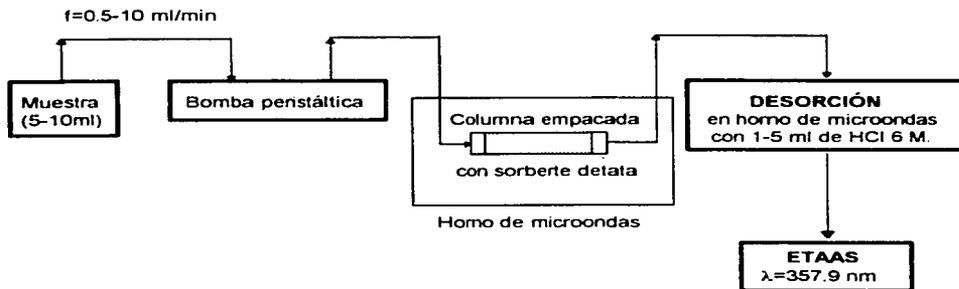


Figura 2.3.2.7. Diagrama analítico para determinar Cr(III) y Cr (VI) por adsorción en un sorbente a diferente pH.

El uso del horno de microondas permitió intensificar los procesos de formación del complejo y adsorción, resultando una determinación cuantitativa para cada una de las especies al pH estudiado. El contenido de cromo en el agua de río fue 40.4 y 39.5 ng/L de Cr(VI) y Cr (III), respectivamente. El límite de detección para las dos especies estudiadas fue 30 ng/L.

Sperling *et al* (1992) consideran que el conocimiento de las especies químicas y el estado de oxidación de los elementos en traza ubicados en cuerpos de agua, es importante en el aspecto ambiental y geológico, por lo cual realizaron un estudio de especiación de cromo tri y hexavalente en agua natural, separando el Cr (VI) por quelatación con NaDDTC (sodium diethyldithiocarbamate) y determinando el cromo total por oxidación de Cr (III) a Cr(VI) en la muestra.

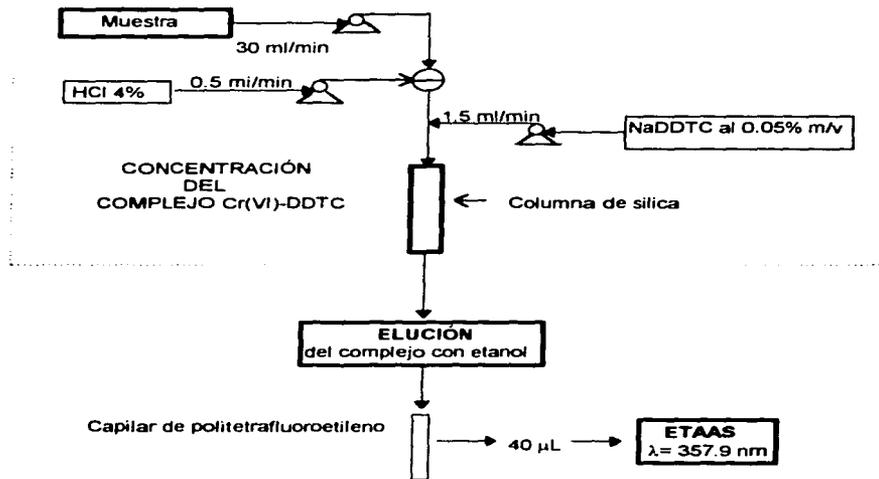
Las muestras de agua se obtuvieron del Lago Constance, Alemania. El material utilizado fue lavado con HNO_3 diluido (1+1) y enjuagado con agua desionizada. El procedimiento analítico realizado se resume en la *figura 2.3.2.8*. El Cr(VI) complejoado con NaDDTC se concentró en una columna de sílica. El complejo de Cr(VI) se eluyó de la columna con etanol y se colocó en un capilar para analizarse por ETAAS (Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry). El contenido de Cr total en la muestra se determinó oxidando el Cr(III) a Cr(VI) con peroxodisulfato de potasio. La especie Cr(III) se determinó por diferencia de las mediciones realizadas [Cr(t)-Cr (VI)].

En el estudio de especiación se seleccionaron las condiciones óptimas para la extracción de Cr (VI) en el sorbente y oxidación de Cr (III) a Cr (VI). La solución de NaDDTC para complejar el Cr(VI) fue al 0.05%, mientras que el HNO_3 al 4% (v/v) permitió una adecuada extracción del complejo Cr(VI)-DDTC en el sorbente. Los mejores rendimientos para la oxidación del Cr(III) a Cr(VI) se obtuvieron con una solución de peroxodisulfato de potasio 5 M a pH 9. La concentración de cromo total detectada en el Lago Constance fue de 0.164 $\mu\text{g/L}$. Los límites de detección de la técnica fueron de 16 y 18 ng/L para Cr (VI) y Cr total, respectivamente.

Beaubien *et al* (1994) consideran importante la especiación de cromo por las propiedades tóxicas del metal en sus diferentes estados de oxidación, por consiguiente realizaron un estudio para determinar Cr orgánico e inorgánico en agua de lago, para lo cual utilizaron una resina de intercambio iónico para separar las especies y GFAAS (Graphite Furnance Atomic Absorption Spectrometry) para analizarlas.

Las muestras de agua del Lago Ontario se colocaron en recipientes de polietileno previamente lavados con agua-ácido (HCl) y se guardaron a 4 °C. En la *figura 2.3.2.9* se muestra la metodología analítica para el estudio de especiación. La muestra filtrada se pasó a través de la resina de intercambio aniónico para separar las especies. Las especies aniónicas de Cr(VI) y Cr orgánico coloidal se retuvieron en la resina, mientras que el Cr(III) quedó en solución y después de acidificarlo se determinó por GFAAS. El Cr(VI) se eluyó de la resina con una solución de HAH (Hydroxylamine hydrochloride) y

a



b

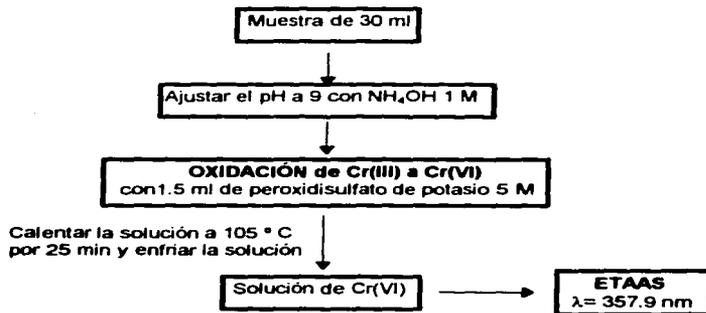


Figura 2.3.2.8. Diagrama esquematizado para determinar el cromo hexavalente(a) y cromo total (b).

el Cr orgánico coloidal con HNO_3 4M. Las dos soluciones con cada especie se acidificaron y se analizaron por GFAAS.

El estudio de especiación de cromo en el agua del Lago Ontario reveló que el Cr(VI) fue la especie predominante. El contenido de Cr(VI) fue de 75-80% del total, mientras que el Cr orgánico coloidal representó el 10%. El Cr(III) se consideró de bajo límite de detección. Los límites de detección fueron de 21, 4 y 21 ng/L para Cr(VI), Cr(III) y Cr orgánico coloidal, respectivamente.

c) Aplicación en muestras de suelo

A continuación se citan algunas metodologías de especiación de cromo en suelo con el propósito de mencionarlas para quién esté interesado en el tema, ya que no es el propósito de este trabajo.

La especiación de Cr (III) y Cr(VI) inorgánico en extractos de suelo con alto contenido de materia orgánica fue estudiada por Flores, 1992. La determinación de Cr total en el suelo se llevó a cabo por AAS (Atomic Absorption Spectrometry) después de realizar una digestión ácida. La separación de las especies se realizó al extraer el Cr(VI) con tris [(hidroximetil)-aminometano] a pH 13 y determinándolo por Polarografía Diferencial de Impulsos (PDI). Los límites de detección obtenidos fueron de 9.15×10^{-7} M, 1.59×10^{-5} M y 2.85×10^{-5} M para Cr total, Cr (VI) y Cr (III), respectivamente.

La especiación de Cr (VI) y Cr (III) en muestras de polvo (suelo muy fino) con diferente contenido de materia orgánica y diferente pH la realizó Cram, 1995. La separación de Cr (VI) se logró al extraer la especie con Tris (hidroximetil-aminometano) a pH 13 y, posteriormente, analizada con PDI. El Cr total se determinó directamente con AAS. La especie Cr (III) se cuantificó por la diferencia entre Cr total y Cr (VI). Se demostró que

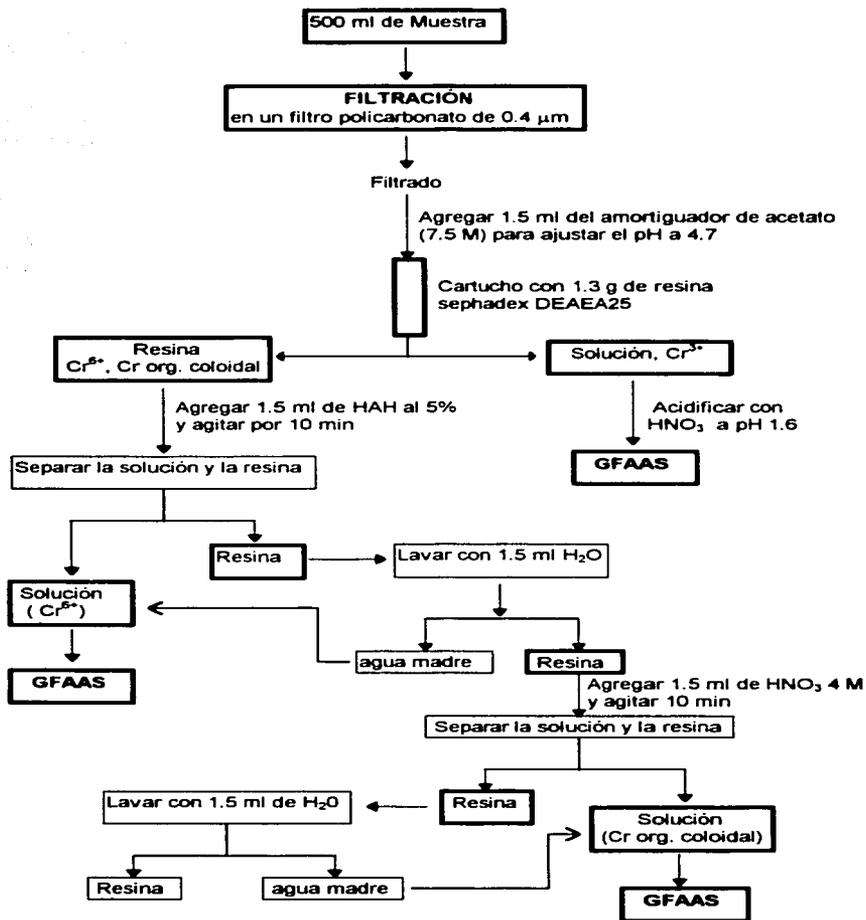


Figura 2.3.2.9. Diagrama de flujo para la determinar las especies de cromo inorgánico (III, VI) y orgánico coloidal.

utilizando el sistema de extracción a las condiciones citadas se obtiene un porcentaje de extracción de 98.8 a 99.5% del Cr hexavalente.

2.3.3 Análisis de las metodologías analíticas de Cr

Las metodologías aplicadas a muestras naturales y sintéticas analizaron Cr (III), Cr (VI) y Cr total. El principal interés de las investigaciones se orientó a determinar la especie que tiene importancia toxicológica (cromo hexavalente), sin embargo, no todas las metodologías permiten determinar esta especie en forma directa. La mayoría determinaron ya sea Cr (III) ó Cr (VI), y Cr total, de tal forma que la especie sin determinarse se cuantificó por diferencia de estas.

Además de analizar Cr inorgánico, dos metodologías analíticas determinaron Cr orgánico; Beaubien *et al* (1994) determinaron en la muestra Cr coloidal y El-Wakil *et al* (1993) determinaron Cr en compuestos orgánicos como oxinato y acetilacetato.

En los estudios de especiación de cromo se utilizaron generalmente recipientes de polietileno, los cuales se lavaron con solución ácida diluida (ácido nítrico, principalmente) y se enjuagaron con agua destilada o deionizada. Las concentraciones de Cr en las soluciones sintéticas de la mayor parte de los estudios fueron de $\mu\text{g/L}$. La preservación de las muestras no se mencionó, a excepción de Powell *et al* (1995) que preservaron las muestras agregando HNO_3 .

La conservación de las muestras naturales no se citó por la mayoría de las metodologías descritas. Beaubien *et al* (1994) conservaron muestras de agua de lago en contenedores de polietileno bajo refrigeración a 4 °C.

Es importante mencionar que todos los estudios de especiación de Cr se realizaron utilizando una variedad de metodologías analíticas, no obstante, los métodos de

separación más empleados fueron cromatografía de intercambio iónico, adsorción y líquidos. Los métodos de detección también fueron diversos, destacándose AAS e ICP. Los límites de detección que se lograron obtener en la mayoría de la técnicas fueron de ng/L en los dos tipos de agua estudiadas.

En general las metodologías no informan interferencias. La metodología descrita por Gammelgaard *et al* (1992) notifica interferencia debido al ion Fe^{2+} , el cual fue eliminado por la adición de EDTA.

2.4 Espectación de mercurio

El mercurio es un metal que se encuentra distribuido en la naturaleza en pequeñas concentraciones. La abundancia en la corteza terrestre es del orden de 50 ppb. El mercurio se considera un elemento calcófilico, es decir, tiende a concentrarse en sulfuros. En la naturaleza se halla formando minerales, principalmente α -sulfuro mercúrico (α -HgS) (Bodek *et al*, 1988). Otros minerales de mercurio son corderoita ($\text{Hg}_3\text{S}_2\text{Cl}_2$), antimonita (HgSb_4S_9), óxido mercúrico (HgO), oxiclورو de mercurio (Hg_2OCl), cloruro de mercurio (HgCl) y β -sulfuro mercúrico (β -HgS), sales que se encuentran generalmente en depósitos de mercurio. Además, el mercurio tiende a formar amalgamas casi con todos los metales, excepto con hierro (Kirk-Othmer, 1995).

Las aguas superficiales generalmente contienen menos de 0.1 ppb de Hg total. El contenido promedio de mercurio en aguas marinas se halla en el intervalo de 0.1 a 1.2 ppb. En suelos, el contenido promedio es cerca de 100 ppb, fluctuando de 30 a 500 ppb (Kirk-Othmer, 1995).

El mercurio pertenece a la serie de metales de transición. El Hg exhibe tres estados de oxidación en el ambiente: $+1(\text{Hg}^{+2})$, $+2(\text{Hg}^{+2})$ y cero (Hg liq.). El mercurio puede combi

narse con cloro, oxígeno y carbono para formar compuestos inorgánicos y orgánicos. En los compuestos inorgánicos el mercurio se encuentra en las formas iónicas Hg^{2+} (sales mercúricas) y Hg^+ (sales mercurosas). Los compuestos de mercurio orgánicos son de diversas estructuras químicas, donde el Hg forma un enlace covalente con carbono. Los grupos principales son alquilmercurio (metilmercurio y etilmercurio), arilmercurio (fenilmercurio) y alcoxialquilmercurio. Los cationes de mercurio orgánico forman sales con ácidos inorgánicos y orgánicos, por ejemplo cloruros y acetatos (Merian *et al.*, 1991). La distribución de las especies de Hg en un sistema acuoso dependiendo de las condiciones de pH y potencial de óxido-reducción (E) se muestra en la *figura A1-4*.

La presencia de mercurio en el medio ambiente proviene de fuentes naturales y antropogénicas. La fuente natural de mercurio en la atmósfera es originada por la emisión volcánica y erosión del suelo. Las fuentes antropogénicas de mercurio son principalmente la minería, combustión del combustible fósil, producción de cemento y fundición de hierro y otros metales (Seiler *et al.*, 1994). El mercurio se usa principalmente en la forma líquida elemental y en amalgamas con metales. El mayor uso es en aparatos eléctricos (~42%) como metal y en amalgamas de Zn-Hg y Cd-Hg. Otras aplicaciones son en la manufactura de pintura, instrumentos industriales y de control (Hg liq), reparaciones dentales (Ag-Hg, Sn-Hg), y en la producción de catalizadores, fungicidas, bactericidas, pigmentos, explosivos y farmacéuticos (Bodek *et al.*, 1988).

En el cuerpo humano el mercurio y sus compuestos pueden ser absorbidos por ingestión, adsorción a través de la piel y por inhalación del vapor. La toxicidad del mercurio depende de la especie química que forme y del estado de oxidación del elemento en ésta. Los compuestos inorgánicos de Hg, compuestos de arilmercurio y alcoximercuriales generalmente se consideran de toxicidad similar; sin embargo, los compuestos de alquilmercurio son considerados de mayor toxicidad y peligro (Kirk-Othmer, 1995). La propiedad tóxica del mercurio se atribuye a su fuerte afinidad por los grupos sulfhidrilo en proteínas, enzimas y albúmina (Manahan, 1993). Los compuestos

alquilmercurio afectan el sistema nervioso central y se acumulan en el cerebro causando temblor físico y síntomas psicopatológicos como timidez, insomnio, depresión e irritabilidad (Bodek *et al.*, 1988). Con los estudios toxicológicos realizados no se ha demostrado que el mercurio cause cáncer en los humanos (Hg ATSDR, 1990).

Debido a que el mercurio representa riesgos ambientales de contaminación y toxicológicos, los estudios realizados enfocan su atención hacia el análisis del metal y sus especies, para conocer el origen y causa de su presencia en el medio estudiado. El análisis de las especies se realiza principalmente en agua y suelo, ya que éstas representan riesgo ambiental.

A causa del impacto ambiental que ha revelado el mercurio y al incremento de la concentración en diferentes medios naturales, se han establecido normas de calidad para aire y agua principalmente. En México la NOM-127-SSA1-1994 establece que el agua de consumo humano no contenga más de 0.001 mg/L de mercurio, valor que es acorde con lo establecido por la Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología, de acuerdo con los criterios ecológicos de calidad de agua CE-CCA 001/89.

2.4.1 Principios y métodos

En ésta sección se citan principalmente los estudios de especiación de mercurio aplicados a muestras acuosas, sean sintéticas o naturales. Se mencionan brevemente en la parte final estudios de especiación de mercurio aplicados a una variedad de muestras, así como suelo, sedimentos, líquenes, muestras marinas y en varios medios (sangre, pescado, grano, cabello, leche, orina).

Las formas de Hg inorgánicas y orgánicas se analizan en los dos tipos de muestras acuosas mediante diferentes métodos de separación y detección. En general, las

metodologías consideran dos etapas principales de análisis, que es la separación de las especies y la determinación de éstas.

El análisis de especies inorgánicas y orgánicas de mercurio en soluciones estándares sintéticas se realizó por una variedad de métodos de separación y detección. El empleo de propiedades de óxido-reducción, complejación y formación de derivados permitieron identificar las diferentes especies. Los métodos de detección fueron principalmente espectrofotométricos (AAS).

Autores como Bulska *et al* (1991) usaron un reactivo de Grignard para formar derivados butilados de cloruro de metilmercurio y cloruro de etilmercurio, después separaron las especies por GC (Gas Chromatography) y las analizaron por MPD (Microwave Induced Plasma Emission Detection) y ECD (Electron Capture Detection). Sarzanini *et al* (1994) formaron complejos catiónicos de metilmercurio y etilmercurio con cisteína en una columna ion cromatográfica, después, en ésta misma, se separaron y se determinaron por dos sistemas de detección: CVAAS (Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry) y UV (Ultraviolet).

El uso de HPLC (High Performance Liquid Chromatography) para separar especies de mercurio (metilmercurio, etilmercurio y Hg inorgánico) en base a sus diferentes tiempos de retención, y utilizando CVAAS para analizar las especies eluidas se citó por Munaf *et al*, 1990. Goulden *et al* (1980) emplearon un sistema automatizado con diferentes condiciones reductoras para analizar Hg inorgánico (EDTA + agua), metilmercurio (EDTA + SnCl₂) y Hg total (CdCl₂ + SnCl₂), y cuantificaron las concentraciones de las especies al medir la absorbancia de las soluciones.

Los estudios de especiación de mercurio en aguas naturales describen diferentes métodos de separación, aún cuando los métodos de detección utilizados fueron semejantes a los empleados en muestras sintéticas.

Emteborg *et al* (1993) describieron la determinación de mercurio inorgánico y orgánico utilizando una serie de pasos analíticos: preconcentración, elución, complejación, extracción y la formación de derivados butilados, que posteriormente fueron separados por GC y analizados por MPD (Microwave-Induced Plasma Emission Detector). Posteriormente, Emteborg *et al* (1995) realizaron la determinación de metilmercurio y Hg inorgánico utilizando la metodología analítica descrita hace dos años, con la diferencia de que el análisis fue aplicado a una muestra acuosa rica en sustancias húmicas.

Schintu *et al* (1989) utilizaron ditizona en cloroformo para extraer las especies de mercurio en agua, posteriormente se recuperaron por medio de las soluciones de nitrito de sodio (Hg inorgánico) y tiosulfito de sodio (metilmercurio), y finalmente las concentraciones de las especies en solución se analizaron por CVAAS después de haber sido reducidas con una solución de $\text{SnCl}_2\text{-CdCl}_2$. Minagawa y Takizawa (1980) utilizaron diferentes condiciones de reducción para analizar Hg inorgánico (SnCl_2) y Hg total ($\text{SnCl}_2\text{-CdCl}_2$) en el efluente obtenido de la columna de preconcentración de la muestra, y determinaron la concentración de las especies reducidas por CVAAS. Jian Wei y Mcleod (1992) emplearon una columna empacada con algodón que contenía grupos sulfhidrilo como medio de separación de metilmercurio del mercurio inorgánico; después de haber sido reducidas las dos especies con SnCl_2 se analizaron las concentraciones por AFS (Atomic Fluorescence Spectrometry).

2.4.2 Metodologías analíticas

a) Aplicación en muestras sintéticas

La especiación química de mercurio en muestras sintéticas fue realizada por Goulden *et al* (1980), los cuales emplearon un sistema automatizado con diferentes condiciones

de reducción para determinar Hg inorgánico, arilmercurio (fenilmercurio) y alquilmercurio (metilmercurio).

La concentración de cada una de las especies de Hg en el estudio fue de 0.2 µg/L. La preservación de las muestras se realizó agregando ácido sulfúrico (1%) y dicromato de potasio (0.05%). Los sistemas analíticos automatizados para la determinación de Hg total y Hg orgánico e inorgánico se muestran en las figuras 2.4.2.1 y 2.4.2.2, respectivamente. La determinación de Hg total (figura 2.4.2.1) se inició con la digestión de la muestra con K₂S₂O₈ (peroxidisulfato de potasio) para convertir todas las formas de Hg a mercurio inorgánico. La muestra digerida se calentó con hidroxilamina-cloruro de sodio a 90 °C para obtener el Hg en fase vapor. Después de separar el líquido, el Hg gaseoso paso a través de un horno de combustión para destruir el material orgánico. Finalmente, se midió la absorbancia del Hg gaseoso después de eliminar la humedad.

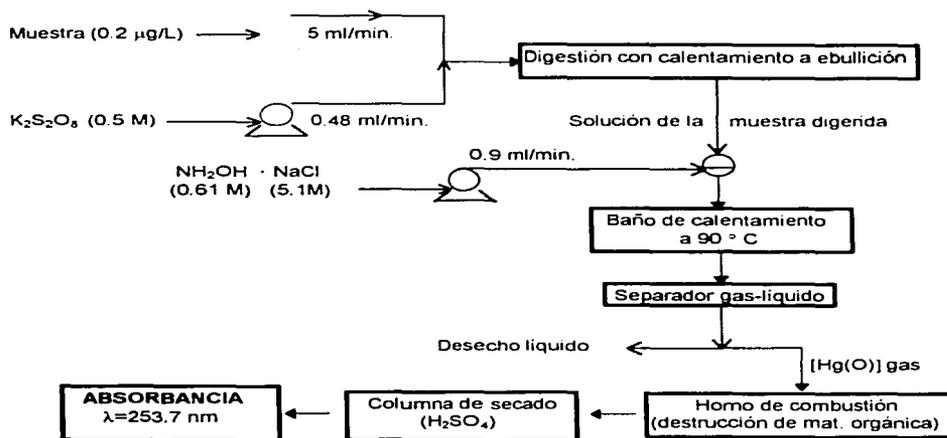


Figura 2.4.2.1. Procedimiento analítico automatizado para analizar el Hg total en la muestra.

El procedimiento para determinar Hg inorgánico y orgánico se muestra en la *figura 2.4.2.2*. La muestra se mezcló con hidroxilamina-cloruro de sodio, luego se añadió uno de los reactivos reductores (I, II, III) dependiendo de las condiciones de reducción requeridas. El uso de los reactivos I, II, III en el estudio de especiación fue el siguiente: el reactivo I (EDTA y agua) con hidroxilamina redujo el Hg inorgánico a Hg (O), el reactivo II (EDTA y SnCl₂) redujo el Hg inorgánico y compuestos de arilmercurio (fenilmercurio) a Hg (O), y el reactivo III (SnCl₂ y CdCl₂) redujo todas las formas de mercurio (orgánico e inorgánico) a mercurio elemental. La comparación de los resultados de las tres determinaciones permitió diferenciar las tres especies de mercurio.

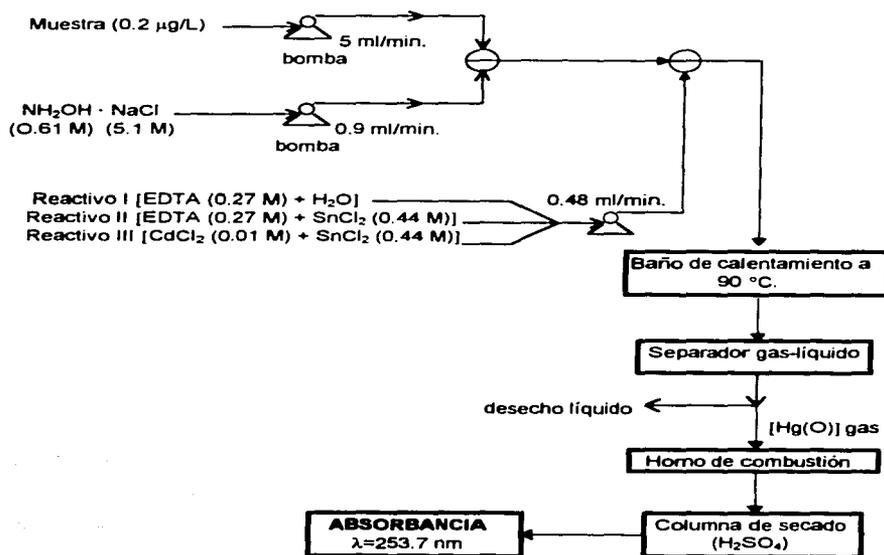


Figura 2.4.2.2. Procedimiento analítico automatizado para determinar Hg inorgánico y orgánico.

La aplicación del método analítico automatizado permitió analizar las diferentes especies de mercurio. Las desviaciones estándares obtenidas en las determinaciones de Hg total fueron 1.2, 1.9, 2.3 y 5% a las concentraciones de 200, 50, 20 y 10 ng/L de Hg, respectivamente. El límite de detección fue aproximadamente de 1 ng/L de Hg para las especies inorgánica y orgánica.

Las interferencias del método que se observaron se debieron a materiales orgánicos volátiles como benceno, cual fue destruido en el horno de combustión; sin embargo, la presencia de altos niveles de cloruro interfirieron en el proceso de oxidación del benceno. La metodología descrita fue posteriormente aplicada a muestras de agua de lago y de lluvia.

La separación de las especies butiladas de mercurio se realizó Bulska *et al* (1991) aplicando GC (Gas Chromatography) capilar y utilizando dos medios de detección: ECD (Electron-Capture Detection) y MPD (Microwave-Induced Plasma Emission Detection).

La investigación se llevó al cabo con soluciones estándares de cloruro de metilmercurio (0.1 mg/L) y cloruro de etilmercurio (0.14 mg/L). Las soluciones se conservaron a 4 °C en la oscuridad. El cloruro de etilmercurio (EtHgCl) y cloruro de metilmercurio (MeHgCl) en tolueno fueron butilados con un reactivo de Grignard (cloruro de butilmagnesio), después las especies butiladas fueron inyectadas al sistema GC para separarlas y posteriormente ser determinadas en ECD y MPD. Los pasos analíticos se muestran en la *figura 2.4.2.3*.

Las especies butiladas de mercurio fueron adecuadamente separadas y analizadas por los dos sistemas estudiados. El límite de detección para MeHg y EtHg butilado fue 0.8 y 1.3 pg, respectivamente, empleando ambos sistemas de detección. Los problemas que se observaron se relacionaron con los procesos de descomposición parcial e intercambio iónico de las especies en la columna. Posteriormente, el estudio se aplicó

a la determinación de especies de mercurio en un material referencia de tejido de pescado.

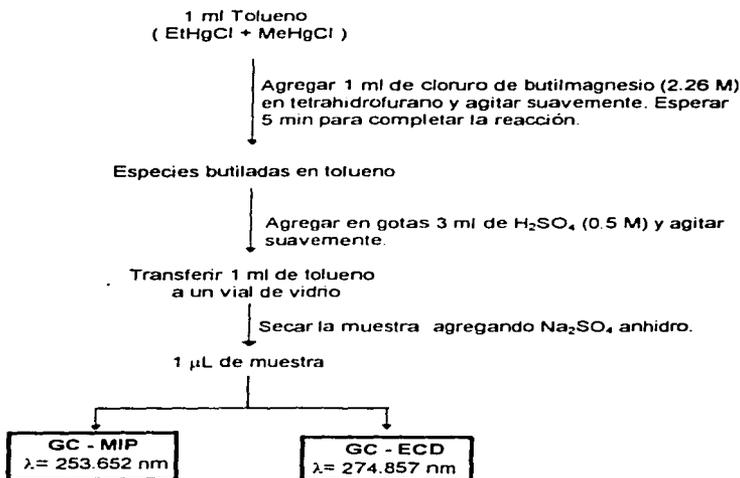


Figura 2.4.2.3. Diagrama analítico para separar y determinar las especies EtHgCl y MeHgCl.

Sarzanini *et al* (1994) especieron Hg en muestras sintéticas al complejar las especies con cisteína en una columna ion cromatográfica y separar en ésta misma las especies formadas (complejos cisteína-Hg). Los complejos catiónicos cisteína-Hg después de ser eluidos de la columna fueron determinados por CVAAS (Cold Vapour Atomic Absorption-Spectrometry) y UV (Ultraviolet - Visible).

Las soluciones de trabajo se prepararon a partir de soluciones estándares "stock" de metilmercurio, etilmercurio y mercurio inorgánico. Las soluciones estándares de metilmercurio y etilmercurio se diluyeron en metanol, y para Hg inorgánico se utilizó agua. Todas las soluciones se guardaron en refrigeración y en la obscuridad. El

procedimiento para la formación y separación de los complejos cisteína-Hg catiónicos se muestra en la *figura 2.4.2.4*. La muestra se inyectó al flujo del eluyente que la trasladó a la columna, en la cual se formaron los complejos catiónicos de cisteína-Hg y se separaron por sus diferentes tiempos de retención. Las fracciones cromatográficas obtenidas fueron reducidas (tetrahidroborato de sodio) y analizadas por CVAAS y UV.

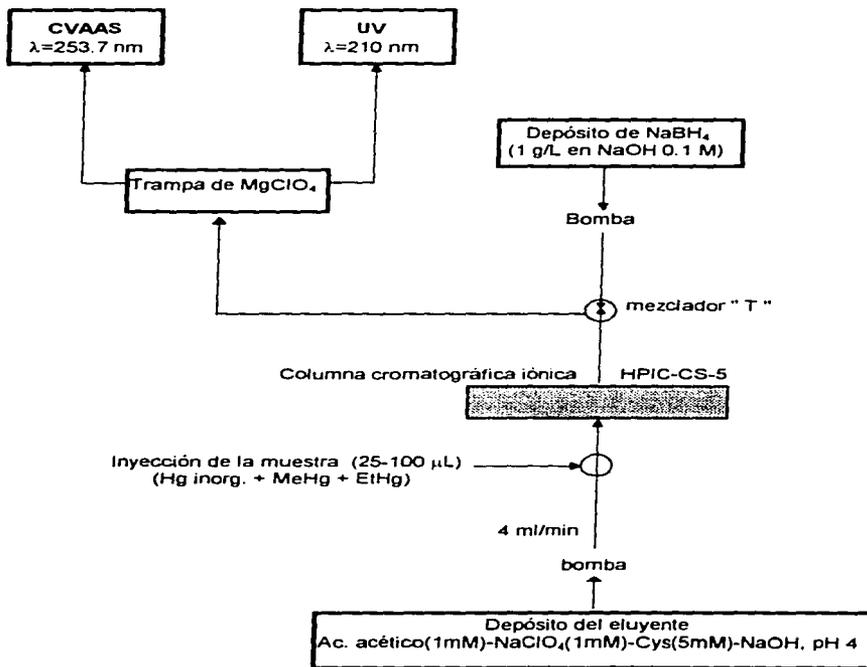


Figura 2.4.2.4. Procedimiento analítico para separar y determinar los complejos catiónicos cisteína-Hg de Hg inorgánico, metilmercurio y etilmercurio.

En el estudio se analizó la influencia de la concentración de cisteína y la composición del eluyente (ácido acético-perclorato de sodio-cisteína-hidróxido de sodio a pH 4). La concentración de cisteína influyó en el comportamiento cromatográfico de las especies de mercurio, principalmente en Hg inorgánico; así, la concentración óptima de cisteína fue 5.0 mM. La formación de los complejos catiónicos cisteína-Hg fueron dependientes del pH y de la fuerza iónica del eluyente.

Los tiempos de retención de las especies en la columna cromatográfica fueron 2.6, 3.6 y 6.6 min para metilmercurio, etilmercurio y Hg inorgánico, respectivamente. Las desviaciones relativas fueron para metilmercurio 0.5%, y para etilmercurio y mercurio inorgánico 0.4%. El límite de detección en una muestra de 100 ml fue 2, 10 y 4 ng para mercurio, metilmercurio y etilmercurio, respectivamente. El método estudiado fue aplicado a una muestra del agua de grifo y se obtuvieron resultados satisfactorios.

Debido a la toxicidad del mercurio, especialmente del metilmercurio, la identificación de las especies de este elemento es importante y necesaria. Por tal motivo, Munaf *et al* (1990) realizaron un estudio con la finalidad de analizar metilmercurio, etilmercurio y mercurio (II) en muestras sintéticas, y posteriormente aplicarlo a muestras de agua residual.

Las soluciones se prepararon a partir de soluciones estándares stock. La concentración de los cloruros de mercurio(II), metilmercurio y etilmercurio fue de 4 ng/L de Hg en una solución de ácido clorhídrico 0.1M.

El procedimiento (*figura 2.4.2.5*) inicia con la preconcentración de las especies en una columna Develosil-ODS, de aquí se eluyeron con cisteína-ácido acético hacia la columna de separación STR-ODS-H. Las especies separadas se mezclaron con un agente oxidante (peroxidisulfato de potasio-sulfato de cobre) para convertir el mercurio orgánico en iones mercurio (II), luego fueron reducidas con SnCl₂/KOH para determinarlas en la forma Hg(O) por CVAAS (Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry).

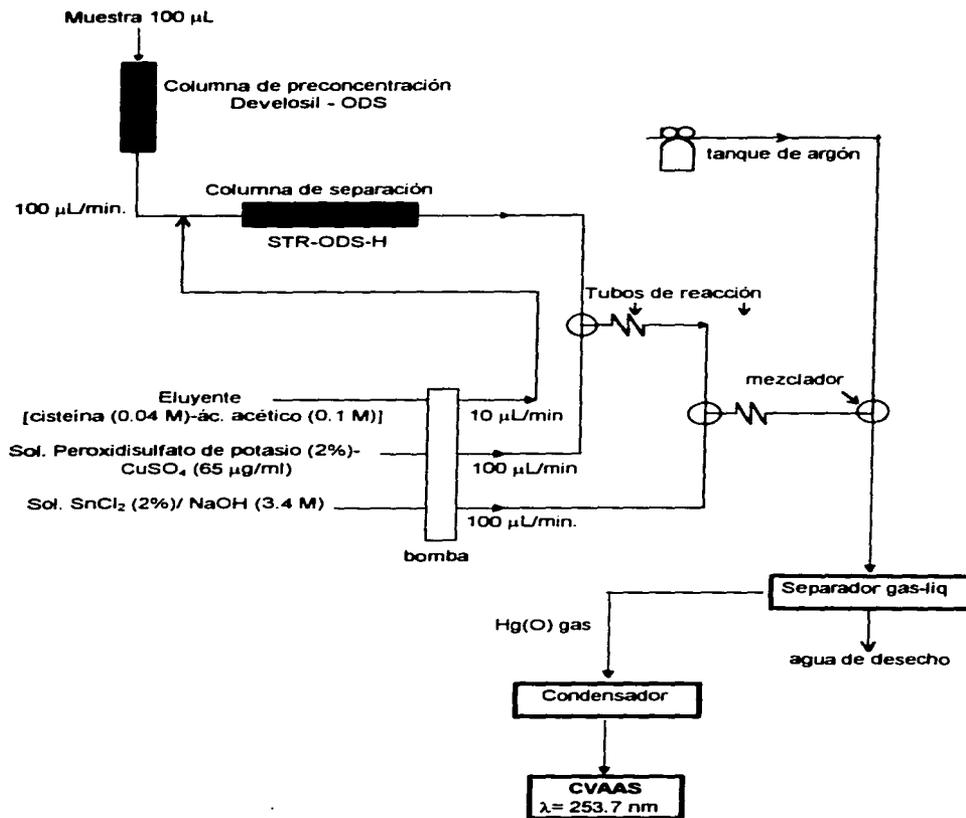


Figura 2.4.2.5. Procedimiento esquematizado de cromatografía líquida-CVAAS para determinar mercurio (II), metilmercurio y etilmercurio.

Las condiciones analíticas de concentración y composición tanto del agente reductor como oxidante fueron optimizadas en el estudio. Las especies cloruro de mercurio (II), cloruro de metilmercurio y cloruro de etilmercurio fueron adecuadamente separadas, llevándose a cabo la determinación en un tiempo menor de 16 min. Los tiempos de retención obtenidos fueron 3.6, 6.8 y 13.8 minutos para los cloruros de mercurio (II), metilmercurio y etilmercurio, respectivamente. El límite de detección de mercurio fue de 0.1 ng.

El análisis de una muestra de agua residual se analizó por el método anteriormente descrito. Los tiempos de retención de algunos de los picos en el cromatograma coincidieron con aquellos obtenidos por soluciones estándares de compuestos de mercurio, por lo que se infirió que en el agua residual se encuentran presentes esas especies (HgCl_2 , CH_3HgCl y $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{HgCl}$).

b) Aplicación en muestras de agua natural

Schintu *et al* (1989) analizaron las especies de metilmercurio y Hg inorgánico en muestras de agua superficial (dulce). La presencia de las especies de Hg y su toxicidad que representan para los sistemas acuáticos fue el motivo de la investigación. La separación de las especies metilmercurio y Hg inorgánico se realizó por medio de extracciones selectivas para cada especie, y su detección fue en CVAAS (Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry).

Las muestras de agua fueron extraídas de los ríos Ottawa y Gatineau, y del lago Black. Las muestras se almacenaron en recipientes de polietileno no usados y previamente lavados con ácido diluido. A las muestras se agregó H_2SO_4 preservador y para ajustar el pH a 1 ± 0.2 . Las muestras se analizaron en el transcurso de las dos horas después de la colección y siguiendo el procedimiento analítico de la *figura 2.4.2.6*.

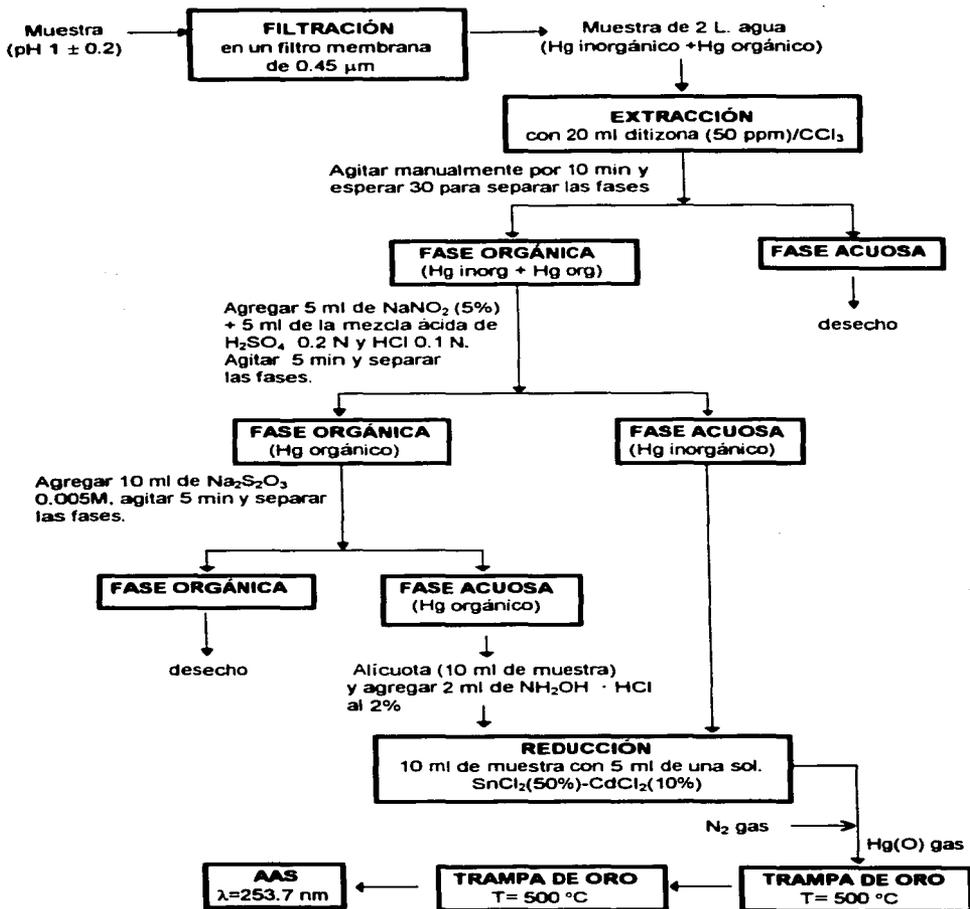


Figura 2.4.2.6. Método analítico Kudo/Schintu (1989) para determinar especies de Hg (inorgánico y metilmercurio).

A 2 L de agua filtrada se le añadió ditizona en cloroformo para extraer las dos formas de Hg (inorgánico y orgánico), después el Hg inorgánico fue re-extraído con una solución de nitrito de sodio, mientras que el Hg orgánico fue recuperado con tiosulfito de sodio. Las dos formas separadas de Hg fueron reducidas con una solución de $\text{SnCl}_2\text{-CdCl}_2$ y después de pasar por dos etapas de amalgamación, fueron determinadas por AAS (Atomic Absorption Spectrometry).

La aplicación del método Kudo/Schintu en agua natural resultó ser adecuado para separar las especies de Hg inorgánico y metilmercurio. El Hg inorgánico recuperado fue de 95 a 100%, mientras que para metilmercurio fue de 90 a 100%. La concentración de Hg total en las muestras de agua estudiadas fue de 3.5 a 11.4 ng/L. El porcentaje de metilmercurio con respecto al Hg total fue de 30% en los dos tipos de agua. Las dos etapas de amalgamación con oro permitió separar el mercurio vapor de las sustancias interferentes (iones metálicos-ditizona). El límite de detección fue de 0.1 ng/L de mercurio.

El estudio que realizaron Emteborg *et al* (1993) tuvo como objetivo desarrollar un método para determinar especies de mercurio en agua natural. Las especies de Hg inorgánico y orgánico (metilmercurio y etilmercurio) se determinaron mediante una serie de pasos analíticos: preconcentración en una minicolumna (resina ditiocarbamato), elución de la columna con tiourea ácida, extracción de la fase acuosa con tolueno, derivatización con un reactivo de Grignard (compuestos butilados), separación y determinación por GC-MPD (Gas Chromotography-Microwave-Induced Plasma Emission Detector).

La muestra de agua marina se obtuvo de la superficie de la costa de Brighton (Suecia), la muestra de agua potable se obtuvo del grifo del laboratorio y otra muestra se obtuvo del agua de un pantano. Las muestras acuosas se almacenaron en recipientes de polisulfona o de PTFE (politetrafluoroetileno) previamente lavados con una solución ácida. Ningún agente se agregó para preservar las muestras. Los diferentes pasos

analíticos que se siguieron para analizar las especies de Hg se muestran en la *figura 2.4.2.7*.

En la metodología de separación y análisis de la *figura 2.4.2.7* se usaron aguas naturales dosificando etilmercurio, metilmercurio y Hg inorgánico; cada especie en un intervalo de concentración de 8 a 20 ng/L. La recuperación de las tres especies agregadas al agua natural no fue cuantitativa, ya que aproximadamente el 10% de cada una de las especies de Hg se perdió en los pasos de extracción y derivatización. La recuperación de metilmercurio fue de 92.0, 89.5 y 4.5% en agua potable, marina y de pantano, respectivamente. En el caso de Hg inorgánico la recuperación fue de 91.9, 95.4 y 11% en agua potable, marina y de pantano, respectivamente. El etilmercurio recuperado fue de 94.5 y 94.4% en agua potable y marina, respectivamente, y la recuperación en agua de pantano no fue detectable. La baja recuperación de las tres especies en agua de pantano se debió a la gran cantidad de sustancias húmicas.

El límite de detección de MPD para metilmercurio y etilmercurio dependió de la cantidad de muestra y del volumen de inyección. El límite de detección fue de 0.05 ng/L para metilmercurio y etilmercurio, mientras que para Hg inorgánico fue de 0.15 ng/L.

Autores como Jian Wei y Mcleod (1992) realizaron la determinación de mercurio inorgánico y metilmercurio en muestras de agua natural, empleando como medio de separación una microcolumna que contenía un algodón con grupos sulfhidrilo. Los análisis se realizaron por AFS (Atomic Fluorescence Spectrometry).

Las muestras acuosas de río se almacenaron en recipientes de polipropileno, se filtraron, y el filtrado obtenido se guardó en frascos de vidrio volumétricos que contenían 1 ml de ácido clorhídrico concentrado. La muestra antes de analizarse se le ajustó el pH a 3. El tiempo entre la colección y análisis de la muestra no fue mayor de 4 horas.

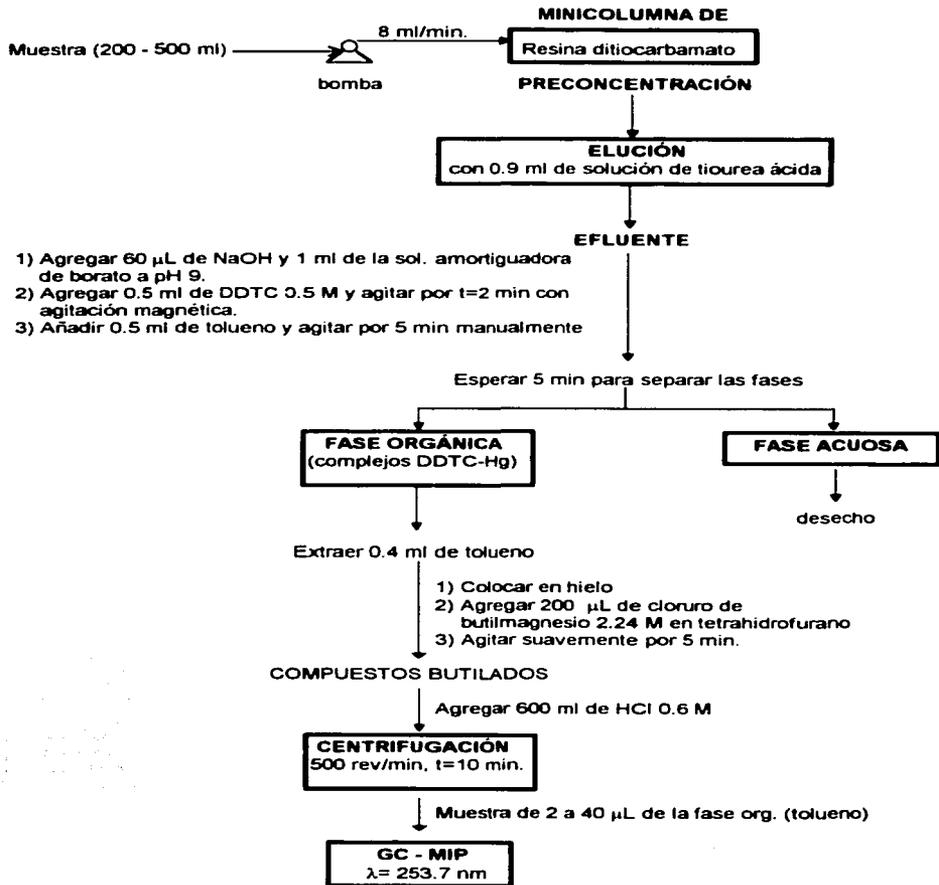


Figura 2.4.2.7. Especiación de Hg por Emteborg et al, 1993.

El diagrama del sistema FI-CV-AFS (Flow injection-Cold Vapour-Atomic- Fluorescence Spectrometry) empleado se muestra en la *figura 2.4.2.8*. La muestra que contiene las dos especies de Hg (metilmercurio y Hg inorgánico) pasa a través de la columna, donde se retiene y concentra el metilmercurio; el Hg inorgánico pasa sin retención y después se reduce con cloruro de estaño (II) (SnCl_2) para ser determinado por AFS. Después de analizar el Hg inorgánico, el metilmercurio es desorbido de la columna con HCl, luego oxidado con $\text{Br}^-/\text{BrO}_3^-$ y, finalmente es reducido con SnCl_2 para ser analizado por AFS.

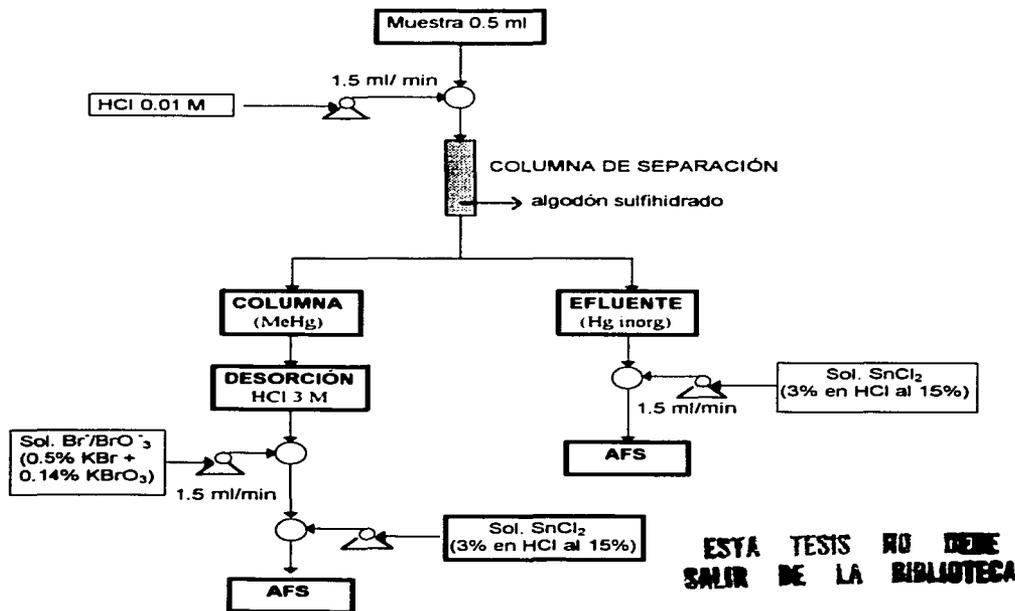


Figura 2.4.2.8. Diagrama del sistema FI-CV-AFS para analizar mercurio inorgánico y metilmercurio.

Con el propósito de estudiar la afinidad de las especies de mercurio por los grupos sulfhidrilo en la columna, se inyectaron soluciones sintéticas estándares y se verificó la fluorescencia en función del tiempo. La respuesta de las curvas de fluorescencia obtenidas indicaron que Hg inorgánico no fue retenido en la columna, ya que se observó una señal inmediata a la inyección de la muestra correspondiente a esta especie; mientras que la señal de metilmercurio no se observó hasta después del proceso de desorción.

En el estudio, se optimizaron los parámetros experimentales como pH de la muestra y volumen del eluyente (HCl). El análisis de las muestras de río revelaron bajas concentraciones de metilmercurio (0.006-0.017 $\mu\text{g Hg/L}$). El límite de detección para metilmercurio fue 6 ng/L.

La posibilidad de interferencia de otros iones en la retención de metilmercurio en la columna se estudió con muestras de agua de grifo a las cuales se agregaron soluciones estándares de metilmercurio (2.0 $\mu\text{g Hg/L}$). Se concluyó que la existencia de iones metálicos (por ejemplo Cr, As, Pb) no interfiere con la retención de metilmercurio en la columna y con el resto del método.

Minagawa y Takizawa (1980) desarrollaron una metodología analítica para determinar mercurio en la forma orgánica e inorgánica. La metodología se basó en la preconcentración de las especies con una resina quelatante, y después de los procesos de elución y reducción selectiva, fueron analizadas por CVAAS (Cold Vapour-Atomic Absorption Spectrometry).

El estudio se realizó con muestras de agua natural. Las muestras de agua de río y lago se muestrearon en recipientes de polietileno de alta densidad; la muestra final se tomó después de enjuagar tres veces los recipientes con la muestra de agua. Para preservar las muestras se agregó HAuCl_4 (ác. tetracloroaúrico) y ácido nítrico concentrado para ajustar el pH a 2. Los recipientes se lavaron con ácido nítrico (1+9) y se enjuagaron con agua destilada-desionizada antes de ser utilizados.

El procedimiento analítico esquematizado se muestra en la *figura 2.4.2.9*. La muestra pasó a través de la columna que contiene la resina quelatante para concentrar las especies, luego las dos especies son eluidas de la columna con una solución de tiourea ácida. El Hg inorgánico y total fueron determinados separadamente en alícuotas de 10 ml del efluente obtenido. La determinación de mercurio inorgánico se realizó al reducir la especie a Hg(O) con SnCl₂/KOH y determinándose por CVAAS.

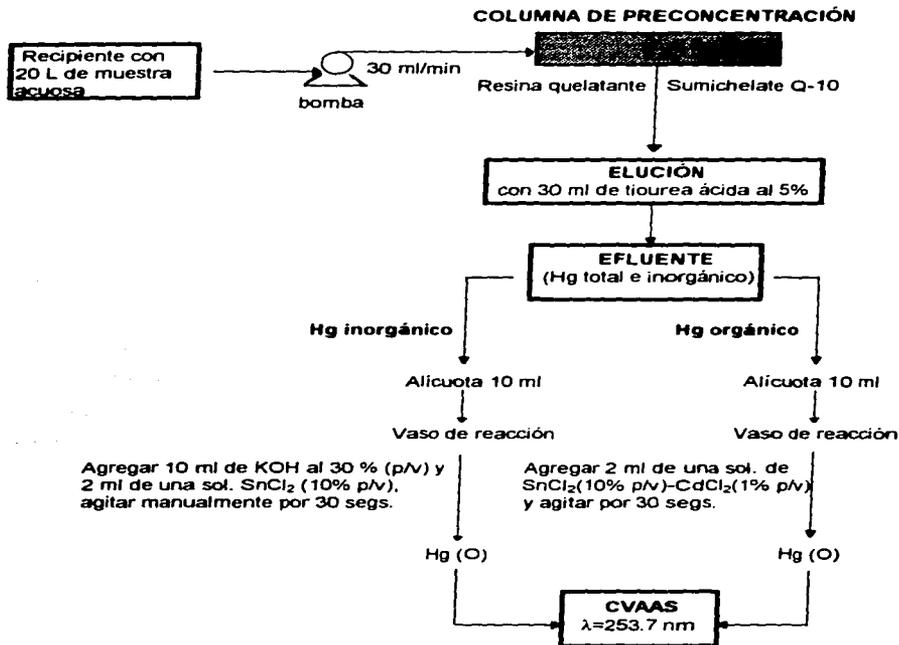


Figura 2.4.2.9. Procedimiento analítico para determinar Hg inorgánico y Hg total por Minagawa y Takizawa, 1980.

La determinación de mercurio total se realizó de igual manera, excepto que el agente reductor fue una mezcla de SnCl_2 - CdCl_2 . El mercurio orgánico (metilmercurio) se estimó por la diferencia de mercurio total y mercurio inorgánico.

Los resultados mostraron que el intervalo de concentraciones de mercurio inorgánico, orgánico (metilmercurio) y total fue de 6.5-9.0, 5.5-12.1 y 12.4-21.1 ng/L, respectivamente. El mercurio inorgánico con respecto al total fue de 35 al 60%. El intervalo en concentración de mercurio encontrado fue de 0.2 a 5,000 ng/L (partes por trillón) para una muestra de 20 litros.

Se analizó la interferencia de iones, amino ácidos y agentes quelatantes en los procesos de adsorción, desorción y reducción. La presencia de Cr^{3+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Au^{3+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , Zn^{2+} , PO_4^{3-} , Cl^- , CO_3^{2-} , NO_3^- , SO_4^{2-} , silicato, cisteína y ácido húmico, a una concentración no mayor de 1000 μg de cada uno, no interfirió en la determinación de 0.1 μg de metilmercurio.

El desarrollo de una nueva metodología para determinar metilmercurio y Hg inorgánico en agua natural rica en sustancias húmicas fue citada por Emteborg *et al.*, 1995. Las especies de Hg fueron determinadas siguiendo una serie de pasos analíticos y por último ser analizadas por GC-MIP-AES (Gas Chromatography-Microwave Induced Plasma-Atomic Emission Spectrometry). El análisis de Hg total se realizó por CV-ETAAS (Cold Vapour-Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry).

Los contenedores de las muestras y de los reactivos fueron de PTFE (politetrafluoroetileno). Las muestras que se utilizaron para la determinación de Hg total fueron almacenadas en recipientes de polisulfona, y se preservaron con 5 ml de ácido nítrico concentrado y 5 ml de una solución de dicromato de potasio al 1%. Todo el material utilizado fue lavado con ácido nítrico y agua desionizada. Las muestras acuosas se obtuvieron de diversos medios. La muestra de agua potable se obtuvo del grifo del laboratorio, otra muestra se obtuvo de la parte inferior de la superficie de un riachuelo y una muestra del desagüe de un pantano.

Con el propósito de evaluar la recuperación de las especies de Hg en el agua natural, se agregaron 5 ng/L de metilmercurio y 25 ng/L de Hg inorgánico a cada una de las diferentes muestras de agua que fueron analizadas de acuerdo al procedimiento de la *figura 2.4.2.10*. Inicialmente las muestras fueron preconcentradas por medio de los métodos de columna y "batch". El primer método preconcentró la muestra en una columna empacada con resina ditiocarbamato y se eluyó con tiourea ácida. El segundo método puso en contacto la muestra de agua y resina ditiocarbamato en un medio con agitación, posteriormente la resina se filtró y empacó en una columna, donde las especies fueron eluidas con tiourea ácida.

Las especies en solución de tiourea ácida de los dos métodos se trataron de forma similar. Las especies en solución fueron complejadas con DDTC (dietilditiocarbamato) a pH 9, luego se extrajeron los complejos DDTC-Hg en tolueno para, posteriormente, obtener derivados butilados por medio de un reactivo de Grignard. Las especies butiladas en tolueno fueron analizadas por GC-MIP-AES.

El contenido de DOC (dissolved organic carbon), que consistió principalmente en los ácidos fúlvico y húmico influyó en la recuperación de las dos especies de Hg agregadas. La recuperación de Hg inorgánico fue generalmente baja con respecto a la de metilmercurio al aumentar la cantidad de DOC. En los diferentes tipos de agua, la recuperación en porcentaje de metilmercurio y Hg inorgánico se halló dentro del intervalo de 45 a 82%. La recuperación de metilmercurio fue $82.6 \pm 5.6\%$ a una concentración de DOC de 44 mg/L, para mercurio inorgánico fue $45.8 \pm 3.3\%$ a una concentración de DOC de 12 mg/L, ambos estimados en agua potable.

Los límites de detección para metilmercurio y mercurio inorgánico fueron de 0.04 y 0.28 ng/L, respectivamente. La presencia de sustancias húmicas en el extracto final del método analítico causaron interferencias en las señales del espectro.

Método columna

Método batch

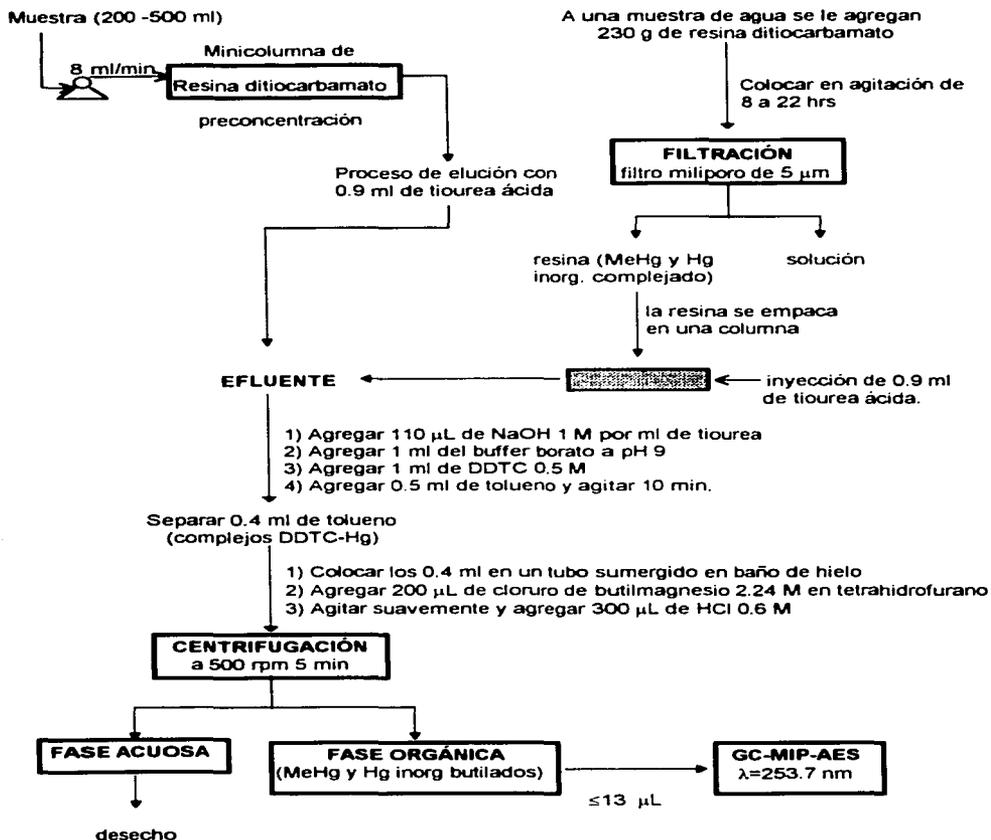


Figura 2.4.2.10. Diagrama analítico para determinar metilmercurio y Hg inorgánico en agua natural enriquecida con sustancias húmicas.

c) *Aplicación en líquenes, suelo, sedimentos, muestras marinas y en varios medios (sangre, pescado, grano, cabello, leche, orina)*

Lupsina *et al* (1992) realizaron un estudio de especiación de mercurio en líquenes hypogymnia physodes, ya que estos son considerados como bioindicadores de la contaminación del aire en Europa. El estudio permitió analizar el contenido de Hg total y metilmercurio en líquenes, y Hg total gaseoso en el aire.

El contenido de Hg total en muestras de líquen se determinó por amalgamación de oro en CVAAS (Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry) después de una descomposición ácida a presión. La determinación de metilmercurio se realizó por CVAAS después de hacer una separación por intercambio iónico. El Hg total gaseoso se muestreó en una trampa de oro y se determinó por doble amalgamación de oro y CVAAS. La cantidad de Hg en los líquenes y en el aire varió de acuerdo al área de muestreo. El contenido máximo de Hg total fue de 188.2 µg/g y 550 ng/m³ para líquenes y aire, respectivamente. El contenido de metilmercurio en líquenes correspondió a un porcentaje menor de 3.7% con respecto al total. El límite de detección en el sistema CVAAS fue de 0.1 ng.

La especiación de Hg en suelos obtenidos de sitios industriales en Alemania (depósito de cloruro de fenilmercurio; plantas de acetaldehído, fungicidas y álcalis clorados) y Slovenia (zona minera) se realizó por Hintelmann *et al*, 1995. En el estudio se determinó Hg²⁺, metilmercurio, etilmercurio, metoxietilmercurio y fenilmercurio en el suelo procedente de las zonas industriales y en el sedimento de un río cercano a estas zonas.

La determinación de Hg total se realizó digiriendo la muestra sólida (suelo o sedimento) con una solución ácida bajo calentamiento y determinando la concentración en CVAAS. Las especies de mercurio orgánicas fueron extraídas de la muestra sólida con ditiona/cloroformo, seguida de una re-extracción con una solución de tiosulfato de

sodio y, por último, se realizó la separación de las especies de **Hg** orgánico en HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Las concentraciones de las especies de **Hg** orgánico se evaluaron por medio de CVAFS (Cold Vapour Atomic Fluorescence Spectrometry) después de haber sido reducidas a Hg (O). La investigación mostró que en las zonas industriales de estudio existe una contaminación de diferentes compuestos orgánicos de **Hg**; dependiendo del tipo de muestra de suelo se encontraron las diferentes especies de **Hg**. El límite de detección del método fue 0.1 µg de Hg/kg (base seco).

La determinación de especies de mercurio orgánico en suelo se realizó Hempel *et al*, 1992. Los autores emplearon HPLC (High Performance Liquid Chromatography) inversa para separar las especies de **Hg** de acuerdo a su tiempo de retención y analizaron las fracciones obtenidas por UV (Ultraviolet).

El suelo fue "marcado" con 1 ml de una solución "cocktail" que contenía cuatro diferentes organomercuriales (metilmercurio, metoxietilmercurio, etilmercurio y etoxietilmercurio; cada especie a concentración de 1 mg/L). La muestra de suelo "marcada" se mezcló con 10 ml de un agente lixiviante a probar, después de 2 hrs. de agitación, sedimentación y filtración, el sobrenadante obtenido se sometió a un proceso de extracción con tolueno, después a una re-extracción con tiosulfito de sodio, y por último la solución obtenida se inyectó al sistema de HPLC-UV.

La separación de los compuestos orgánicos de **Hg** dependió del tiempo de retención, del gradiente de elución y pH. La separación fue posible utilizando una fase móvil de metanol-agua a pH = 5. Las especies de **Hg** fueron extraídas del suelo con diferentes agentes lixiviantes, resultando que los más convenientes fueron agua y acetato de amonio para extraer metilmercurio, etilmercurio, metoxietilmercurio y etoxietilmercurio. En cromatografía los límites de detección para los compuestos de **Hg** variaron en el intervalo de 7.0 a 95.1 µg/L, para un volumen de inyección de 25 µL.

Madrid *et al* (1995) emplearon la biomasa de levadura de pan como medio de separación de metilmercurio y Hg^{2+} inorgánico. Las determinaciones de las dos especies de Hg se realizaron por CVAAS. La levadura en solución se puso en contacto con 2.5 μg de Hg^{2+} y 5.0 μg de CH_3Hg^+ a pH 7, 37 °C y 30 minutos de incubación. Después de centrifugar, el sobrenadante [Hg(II)] y la levadura centrifugada (CH_3Hg^+) se diluyeron con agua desionizada y se analizaron por CVAAS.

El porcentaje de metilmercurio acumulado en la levadura fue de 100% y no afectó la variación del pH, temperatura, tiempo de incubación, cantidad de biomasa y analito, y presencia de iones foráneos. La metodología en condiciones óptimas se aplicó a agua de grifo, mar, río e irrigación, resultando que la recuperación de Hg^{2+} y metilmercurio en las muestras analizadas fluctuó en un intervalo de 90 a 100%.

La técnica analítica de CE (Capillary Electrophoresis) la aplicaron Medina *et al* (1993) para separar complejos de organomercurio-cisteína en una solución estándar. Las especies estudiadas fueron etilmercurio, metilmercurio, fenilmercurio y Hg^{2+} . En un capilar de electroforesis se inyectó una muestra de 27 nL que contenía los cuatro complejos organomercurio-cisteína. En la presencia de un amortiguador de borato a pH 8.35 se aplicó un potencial de 15 kv para llevar a cabo la separación de las especies. La separación de cada especie se realizó en 12 minutos y las concentraciones fueron analizadas por UV (Ultraviolet).

El orden de elución de las especies en CE fue: etilmercurio, metilmercurio, fenilmercurio y Hg^{2+} . El límite de detección del mercurio por éste método fue de 10 pg a las condiciones descritas.

Cappon y Smith (1977) informaron un método analítico para analizar mercurio inorgánico y organomercuriales en una variedad de medios: sangre, grano, pescado, cabello, leche, sedimento, tejido suave, orina y agua. La muestra íntegra o anteriormente tratada (digestión alcalina y homogeneizados acuosos) se sometió a una extracción con benceno para aislar los organomercuriales (metilmercurio, etilmercurio ,

fenilmercurio) del Hg inorgánico. Los organomercuriales en fase orgánica se sometieron a un proceso de limpieza con una solución de tiosulfato de sodio y se extrajeron en benceno, donde se agregó bromuro de cobre para formar derivados de bromuro y, finalmente ser determinados por GC-LSS (Gas Chromatography-Liquid Scintillation Spectrometry). El Hg inorgánico en la fase acuosa de la primera extracción se hizo reaccionar con tetrametilestaño para formar metilmercurio, que se extrajo en benceno y se analizó por GC-LSS.

Los organomercuriales recuperados variaron entre el límite 80 y 90%, mientras que el Hg inorgánico recuperado osciló entre 75 y 90%. El límite detectable de bromuro de organomercurio fue de 0.02 ng/10 μ L (2 ppb), que expresado como mercurio fue de 1.36, 1.30 y 1.12 ppb de metilmercurio, etilmercurio y fenilmercurio, respectivamente. En el caso de Hg inorgánico fue de 0.85 ppb.

2.4.3 Análisis de las metodologías analíticas de Hg

Las especies de mercurio estudiadas en los dos tipos de agua fueron inorgánicas (Hg inorgánico) y orgánicas (etilmercurio, metilmercurio, fenilmercurio), así como también se determinó el mercurio total. Las metodologías analíticas generalmente no determinan todas las especies, si no que realizan determinaciones que les permiten obtener la faltante por diferencia.

Los estudios realizados en la determinación de mercurio con muestras sintéticas consideraron concentraciones de mg/L, μ g/L y ng/L. Existen diferencias en la forma de conservar las muestras, Goulden *et al* (1980) añadieron ácido sulfúrico al 1%-dicromato de potasio al 0.5 %, mientras que Bulska *et al* (1991) y Sarzanini *et al* (1994) conservaron sus muestras en refrigeración y en la obscuridad.

Las metodologías analíticas aplicadas a agua natural consideraron muestras acuosas de río, lago, pantano, potable (grifo) y de mar. La preservación y almacenamiento de las muestras acuosas naturales se realizó, generalmente, añadiendo ácido y almacenándolas en recipientes de polietileno, polipropileno, polisulfona o PTFE (politetrafluoroetileno) previamente lavados con ácido diluido y enjuagados con agua destilada, desionizada o ambas. Schintu *et al* (1989) preservaron muestras de agua de río y lago añadiendo ácido sulfúrico a pH 1 ± 2 y analizaron las muestras en el transcurso de los dos días de la colección. Jian Wei y Mcleod (1992) añadieron 1 ml de HCl concentrado a muestras de agua de río, y el tiempo entre la colección y análisis no fue mayor de 4 hrs. Minagawa y Takizawa (1980) añadieron al agua de lago y río HNO_3 para ajustar el pH a 2, luego agregaron 1 mg de HAuCl_4 (ácido tetracloroaurico) como preservador y el análisis de las muestras lo realizaron en la semana de la colección. Emteborg *et al* (1995) preservaron muestras de agua potable (grifo), río y desagüe de un pantano con HNO_3 concentrado y con solución de dicromato de potasio al 1%.

Ahmed y Stoepler (1987) estudiaron la estabilidad de mercurio (II) y metilmercurio en muestras de agua marina. El estudio se realizó agregando ácido nítrico o clorhídrico al 2% (v/v) y a pH 4.0, 6.0, 8.0 y 10. A las muestras se les añadió mercurio (II) y metilmercurio a una concentración de ng/L. Las muestras "marcadas" se guardaron en la obscuridad por un período total de 3 meses y fueron analizadas a intervalos de tiempo definidos por CVAAS. Se informó que metilmercurio fue más estable a pH 10 y en presencia de HCl, mientras que mercurio (II) en presencia de ácido nítrico y a los niveles de pH estudiados, no se halló pérdida significativa de la especie.

El método de detección más utilizado para el análisis de mercurio en los dos tipos de agua fue CVAAS, aunque también destacó la detección por MPD. Los sistemas de análisis menos comunes fueron ECD, UV y AFS. Los límites de detección de las técnicas analíticas aplicadas a muestras sintéticas y naturales fueron en su mayoría de ng/L. Bulska *et al* (1991) obtuvieron el límite de detección más pequeño, que fue de pg/L para las especies analizadas en MIP y ECD.

Las interferencias para cada estudio fueron diferentes, Goulden *et al* (1980) notificaron interferencias debido a materia volátil orgánica (benceno) que absorbe la radiación de 253.7 nm de mercurio. Emteborg *et al* (1995) observaron interferencias en las señales espectrales debido a presencia de sustancias húmicas (ác. fúlvico y húmico) presentes en el extracto orgánico analizado. Bulska *et al* (1991) notificaron problemas analíticos respecto a procesos de descomposición parcial e intercambio iónico de las especies en la columna.

Los estudios realizados con muestras sintéticas, en su mayoría, evaluaron la metodología con muestras de agua residual, río, lago, lluvia y grifo.

2.5 Espectación de plomo

El plomo se encuentra en la naturaleza en muy bajas concentraciones y ocupa el 36° lugar de los elementos en la corteza terrestre (Merian, 1991). El plomo y sus compuestos se encuentran en todo el medio ambiente, por ejemplo, en plantas y animales usados como alimento, aire, agua potable, ríos, lagos, océanos, polvo y suelo (Pb ATSDR, 1990).

Los minerales de plomo más importantes son sulfuro de plomo (PbS), óxido de plomo (PbO₂), carbonato de plomo (PbCO₃) y sulfato de plomo (PbSO₄). El sulfuro de plomo se encuentra en depósitos que contienen minerales de zinc y pequeñas cantidades de cobre, hierro y una variedad de elementos en traza (Friberg *et al*, 1990).

La cantidad de plomo en el medio ambiente (agua, suelo y aire) es variable. El contenido de Pb en agua superficial (río, lago) es de 1.0 a 30 µg/L, en agua potable de 1.0 a 40 µg/L, en suelo de 5.0 a 40 µg/g (peso seco) y en aire es < 0.2 µg/cm³ (Merian, 1991). La concentración de plomo en la profundidad del océano es cerca de 0.01-0.02 µg/L, en la parte superficial es aproximadamente de 0.3 µg/L (Friberg *et al*, 1990).

El plomo pertenece al grupo 14 de la tabla periódica y presenta los estados de oxidación de 0, +2 y +4. El Pb^{4+} existe solamente en condiciones extremadamente oxidantes no usualmente encontradas en las condiciones de pH y redox del medio ambiente (Bodek *et al.*, 1988). Sin embargo, ésta especie forma el tetraetilplomo y tetrametilplomo que son los compuestos orgánicos de Pb más importantes (Friberg *et al.*, 1990).

El Pb^{2+} forma complejos con ligandos inorgánicos (OH^- , CO_3^{2-} , Cl^-) y orgánicos (ácidos fúlvicos y húmicos) presentes en sistemas acuáticos (Bodek *et al.*, 1988). En sistemas de agua natural las especies presentes de Pb(II) dependen de las condiciones redox y pH. La *figura A1-5* (anexo 1) muestra las zonas de dominio para cada especie dependiendo de las condiciones de pH y E (potencial de óxido-reducción).

La presencia de altas concentraciones de plomo en el ambiente se debe a fuentes antropogénicas. Las principales son la industria de acumuladores (60%), producción de compuestos orgánicos (tetraetilplomo) e inorgánicos (14%), manufactura de pigmentos para pintura (6.6%) y semimanufacturas (cerámicas) (Pradyot, 1992).

El plomo se ha considerado un elemento completamente tóxico para los seres vivos incluyendo al hombre. El ser humano puede exponerse al Pb a través del agua, aire o comida, donde implícitamente se encuentran el vino, whisky ilícito, pinturas y cigarro (Friberg *et al.*, 1990). La toxicidad del Pb hacia el humano se debe a la afinidad del metal por los grupos sulfhidrilos (-SH) que se encuentran en muchas enzimas; por ejemplo, inhibe enzimáticamente la dehidratasa ácida δ -aminolevulinica que es requerida para la síntesis del grupo hemo (complejo Fe(II)-porfirin en hemoglobina y citocromo) (Pradyot, 1992). El Pb puede causar efectos crónicos en el sistema renal y nervioso, además de daños en el hígado y tracto intestinal (Friberg *et al.*, 1990). El plomo todavía no se ha calificado como un elemento cancerígeno (Pb ATSDR, 1990).

Debido a que el Pb representa un riesgo para la salud, se establecieron normas de calidad de agua para consumo humano. La NOM-127-SSA1-1994 establece que el

límite permisible de plomo en el agua sea 0.025 mg/L, mientras que la Comisión Nacional del Agua (CNA, 1994) estableció como límite máximo 0.05 mg/L de plomo.

A causa de la importancia ambiental y toxicológica de las especies de plomo, en los últimos años se han desarrollado estudios para determinar la concentración y especies químicas de Pb presentes en muestras de agua, aire y suelo.

2.5.1 Principios y métodos

A continuación se citan los estudios revisados sobre la especiación de plomo en muestras de agua sintética y natural. A consecuencia de que la especiación de plomo en muestras de aire es relevante, en la parte final se citan brevemente estudios aplicados a este tipo de muestras.

Las metodologías analíticas se desarrollaron con el objetivo de determinar principalmente especies orgánicas de plomo y con menor interés en el plomo inorgánico. Las especies orgánicas comprendieron compuestos alquilplomo en la forma de etilos y metilos con Pb^{4+} , mientras que el plomo inorgánico se determinó en la forma Pb^{2+} .

A diferencia de los elementos citados con anterioridad, la especiación de plomo se realizó sin variedad de metodologías analíticas. En general, las especies de plomo se analizaron por GC-AAS (Gas Chromatography-Atomic Absorption Spectrometry) después de similares procesos de extracción, concentración y formación de derivados.

Autores como Radojevic *et al* (1986), Chau *et al* (1983) y Chakraborti *et al* (1984) aplicaron un método similar para el análisis de las especies de Pb en muestras sintéticas. El procedimiento consistió en la complejación de las especies con NaDDTC (dietilditiocarbamato de sodio), la extracción de los complejos con un disolvente

orgánico para formar insitu un derivado alquilado con un reactivo de Grignard, y por último el análisis en GC-AAS. Similarmente, Forsyth y Marshall (1983) analizaron las especies de **Pb** por complejación con ditizona, extracción en una fase orgánica para fenilar las especies y analizarlas por GC-ECD (Gas Chromatography-Electron Capture Detection).

A diferencia de los anteriores, Rapsomanikis *et al* (1986) etilaron las especies de **Pb** con NaBEt_4 (tetraetilborato de sodio) y bajo ésta forma fueron analizadas por GC-AAS. Naghmush *et al* (1995) emplearon un método diferente, extrajeron y concentraron las especies de plomo en un sólido empacado en una columna cromatográfica. Las especies fueron eluidas de la columna cromatográfica con diferentes soluciones que se analizaron posteriormente con AAS.

La especiación de **Pb** en muestras de agua natural se realizó aplicando una metodología de análisis parecida a aquellas utilizadas para muestras sintéticas. Van Cleuvenbergen *et al* (1986) y Chakraborti *et al* (1989) emplearon la misma metodología de análisis para especiar **Pb** inorgánico y orgánico. Los autores citados complejaron el **Pb** orgánico con NaDDTC y extrajeron los complejos Pb-DDTC en pentano para formar insitu derivados butilados con cloruro de n-butilmagnesio. Los derivados butilados se extrajeron en nonano para analizarlos por GC-AAS. La misma metodología de análisis fue empleada por Lobinski y Adams (1992), con la excepción del sistema de detección que fue por MIP-AES (Microwave Induced Plasma-Atomic Emission Spectrometry).

Mikac y Branica (1992) describen un método analítico diferente para determinar las especies orgánicas de **Pb** en agua. Los compuestos alquilplomo se extrajeron en hexano como complejos dietilditiocarbamatos y re-extraídos en una fase acuosa ácida, a partir de ésta se purificaron y se analizaron por DPASV (Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry).

2.5.2 Metodologías analíticas

a) Aplicación en muestras sintéticas

La determinación de plomo y iones metilplomo en muestras sintéticas se realizó por Rapsomanikis *et al*, 1986. Las especies fueron analizadas por GC-AAS (Atomic Absorption Spectrometry) después de un proceso de etilación con tetraetilborato de sodio.

Las soluciones estándares (Pb^{2+} , Me_3PbCl , Me_2PbCl_2) se prepararon a una concentración de $100 \mu g/ml$ como Pb , y fueron preparadas al día y almacenadas en frascos oscuros a una temperatura de $4^\circ C$. El sistema de especiación se muestra en la *figura 2.5.2.1*.

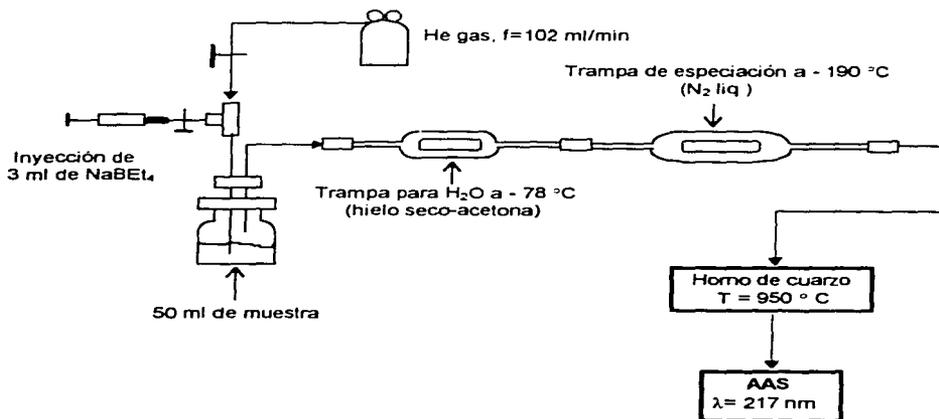


Figura 2.5.2.1. Sistema analítico para determinar plomo, trimetilplomo y dimetilplomo como derivados etilados.

A la muestra que contenía las especies de Pb ($\text{Me}_2\text{Pb}^{2+}$, Me_3Pb^+ o ambos) se le inyectó 3 ml de tetraetilborato de sodio (NaBEt_4) al 0.43% (p/v) y se agitó manualmente por 15 minutos. Las especies etiladas gaseosas fueron transportadas por He gas a una trampa para agua y luego hacia la trampa de especiación. Los compuestos fueron retenidos en la trampa criogénica que contenía como relleno cromatográfico 5.2 g de SP-2100 al 10%. Después de la remoción del N_2 líquido, la desorción de los compuestos se realizó al calentar la columna de $-190\text{ }^\circ\text{C}$ a $60\text{ }^\circ\text{C}$ en intervalos de 5 minutos aplicando 15 V. Los compuestos organoplomo volátiles fueron analizados por AAS.

Los cromatogramas obtenidos mostraron que las especies fueron separadas adecuadamente y que la sensibilidad del método fue excelente. Los tiempos de retención fueron 2.74 min para Me_4Pb , 3.46 min para Me_3EtPb , 4.27 min para $\text{Me}_2\text{Et}_2\text{Pb}$, 5.37 min para MeEt_3Pb y 7.93 min para Et_4Pb . Los límites de detección a partir de una muestra de 50 ml fueron 8.7 pg (0.18 pg/ml) de Me_3Pb^+ y 10.5 pg (0.21 pg/ml) de $\text{Me}_2\text{Pb}^{2+}$. La recuperación de una mezcla de estándares de metilplomo fue de $87 \pm 4\%$ de Me_3Pb^+ y $72 \pm 8\%$ de $\text{Me}_2\text{Pb}^{2+}$. En el estudio no se observaron reacciones de transferencia de grupos alquilo. Los autores mencionaron que la metodología es inapropiada para analizar una mezcla de especies iónicas de metiletilplomo.

Radojevic *et al* (1986) realizaron un estudio sobre especies iónicas de alquilplomo y tetraalquilplomo en muestras sintéticas, ya que éstas especies se han incrementado en el medio ambiente como resultado del uso de tetraetilplomo en aditivos para gasolina. Las especies iónicas de trialquilplomo y dialquilplomo fueron determinadas utilizando una metodología de propilación en fase orgánica y GC-AAS (Gas Chromatography-Atomic Absorption Spectrometry) para analizarlas.

Se prepararon soluciones estándares de los compuestos iónicos de alquilplomo, y posteriormente, solos o combinados se prepararon soluciones en concentración de 20 a 40 $\mu\text{g/L}$ como Pb. Las especies que se propilaron siguiendo el procedimiento de la *figura 2.5.2.2* fueron cloruros de trietilplomo, trimetilplomo, dietilplomo y dimetilplomo.

A la solución se le añadió NaDDTC (dietilditiocarbamato de sodio) para complejar las especies y extraer los complejos en n-hexano. Las especies en n-hexano se propilaron agregando cloruro de propilmagnesio, luego se llevaron a un cromatógrafo de gases para separarlas y analizarlas por AAS.

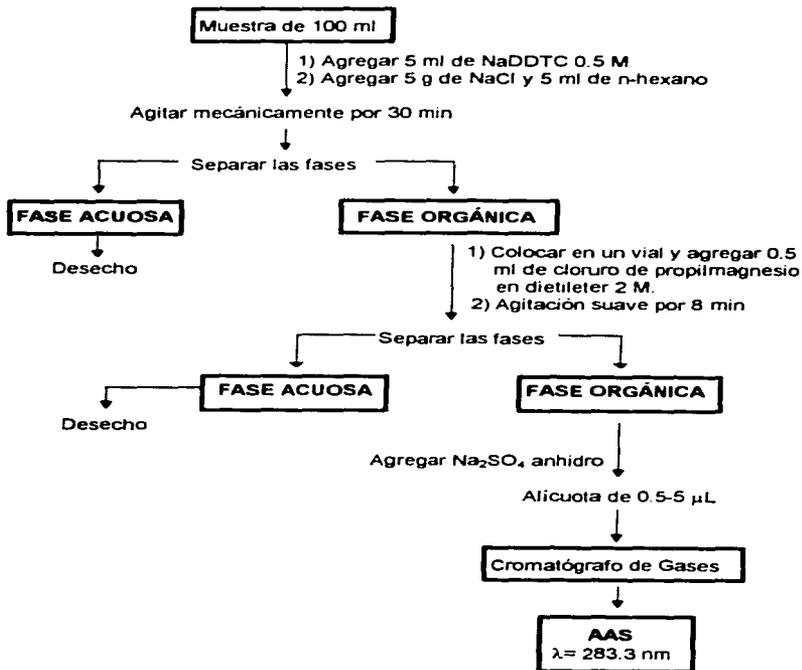


Figura 2.5.2.2. Determinación de especies iónicas de alquilplomo y tetraalquilplomo.

Los cromatogramas obtenidos ilustraron que las especies propiladas R_4Pb , R_3Pb^+ y R_2Pb^{2+} fueron separadas adecuadamente por GC. Los límites de detección variaron para cada especie, el intervalo de éstos fue de 0.01 a 0.11×10^{-9} g de Pb. La posible interferencia debido a la extracción de otros compuestos organometálicos fue descartada por que se empleó un detector específico del elemento. Posteriormente, la metodología posteriormente fue aplicada a agua de lluvia filtrada y no filtrada, obteniéndose resultados parecidos a los anteriores con soluciones sintéticas.

La importancia toxicológica de los compuestos organoplomo impulsó la investigación que realizó Chau *et al.*, 1983. Los autores analizaron las especies Pb^{2+} , dialquilplomo y trialquilplomo en soluciones sintéticas por quelatación con NaDDTC, extracción en fase orgánica de los quelatos, derivatización con un reactivo de Grignard y determinación en GC-AAS (Gas Chromatography-Atomic Absorption Spectrometry).

Las soluciones que se utilizaron contenían como máximo 15 ng/L de cada una de las especies. Para las soluciones anteriores se recomendó guardarlas en un cuarto oscuro y frío. Las especies iónicas alquilplomo (Me_3Pb^+ , Me_2Pb^{2+} , Et_3Pb^+ , Et_2Pb^{2+} y Pb^{2+}) se extrajeron en benceno bajo la forma de complejos dietilditiocarbamato, luego fueron butiladas por un reactivo de Grignard y finalmente se separaron y analizaron por GC-AAS (*figura 2.5.2.3*).

Los picos obtenidos en GC fueron muy definidos para las especies butiladas de alquilplomo y Pb^{2+} . El límite de detección para las cinco especies butiladas fue de 0.1 μ g/L de Pb. Ciertos metales como estaño (IV) y germanio (IV) fueron extraídos con NaDDTC, sin embargo, las especies butiladas de éstos no interfirieron en el sistema de detección a la longitud de onda utilizada.

La determinación de sales de alquilplomo en muestras sintéticas se realizó por Forsyth y Marshall (1983). Los cloruros de alquilplomo (R_3Pb^+ y R_2Pb^{2+} , R= Me o Et) se extrajeron de la fase acuosa en forma de ditizonatos, luego se fenilaron y por último se analizaron por GC-ECD (Gas Chromatography-Electron Capture Detection).

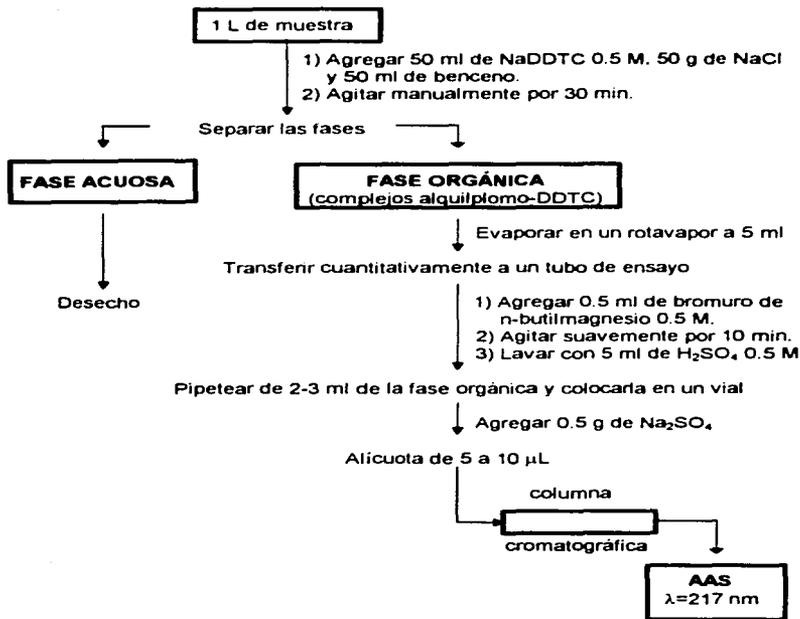


Figura 2.5.2.3. Diagrama analítico para analizar Pb^{2+} y especies alquilplomo.

Las soluciones estándares contenían de 1 a 20 ng/L de los cloruros de trimetilplomo y trietilplomo, así también para los dicloruros de dimetilplomo y dietilplomo. En la figura 2.5.2.4 se muestra el procedimiento analítico para determinar las sales de alquilplomo. A una muestra con las sales de alquilplomo se le añadió ditizona en 50% benceno/hexano para extraer las especies en forma de ditizonatos. Los ditizonatos en fase orgánica fueron fenilados con bromuro de fenilmagnesio en atmósfera inerte.

Posteriormente estos compuestos fenilados en hexano se separaron por GC y se detectaron por ECD.

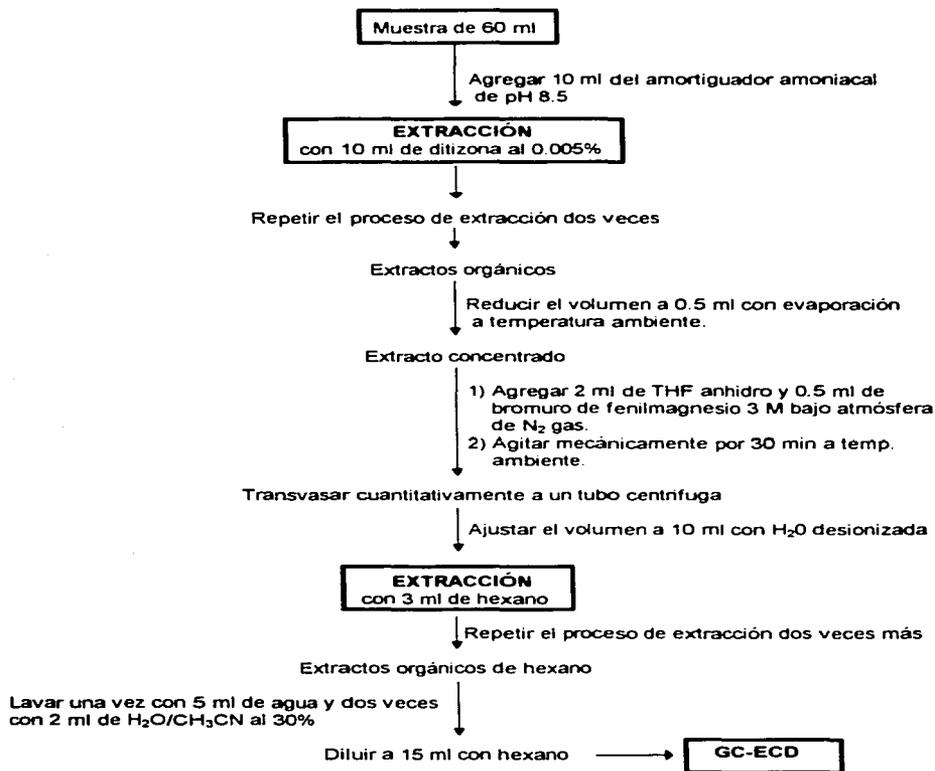


Figura 2.5.2.4. Determinación de sales de alquilplomo por Forsyth y Marshall (1983).

En los cromatogramas obtenidos se observó adecuada separación de los picos correspondientes a cada especie. Los tiempos de retención fueron 16.15, 24.76, 30.87 y 35.14 min para trimetilfenilplomo, trietilfenilplomo, dimetildifenilplomo y dietildifenilplomo, respectivamente. El porcentaje de recuperación fue diferente para cada especie, obteniéndose 93 ± 3 , 103 ± 7 , 72 ± 4 y $90 \pm 5\%$ para Me_3PbCl , Et_3PbCl , Me_2PbCl_2 y Et_2PbCl_2 , respectivamente.

El propósito de Naghmush *et al* (1995) fue investigar un método de extracción en fase sólida para determinar Pb^{2+} y compuestos de alquilplomo en muestras sintéticas. Las especies fueron extraídas y concentradas en una columna con soporte sólido, eluidas con ácido nítrico o etanol y analizadas por AAS (Atomic Absorption Spectrometry).

La concentración de las soluciones estándares fue de $\mu\text{g/L}$ para Pb^{2+} , cloruros de alquilplomo (trimetilplomo, trietilplomo, dimetilplomo, dietilplomo) y tetraetilplomo. La determinación de los alquilplomo junto con Pb^{2+} se realizó siguiendo el diagrama analítico de la *figura 2.5.2.5*.

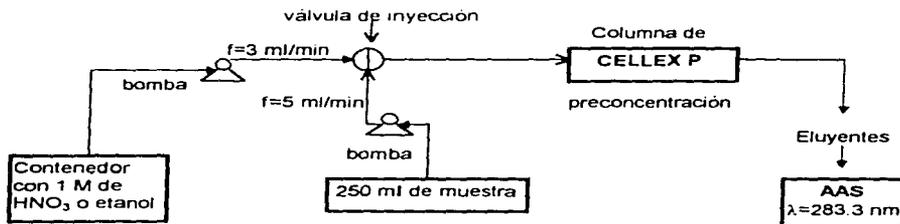


Figura 2.5.2.5. Diagrama analítico para determinar Pb^{2+} y compuestos alquilplomo por Naghmush et al, 1995.

La solución que contenía los analitos (alquilplomo y Pb^{2+}) fue inyectada a una columna empacada con Cellex P. Después del proceso de preconcentración en el sorbente, las especies Pb^{2+} , dietilplomo, dimetilplomo y trimetilplomo fueron eluidas de la columna

con ácido nítrico 1 M, mientras que tetraetilplomo se eluyó con etanol. El contenido de los eluyentes obtenidos se analizó por flama en AAS.

De acuerdo a los resultados, se mostró que el sorbente Cellex P retuvo satisfactoriamente las especies estudiadas. El proceso de elución con HNO_3 y etanol permitió la desorción completa de las especies sin señal de pérdida de éstas por retención. En el proceso de adsorción se analizaron posibles interferencias por los iones Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} a concentraciones superiores de 200 mg/L, y para Cu^{2+} y Fe^{3+} arriba de 20 mg/L; se halló que la presencia de Ca^{2+} a altas concentraciones produce interferencia. El límite de detección estimado fue de 0.17 $\mu\text{g/L}$ para todas las especies.

La metodología fue posteriormente aplicada a agua natural de grifo, río y potable. Los resultados obtenidos indicaron que el nivel de Pb, en las muestras de agua estudiadas, fue por debajo del permisible para agua de consumo humano. Las concentraciones de Pb fueron diferentes, encontrándose en el intervalo de 3.2 a 7.1 $\mu\text{g/L}$. La especie de menor concentración fue el tetraetilplomo.

Chakraborti *et al* (1984) desarrollaron un método analítico para determinar especies de Pb en muestras sintéticas con el objetivo de aplicarlo posteriormente a agua natural. El análisis de las especies iónicas de alquilplomo se realizó por extracción en fase orgánica bajo la forma de complejos y después de un proceso de preconcentración fueron derivadas con un reactivo de Grignard. Las especies derivadas fueron determinadas por GC-AAS (Gas Chromatography-Atomic Absorption Spectrometry).

Las soluciones estándares contenían 10 $\mu\text{g/L}$ como Pb de trimetilplomo, trietilplomo, dimetilplomo y dietilplomo. Las soluciones anteriores fueron guardadas en un refrigerador y posteriormente se observó que fueron estables por lo menos cuatro semanas sin notable deterioro. El diagrama analítico de la *figura 2.5.2.6* muestra la determinación de Pb^{2+} inorgánico y especies alquilplomo. Después de filtrar la muestra se añadió EDTA (etilendiamintetraacético) para secuestrar el Pb^{2+} y NaDDTC para complejar las especies alquilplomo, luego mediante un proceso de extracción con pen-

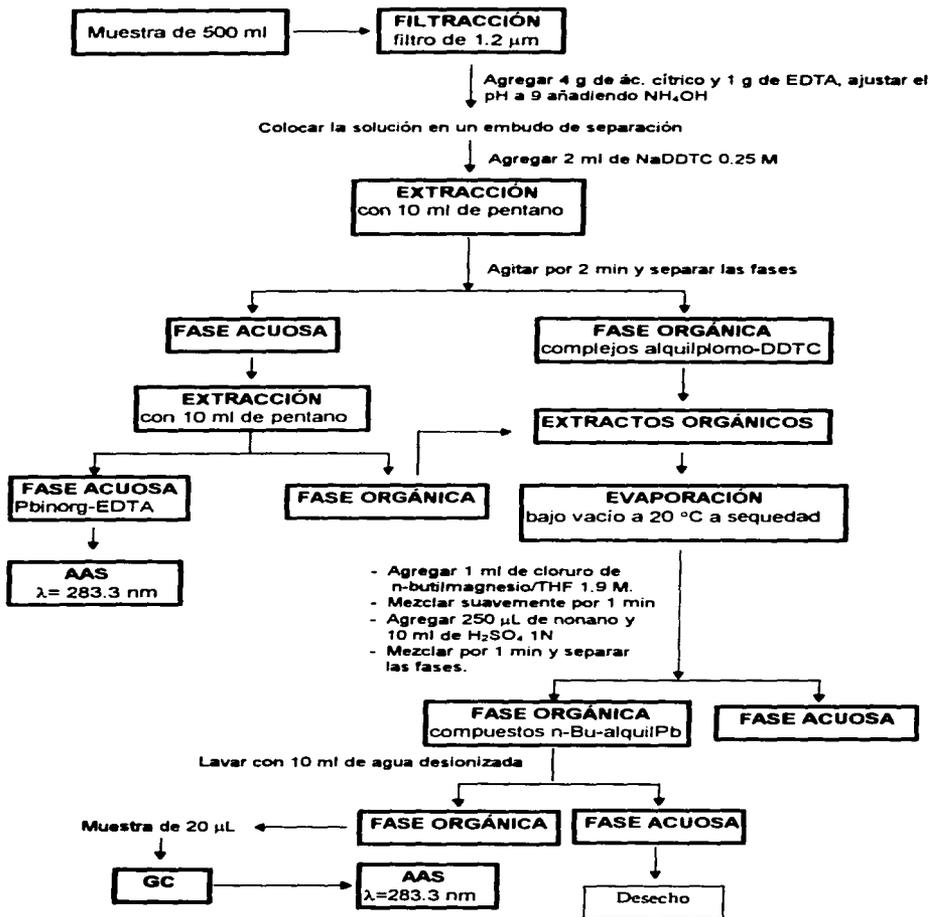


Figura 2.5.2.6. Análisis de especies de alquilplomo por Chakraborti et al, 1984.

tano fueron separadas las especies orgánicas de la inorgánica. En la fase orgánica los complejos alquilplomo-DDTC fueron concentrados por evaporación del disolvente y posteriormente derivados con cloruro de n-butilmagnesio/THF. Los compuestos n-butilalquilplomo fueron extraídos en nonano y analizados en ésta fase orgánica por GC-AAS. El Pb_{inorg} -EDTA de la fase acuosa inicial se analizó por AAS.

Los picos cromatográficos de las especies butiladas fueron definidos y con adecuados tiempos de retención, obteniéndose 6.2, 10.5, 10.9 y 13.2 min para $PbMe_3Bu$, $PbMe_2Bu_2$, $PbEt_3Bu$ y $PbEt_2Bu_2$, respectivamente. En el análisis de los alquilplomo no interfirió el Pb (II) inorgánico presente en la muestra, ya que fue completamente secuestrado por EDTA. Los límites de detección obtenidos fueron 0.05, 0.08, 0.09 y 0.10 ng/L de Pb para $PbMe_3Bu$, $PbMe_2Bu_2$, $PbEt_3Bu$ y $PbEt_2Bu_2$, respectivamente, y para Pb^{2+} inorgánico fue 0.05 ng/L de Pb.

La aplicación de la metodología a una muestra de agua de lluvia permitió diferenciar varios compuestos alquilplomo. La especie predominante fue Pb^{2+} inorgánico a una concentración de 133 $\mu g/L$ y la de menor concentración fue $PbMeEt_2^+$ a <2 ng/L.

b) Aplicación en muestras de agua natural

La especiación de plomo en muestras de agua natural se realizó por Lobinski y Adams (1992). Los autores analizaron Pb^{2+} y iones alquilplomo en agua de lluvia y potable mediante extracción, derivatización y detección en GC-MIP-AES (Gas Chromatography-Microwave Induced Plasma-Atomic Emission Spectrometry).

La conservación de las muestras de agua natural no se mencionó, sin embargo las soluciones estándares utilizadas para las curvas de calibración se guardaron en la oscuridad y bajo refrigeración. El material de cristalería fue lavado con detergente, enjuagado con agua destilada, remojado 12 hrs con HNO_3 al 10% y finalmente

enjuagado con agua desionizada antes de usarse. El método analítico de la *figura 2.5.2.7* muestra la extracción de las especies de plomo (Pb^{2+} , Et_2Pb^{2+} , Et_3Pb^+ , Me_2Pb^{2+} , Me_3Pb^+) en hexano después de quelatarse con NaDDTC (dietilditiocarbamato de sodio).

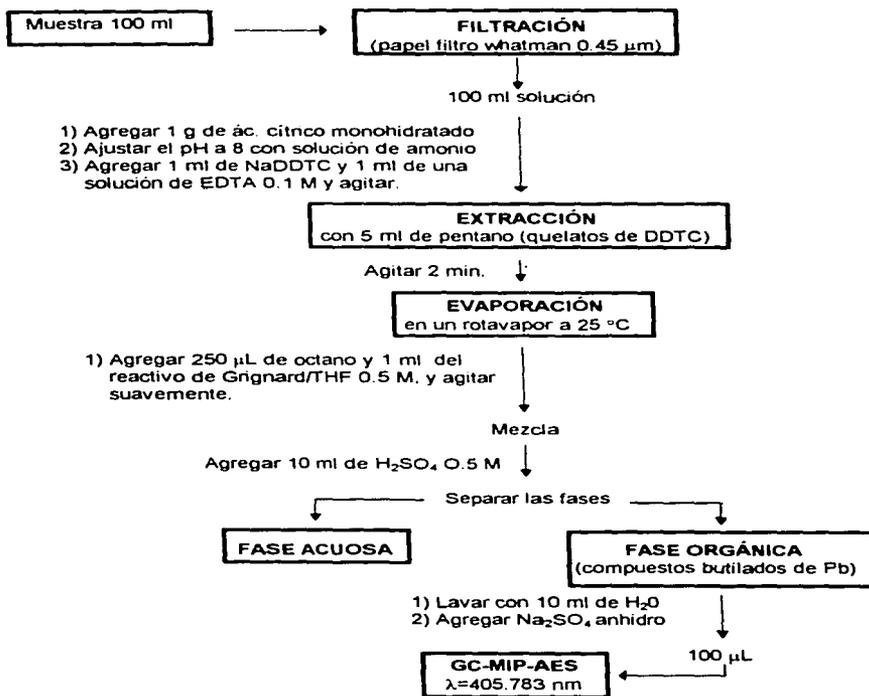


Figura 2.5.2.7. Diagrama analítico para determinar Pb^{2+} inorgánico y especies di- y trialkilplomo por Lobinski y Adams ,1992.

Las especies en fase orgánica fueron butiladas o propiladas con bromuro de n-butilmagnesio/THF o cloruro de propilmagnesio/THF, respectivamente; posteriormente las especies derivadas fueron analizadas por GC-MIP-AES.

Los cromatogramas obtenidos mostraron adecuada separación de los picos de las especies butiladas o propiladas. En el agua de lluvia y potable se detectó el Pb^{2+} , Et_2Pb^{2+} , Et_3Pb^+ , Me_2Pb^{2+} y Me_3Pb^+ a diferentes concentraciones en ng/L. El límite de detección fue de 0.1 ng/L.

El análisis de trialquilplomo y dialquilplomo en agua de nieve, lluvia y superficial (río y lago) se realizó por Van Cleuvenbergen *et al.*, 1986. Los compuestos iónicos fueron extraídos como complejos dietilditiocarbamato en fase orgánica, preconcentrados en ésta y derivados con un reactivo de Grignard para analizarse por GC-AAS (Gas Chromatography- Atomic Absorption Spectrometry).

Las muestras naturales fueron obtenidas del área Antwerp, Bélgica. Las muestras de agua de lluvia se almacenaron en recipientes de polietileno a una $T=20\text{ }^{\circ}C$ en la obscuridad. La muestra de nieve se tomó de la parte superior de una nevada reciente y se dejó derretir a una $T=20\text{ }^{\circ}C$ en la obscuridad, el agua obtenida se pasó a través de un papel filtro miliporo de $1.2\text{ }\mu m$ y se almacenó a temperatura ambiente en la obscuridad. Las muestras de río y lago fueron muestreadas manualmente en recipientes de polietileno y protegidas de la luz solar; todos los análisis se realizaron el mismo día de la colección. El diagrama analítico para determinar las especies Pb^{2+} , dialquilplomo y trialquilplomo se muestra en la *figura 2.5.2.8*.

La presencia de $PbMe^*_3$, $PbEt^*_3$, $PbMe^{2*}_2$ y $PbEt^{2*}_2$ a diferentes concentraciones se detectó en todas las muestras de agua estudiadas. En el agua de lluvia y nieve, las especies di- y trialquilplomo se hallaron en un intervalo de concentración de 10 a 100 ng/L. En las muestras de agua superficial, la especie predominante fue $PbMe^*_3$ a una concentración no mayor de 5 ng/L, mientras que las especies dialquilplomo fueron de -

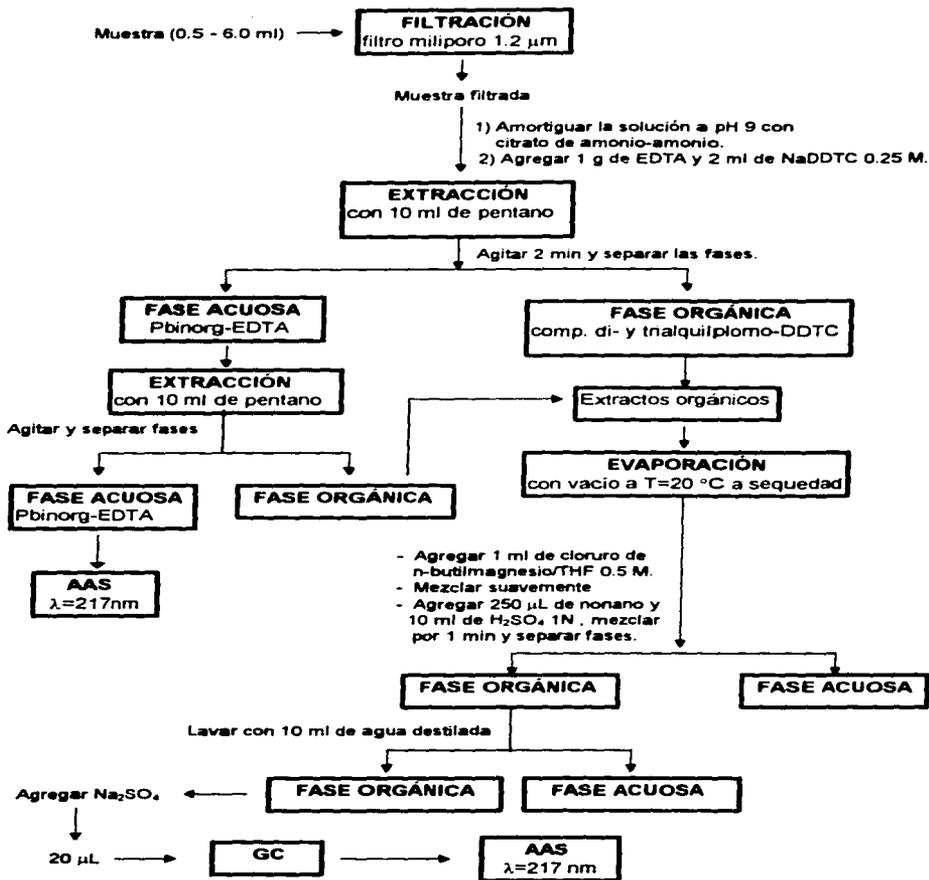


Figura 2.5.2.8. Diagrama analítico para determinar compuestos dialquilplomo y trialquilplomo en agua de lluvia, nieve y superficial.

bajo nivel de detección (1 ng/L). En agua de lluvia y de nieve se halló Pb^{2+} a concentraciones de $\mu g/L$, mientras que en agua de lago y río no se registró.

El análisis de compuestos iónicos de alquilplomo en agua potable se realizó por Chakraborti *et al.*, 1989. Los autores emplearon el método analítico desarrollado cinco años antes, en el cual se realizó la extracción de los alquilplomo en forma de dietilditiocarbamatos en fase orgánica, luego una derivatización con un reactivo de Grignard y análisis por GC-AAS.

Las muestras de agua potable fueron obtenidas del grifo de varias ciudades en Bélgica. Usualmente, las muestras fueron analizadas el día de la colección, cuando no fue posible se guardaron en refrigeración a <4 °C. La metodología de análisis se esquematizó en la *figura 2.5.2.6*.

En las diferentes muestras de agua potable fueron detectados compuestos dialquilplomo y trialquilplomo. El intervalo de concentraciones fue de 0.15-6.76, 0.08-0.59, 0.10-1.66, 0.11-0.60 y de 0.15-0.79 ng/L como Pb para $PbMe^*_3$, $PbMe_2Et^*$, $PbMe^{2*}_2$, $PbEt^*_3$ y $PbEt^{2*}_2$, respectivamente. El contenido total de los alquilplomo en cualquier muestra estudiada no fue mayor de 10 ng/L de Pb. La conclusión obtenida fue que las especies iónicas de alquilplomo pueden escapar a un proceso de remoción usual para la purificación de agua superficial.

La toxicidad de las especies de alquilplomo ha sido una razón importante para analizarlas en muestras de la atmósfera e hidrosfera. Mikac y Branica (1992) realizaron un estudio para determinar especies dialquilplomo y trialquilplomo en aguas residuales, basándose en un procedimiento de extracción de complejos dietilditiocarbamatos en fase orgánica, re-extracción en una fase acuosa ácida y determinación por DPASV (Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry).

No se mencionó la forma de muestreo y conservación del agua residual. El material utilizado fue lavado previamente con ácido nítrico diluido antes de usarse. La *figura*

2.5.2.9 muestra el procedimiento analítico del estudio; inició con la extracción de los alquilplomo en forma de dietilditiocarbamatos en hexano, luego su re-extracción con ácido nítrico diluido y la determinación con DPASV. Las condiciones para DPASV fueron: amplitud de pulso 50 mV, frecuencia de pulso 2 s^{-1} y velocidad de barrido 5 mv/s.

Los compuestos iónicos alquilplomo fueron depositados a diferentes potenciales, lo cual permitió la cuantificación de éstos. A un potencial de - 0.1 V se depositaron las especies iónicas Et_3Pb^+ , Me_3Pb^+ , $\text{Et}_2\text{Pb}^{2+}$ y $\text{Me}_2\text{Pb}^{2+}$, mientras que en el potencial de - 0.7 V se depositaron sólo las especies $\text{Et}_2\text{Pb}^{2+}$ y $\text{Me}_2\text{Pb}^{2+}$, las especies trialquilplomo se determinaron por la diferencia de las anteriores mediciones.

La extracción de las especies trialquilplomo y dietilplomo no fue cuantitativa, ya que el intervalo de recuperación fue de 80 a 100%. El límite de detección para todas las especies fue de 0.5 ng/L de Pb partiendo de 2.5 L de muestra.

c) Aplicación en muestras de aire

Purdue *et al* (1973) realizaron el análisis de plomo en muestras de aire colectadas en varias ciudades estadounidenses. Por medio del estudio se determinó plomo orgánico (tetraetilplomo y tetrametilplomo) y plomo total.

Las muestras de aire se obtuvieron utilizando un muestreador de gas que consistía principalmente de un filtro membrana y tubos de muestreo. El plomo en forma de partícula se colectó en el filtro y se determinó directamente por AAS (Atomic Absorption Spectrometry) después de una digestión ácida del filtro. El Pb orgánico que pasó a través del filtro se absorbió en una solución de cloruro de yodo. A la solución anterior, se le agregó pirrolidin-ditiocarbamato de amonio para complejar el Pb, posteriormente el complejo se extrajo con metil-isobutilcetona para analizarse en AAS.

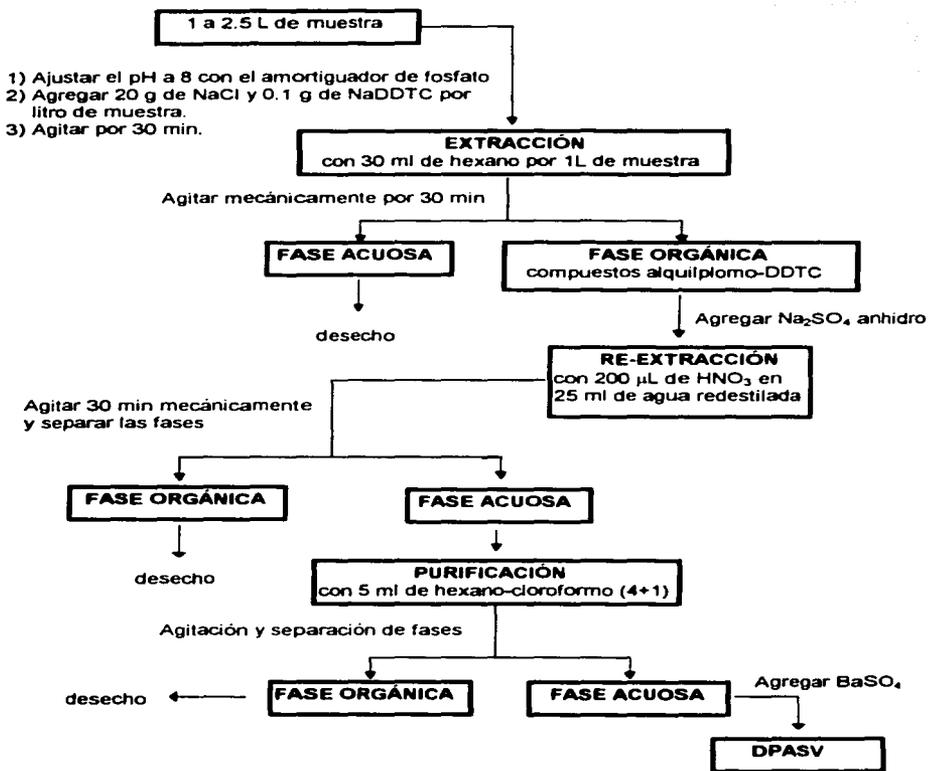


Figura 2.5.2.9. Diagrama analítico para determinar especies iónicas de dialquiplomo y trialquiplomo en agua residual.

El límite de detección de Pb^{2+} en forma de partícula fue de $0.4 \mu\text{g}$ de Pb/m^3 , la desviación estándar promedio fue de 6.7%. La cantidad mínima detectable de Pb orgánico fue de $0.5 \mu\text{g}$ para un volumen de muestra de $2.8 m^3$, la desviación estándar fue 8.2%. Los resultados indicaron que el plomo en la atmósfera de estudio se encuentra principalmente bajo la forma de partícula (89%).

Radziuk *et al.* 1979 realizaron un estudio para analizar plomo en el aire. Los autores supusieron que la presencia de tetraetilplomo y otros compuestos de alquilplomo en el medio ambiente provienen principalmente de la evaporación de la gasolina.

El aire fue muestreado mediante un sistema que consistía de tubos de absorción con filtro y una bomba peristáltica. Los compuestos de alquilplomo presentes en la muestra de aire fueron condensados en una serie de cuatro trampas a $-72 \text{ }^\circ\text{C}$ sumergidas en hielo seco-metanol. El calentamiento de las trampas permitió volatilizar las diferentes fracciones que fueron introducidas en un sistema de GC (Gas Chromatography) para separar los diferentes compuestos y posteriormente ser analizados por AAS. Las partículas atmosféricas colectadas en el papel filtro fueron lixiviadas con ácido nítrico y se analizaron por AAS.

La concentración promedio de plomo total en el aire fue $650 \text{ ng}/m^3$ y la concentración promedio de los compuestos alquilplomo fue de $14 \text{ ng}/m^3$. Las concentraciones de los alquilplomo fueron $1 \text{ ng}/m^3$ de trimetiletetilplomo, $2 \text{ ng}/m^3$ de dimetildietilplomo, $1 \text{ ng}/m^3$ de metiltrietilplomo y $8 \text{ ng}/m^3$ de tetraetilplomo. El límite de detección fue cerca de 40 pg de Pb para cada compuesto. A partir de una muestra de 70 L de aire, $0.5 \text{ ng}/m^3$ de cada compuesto de Pb se pueden determinar. Se concluyó que la evaporación de gasolina es casi exclusivamente la fuente de compuestos de alquilplomo en el aire.

Clevenger *et al* (1991) realizaron la especiación de plomo en partículas de un filtro de aire cercano a una fundidora de plomo. La separación de las especies se realizó por medio de extracciones selectivas y se emplearon como métodos de análisis difracción de rayos X y FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy). Los filtros

se enjuagaron con acetona para remover las partículas y después se centrifugaron las soluciones de enjuage para separar las fases. El sobrenadante se analizó directamente por AAS, mientras que la muestra sólida se sometió a extracción con diferentes extractantes para posteriormente analizarlos por rayos X y FTIR.

Las especies de plomo fueron separadas mediante diferentes extractantes, así el PbSO_4 se extrajo con MgCl_2 1 M, PbO con NH_4OAc 0.5 M y PbCO_3 con NaP_2O_7 1 M. Las especies en el filtro fueron en porcentaje 41.2% de PbSO_4 , 10.1% de PbO y 48.8% de PbS , de tal forma que los compuestos principales fueron PbSO_4 y PbS . El análisis de la muestra sólida demostró que el contenido de Pb total fue de 0.3% de las partículas totales en el filtro.

2.5.3 Análisis de las metodologías analíticas de Pb

La importancia ambiental y toxicológica de las especies alquilplomo fueron dos razones importantes para el desarrollo de las metodologías analíticas citadas. En todos los estudios se especificó $\text{Me}_2\text{Pb}^{2+}$, Me_3Pb^+ , $\text{Et}_2\text{Pb}^{2+}$, Et_3Pb^+ , Me_4Pb y Et_4Pb , así como también las combinaciones Et y Me dentro de la misma molécula. La técnica de análisis más utilizada para determinar compuestos de Pb fue GC-AAS.

Las concentraciones de trabajo que se emplearon en las muestras sintéticas fueron de $\mu\text{g/L}$ o ng/L como Pb , considerando que la concentración de estudio fue la adecuada para aplicar posteriormente la metodología a muestras de agua natural. La conservación de muestras sintéticas que contenían Pb inorgánico y orgánico se realizó almacenando las soluciones en frascos oscuros, bajo refrigeración y en la obscuridad (Rapsomanikis *et al*, 1986 y Chau *et al*, 1983).

La conservación de muestras de agua natural no se mencionó en todos los estudios. Chakraborti *et al* (1989) conservaron muestras de agua potable bajo refrigeración y en

recipientes de polietileno. Van Cleuvenbergen *et al* (1986) generalmente conservaron muestras de agua de lluvia, nieve, río y lago en recipientes de polietileno, a temperatura ambiente y en obscuridad. Fue notorio que los dos tipos de muestras acuosas se protegieron de la luz.

Los límites de detección obtenidos por la mayoría de las técnicas analíticas fue de $\mu\text{g/L}$ o ng/L . La cantidad de metal detectada vario en el intervalo de 10 a 0.1 en $\mu\text{g/L}$ y de 1.0 a 0.05 en ng/L . La metodología de Rapsomanikis *et al* (1986) informó el nivel de detección más bajo que fue de 0.18 pg/ml en GC-AAS para una muestra sintética.

Es importante mencionar que la mayor parte de los estudios aplicados en muestras sintéticas evaluaron posteriormente la metodología con muestras de agua natural, y en tales casos los resultados obtenidos fueron generalmente satisfactorios. Los estudios no mencionaron ningún tipo de interferencia particular o en común, a excepción de Naghmush *et al* (1995) que notificaron interferencia de Ca^{2+} a concentraciones superiores de 200 mg/L .

3. TÉCNICAS ANALÍTICAS

3.1 Espectroscopia de Absorción Atómica.

3.1.1 Conceptos teóricos

La espectroscopia de absorción atómica es una técnica que se utiliza para determinar cualitativamente y cuantitativamente elementos químicos. El principio se basa en la absorción de energía por átomos libres (estado fundamental) del elemento en fase gaseosa.

En la absorción atómica se hace incidir luz de una longitud de onda (λ) específica a una nube de átomos en estado fundamental. La intensidad inicial (I_0) de la luz es disminuida por la absorción de los átomos en una cantidad determinada por la concentración de estos. La luz es dirigida hacia un detector donde se mide la intensidad disminuida (I). La absorbancia se mide por la expresión matemática:

$$A = \log I_0/I$$

La absorbancia guarda una relación lineal con la concentración. La *ley de Beer* define esta relación:

$$A = abc \quad (3.1.1)$$

donde A es la absorbancia, a es la absorptividad o el coeficiente de extinción, b es la longitud del paso de luz ocupado por la celda de absorción y c es la concentración de las especies absorbantes en la celda de absorción (Kenkel, 1994).

3.1.2 Instrumentación

Los componentes básicos de un espectrofotómetro de absorción atómica son: *fente de luz, celda de muestreo, monocromador, detector y registrador*. En la *figura 3.1.2* se muestra un esquema de un espectrofotómetro de absorción atómica de doble haz con los componentes básicos.

Las *fuentes de luz* más ampliamente usadas son la lámpara de cátodo hueco (LCH) y la lámpara de descarga sin electrodos (LDE). Estas lámparas están diseñadas para emitir el espectro atómico de un elemento.

En la *celda de muestreo* es necesario generar el vapor atómico en el paso del rayo de luz, esto se obtiene generalmente introduciendo la muestra en un quemador o en un horno caliente que se encuentre alineado en el paso óptico del espectrofotómetro. Para la atomización se utiliza flama u horno de grafito.

El *monocromador* dispersa las distintas longitudes de onda de la luz mediante una red de difracción y separa la línea particular de interés.

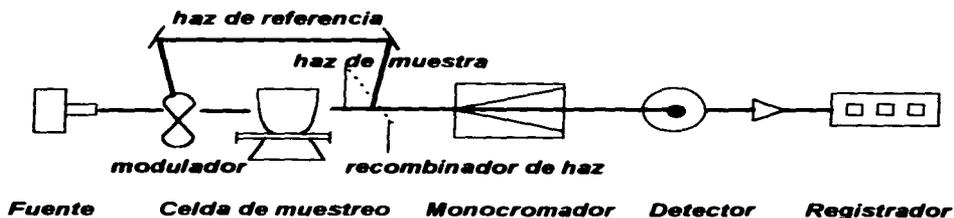


Figura 3.1.2 Espectrofotómetro de Absorción Atómica de doble haz con los componentes básicos.

El *detector* es un tubo fotomultiplicador que produce una corriente eléctrica que depende de la intensidad de la luz incidente.

La corriente eléctrica del fotomultiplicador es amplificada y procesada por la electrónica del instrumento, que origina una señal para producir una lectura en el *registrador* (Perkin-Elmer, 1982).

3.1.3 Absorción Atómica

a) Flama

El atomizador de un espectrofotómetro de absorción atómica debe generar átomos en estado fundamental en el paso óptico del fotómetro. La técnica más ampliamente empleada es la aspiración directa en la flama de la solución que contiene la muestra. El sistema de atomización para el quemador de flama consta de un *nebulizador, cámara de mezcla y cabezal del quemador*.

En el sistema anterior, la solución es aspirada a través de un nebulizador que genera un aerosol fino dentro de una cámara de mezcla. Aquí el aerosol de la muestra se mezcla con los gases combustibles y oxidantes, para ser trasladado al cabezal del quemador en donde ocurre la combustión y la atomización de la muestra.

Las flamas más utilizadas son aire-metano (1875 °C), aire-gas natural (1700-1900 °C), aire-hidrógeno (2000-2050 °C), aire-acetileno (2125-2400 °C) y N₂O-acetileno (2600-2800 °C).

Las interferencias pueden originarse por fuentes químicas o instrumentales. Las interferencias químicas resultan usualmente por la incompleta atomización debido a los enlaces iónicos fuertes. Las interferencias instrumentales conocidas como

interferencias espectrales son cuando una línea espectral de otro elemento se sobrepone a la línea espectral del elemento a determinar (Kenkel, 1994).

b) Horno de grafito

El horno de grafito es un método de atomización sin llama. La energía requerida para la atomización se obtuvo aplicando una diferencia de potencial eléctrico a través de un tubo de grafito dentro del cual se ha colocado la muestra. El horno está alineado en el área de muestreo del espectrofotómetro en forma tal que la luz de la lámpara espectral pasará por el centro del tubo de grafito. El vapor atómico generado por la muestra cuando el horno está encendido absorberá luz de la lámpara.

El horno de grafito proporciona alta sensibilidad en absorción atómica, ya que para muchos elementos los límites de detección están en la región de los picogramos (10^{-12} gramos).

Las determinaciones están sujetas a severas interferencias químicas y problemas de absorción de fondo provenientes de los constituyentes de la muestra. La elección entre la llama y el horno de grafito se determina generalmente en base al intervalo de concentración del analito (Kenkel, 1994).

c) Métodos de generación de vapor

Los métodos de generación de vapor se refieren a las técnicas de generación de hidruros y mercurio por vapor frío. La técnica de generación de hidruros se emplea para determinar con alta sensibilidad elementos metálicos que forman hidruros, como arsénico, selenio, antimonio, telurio, bismuto y estaño.

En esta técnica los hidruros gaseosos de los metales son producidos por la adición de borohidruro de sodio a la muestra en un frasco de reacción. El frasco hermético permite que los hidruros gaseosos e hidrógeno sean acarreados por un gas inerte hacia un tren de llama o a una celda de cuarzo calentada. Los elementos determinados por generación de hidruros son de importancia ambiental o de interés toxicológico (Kenkel, 1994).

En la técnica de mercurio por vapor frío los átomos de mercurio se producen en una botella de reacción por reducción química con cloruro estannoso o borohidruro de sodio. Los átomos volátiles de mercurio salen de la solución al burbujear nitrógeno o aire a través de ella. El gas acarreador conduce el mercurio hacia un tubo de secado para eliminar el vapor de agua y finalmente a la celda de absorción alineada en el paso óptico del espectrofotómetro de absorción atómica. Se utiliza para determinar bajos niveles de mercurio, siendo posible determinar $0.01 \mu\text{g}$ (10^{-5} gramos) (Kenkel, 1994).

En la *tabla A2-1* (anexo 2) se muestran los límites de detección para varios elementos utilizando flama, horno de grafito y generación de hidruros con absorción atómica.

3.2 Espectroscopía de Ultravioleta-Visible (UV-Vis).

3.2.1 Conceptos teóricos

La espectroscopía de UV-Vis es una técnica analítica que se fundamenta en la absorción de luz ultravioleta y visible. En esta técnica se aplica luz de longitud de onda monocromática a una muestra en solución. La cantidad de luz absorbida por ésta solución se mide electrónicamente por un tubo fotomultiplicador y se obtiene una lectura en un registrador. Los límites espectrales de un espectrofotómetro UV-Vis son de 200 a 800 nm (Willard, 1982).

En UV-Vis es posible realizar análisis cualitativo y cuantitativo. El *análisis cualitativo* se realiza por comparación de un espectro de absorción molecular de la sustancia pura con el espectro del analito obtenido, sin embargo, posee bastantes elementos de incertidumbre, ya que dos especies pueden poseer patrones muy semejantes (Bender, 1987). Ciertas características estructurales de una molécula muestran rasgos particulares en el espectro de absorción UV. Las estructuras que muestran patrones de absorción en UV son aquellas que contienen doble enlace, triple enlace y anillos bencénicos, y se denominan *cromóforos*. El principio del *análisis cuantitativo* se basa en la *Ley de Beer* (ecuación 3.1.1) que relaciona la absorbancia y la concentración (Kenkel, 1994).

3.2.2 Instrumentación

En espectroscopía de UV-Vis los instrumentos pueden ser de *un solo haz* y *doble haz*. Cualquiera de los dos comprende de cinco componentes básicos: *fuerza de luz*, *monocromador*, *compartimiento de la muestra*, *detector* y *registrador*. La *figura 3.2.2* muestra un espectrofotómetro con los componentes básicos.

Las *fuentes de luz* utilizadas para la región UV y visible son diferentes. La fuente de luz para la región UV es usualmente la lámpara de descarga de deuterio o de nitrógeno, mientras que la fuente para la región visible es la lámpara incandescente de tungsteno (bulbo de luz con un filamento de tungsteno) o tungstenoyoduro.

El *monocromador* o también llamado *selector de longitud de onda* está formado por dispositivos de dispersión, rendijas de entrada y salida, deflectores y espejos. El *elemento* de dispersión es un prisma o reja de difracción.

La *luz* del monocromador pasa a través de la muestra en el *compartimiento de la muestra*. El contenedor donde la muestra se coloca se llama *celda*. Para la región

visible las celdas son de plástico o vidrio, mientras que para la región UV son de cuarzo.

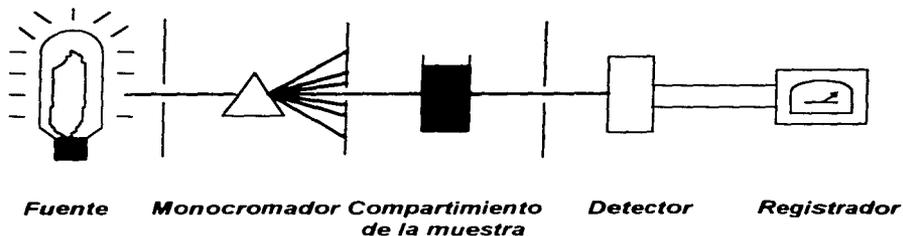


Figura 3.2.2. Los componentes básicos de un espectrofotómetro de UV-Vis.

El *detector* más común en el instrumento de UV-Vis es un tubo fotomultiplicador. Cuando la luz de una intensidad particular choca con éste, una corriente o señal eléctrica de magnitud proporcional es generada, amplificada y enviada al *registrador*. Otros detectores pueden ser un fototubo o fotodiodo de silicio (Willard, 1982).

3.2.3 Interferencias y desviaciones

En el análisis cualitativo la interferencia puede alterar el espectro de absorción y concluir en una interpretación incorrecta del espectro, mientras que en el análisis cuantitativo causa un valor adicional en la absorbancia repercutiendo en una determinación no cuantitativa del analito.

El **gráfico** no lineal de la *Ley de Beer* es una evidencia de desviaciones, que **frecuentemente** se observan a altas concentraciones del analito. Tales desviaciones **pueden ser** químicas o instrumentales (Kenkel, 1994).

3.3 Polarografía.

3.3.1 Conceptos teóricos

Las técnicas electroanalíticas se basan en la medida del potencial del electrodo y la corriente en la superficie de los electrodos sumergidos en la solución de análisis. El flujo de corriente eléctrica entre un par de electrodos sumergidos o un potencial eléctrico que se manifieste entre estos, se mide y relaciona con la concentración del analito.

Las técnicas electroanalíticas son una extensión de la química de oxidación-reducción. Los electrones se generan por un proceso de oxidación en un electrodo y se consumen por el proceso de reducción en otro electrodo. El sistema completo se llama *celda*, los electrodos individuales se llaman *semi-celdas* y las reacciones individuales de oxidación y reducción son *semi-reacciones*.

Las técnicas analíticas con las cuales se determina el potencial o voltaje de un electrodo con respecto a otro electrodo, se denominan generalmente *potenciométricas*, mientras que las técnicas que miden la intensidad de corriente se denominan *amperométricas*.

La *polarografía* es una técnica amperométrica, en donde la corriente que resulta en la celda electrolítica y no el potencial, se mide y relaciona a la concentración del analito.

Las determinaciones en polarografía consisten en hacer un barrido en el intervalo del potencial al cual los analitos se hacen electroactivos, y monitorear la corriente al mismo tiempo. Los polarogramas consisten en curvas de intensidad de corriente (i) vs. potencial (E), en la cual están asociados los parámetros de *corriente de difusión* (i_d), *potencial medio* ($E_{1/2}$) y *corriente de fondo*.

Las técnicas polarográficas más actuales son *polarografía de impulsos* y *polarografía diferencial de impulsos*, que difieren en la forma de medir la corriente y de sus características potencial-tiempo (Kenkel, 1994).

3.3.2 Instrumentación

El equipo de polarografía se compone básicamente de una celda electrolytica, un sistema de tres electrodos y un registrador de corriente (amperímetro). La *figura 3.3.2* muestra el aparato de polarografía.

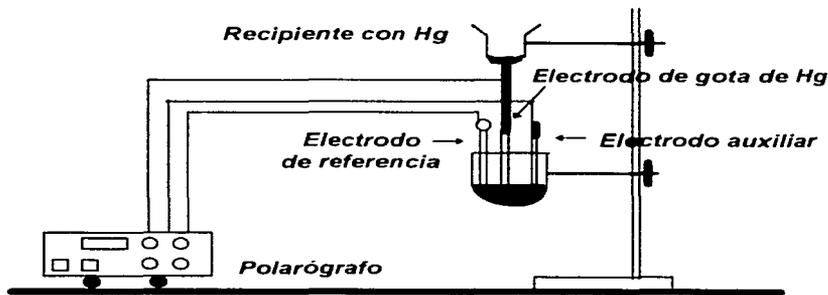


Figura 3.3.2. Aparato de polarografía con el sistema de tres electrodos.

La celda electrolytica contiene la solución muestra y un *electrolito de soporte*. El **electrolito de soporte** se agrega cuando no hay suficiente contenido electrolytico debido a **muy bajas concentraciones del analito** en la solución muestra o solución estándar.

El **sistema de tres electrodos** incluye un *electrodo de trabajo*, un *electrodo de referencia* y un *electrodo auxiliar*. Los tres electrodos se conectan a la fuente de

poder, la cual contiene un circuito especialmente diseñado para el control preciso del potencial aplicado al electrodo de trabajo, que comúnmente se le llama *potenciostato* o *polarógrafo*.

En el *electrodo de trabajo* se llevan a cabo los procesos de oxidación y reducción de interés. El electrodo de trabajo que se utiliza es el *electrodo de gota de mercurio*.

El uso del *electrodo de referencia* es necesario para el control preciso del potencial en el electrodo de trabajo. Se emplean frecuentemente el *electrodo de calomel saturado* o el *electrodo plata-cloruro de plata*.

El *electrodo auxiliar* "transporta" la cantidad de la corriente y "contrarresta" los procesos que ocurren en el electrodo de trabajo (Kenkel, 1994).

3.3.3 Polarografía Diferencial de Pulsos

Esta es una de las técnicas polarográficas desarrolladas para obtener más bajos límites de detección, se puede detectar hasta 10^{-7} M del analito. El *análisis cuantitativo* por polarografía diferencial de impulsos se basa en la medida de la corriente de difusión (i_d). Se realizan curvas i vs. E de soluciones estándares y se determina en la curva la altura del pico que es proporcional a la concentración del analito. La gráfica de la altura del pico de cada una de las soluciones estándares vs. concentración permite determinar la concentración desconocida de una muestra.

El *análisis cualitativo* de una especie emplea la magnitud de la corriente de difusión (i_d) y el potencial medio ($E_{1/2}$) asociado con ésta (Kenkel, 1994).

3.3.4 Aplicaciones

Las técnicas polarográficas se emplean para determinar metales pesados y moléculas orgánicas en base a su reducción en el electrodo de gota de mercurio. La reducción puede ocurrir en la misma molécula (molécula con doble enlace) o en el grupo reductor de la molécula (Pungor, 1995).

El análisis por polarografía diferencial de pulsos tiene la ventaja de ser la técnica más sensitiva y puede distinguir dos especies que tengan valores similares de $E_{1/2}$ (Kenkel, 1994).

3.4 Cromatografía

3.4.1 Introducción a la cromatografía

Una gran cantidad de técnicas que se emplean para separar muestras complejas se encuentran bajo la descripción general de *cromatografía*. La cromatografía es una técnica que sirve para separar los componentes de una mezcla en base a los diferentes grados de interacción de éstos con dos fases de material separados. La naturaleza de las dos fases y el tipo de interacción es diferente, por lo cual se originan varios *tipos de cromatografía*.

A una fase se le denomina *móvil* y a la otra *estacionaria*. La mezcla a separar usualmente se introduce dentro de la fase móvil y pasa a través de la fase estacionaria por gravedad o aplicando una fuerza. Los componentes de la mezcla son atraídos por la fase estacionaria en grado variable y se mueven a través de la fase a diferentes velocidades resultando la separación.

La *fase móvil* puede ser un gas o un líquido, mientras que la *fase estacionaria* puede ser un líquido o un sólido. Las técnicas cromatográficas se pueden clasificar en base a la naturaleza de las dos fases: cromatografía gas-líquido (CGL), cromatografía gas-sólido (CGS), cromatografía líquido-líquido (CLL) y cromatografía líquido-sólido (CLS).

Las técnicas también se pueden clasificar de acuerdo a la naturaleza de la interacción de los componentes de la mezcla con las dos fases, denominándose generalmente *tipos de cromatografía*. Los *tipos de cromatografía* más comunes son: *de partición*, *adsorción*, *intercambio iónico* y *exclusión por tamaño* (Kenkel, 1994).

3.4.2 Cromatografía de Gases (CG)

La cromatografía de gases es una técnica analítica utilizada para separar, identificar y medir los componentes de una mezcla. En esta cromatografía la fase móvil es un gas y la fase estacionaria es un líquido o un sólido.

Al gas se le denomina *gas de arrastre* y se purifica con helio o nitrógeno. Dado que la fase móvil es el gas de arrastre, la muestra con los componentes a separar debe ser gaseosa o una muestra de líquidos con presiones de vapor altas.

La fase estacionaria cuando es un líquido se adsorbe en la superficie de un substrato sólido denominado comúnmente *soporte*. Las partículas que forman el soporte pueden ser de dos tipos: tierras diatomáceas o teflón. Los líquidos que se utilizan son muy diversos, pero poseen la característica química de ser muy polares, polares y no polares.

Otros parámetros importantes son la temperatura de la columna y velocidad de flujo del gas acarreador. El instrumento de cromatografía de gases se muestra en la *figura*

3.4.2. El sistema completo consta principalmente de un *tanque del gas de arrastre*, *sistema de muestreo*, *columna*, *detector* y *registrador*.

El *gas de arrastre* sale del tanque a cierta velocidad y flujo que se determinan por válvulas reguladoras.

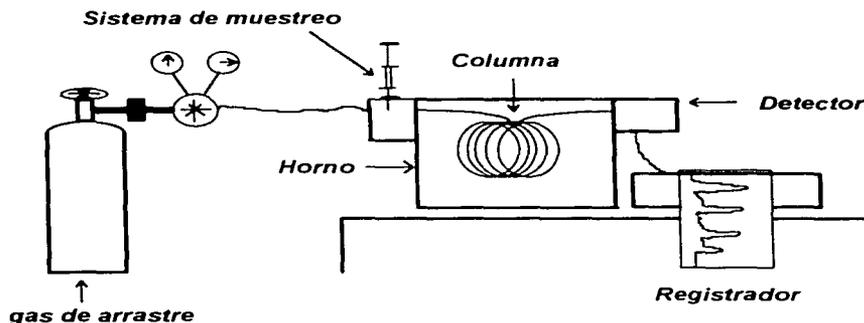


Figura 3.4.2. Cromatógrafo de gases.

El *sistema de muestreo* consta de una jeringa de inyección y el puerto de inyección. Mediante la jeringa se toma una cantidad muy pequeña de muestra (0.1 a 100 μL dependiendo de la columna) y se introduce al sistema cromatográfico. El puerto de inyección introduce la muestra en forma rápida y eficiente, y en el caso de una muestra líquida volátil está diseñado para vaporizar por calentamiento la muestra. La temperatura de ésta área depende de la volatilidad de los componentes, comúnmente se halla en el intervalo de 200 a 250 $^{\circ}\text{C}$. Se encuentran también sistemas de muestreo para gases y sólidos.

En la *columna* se efectúa la separación de los componentes. Esta columna se encuentra en el interior de un horno donde se calienta y se regula la temperatura por

un termostato. Se trabaja con temperaturas de 100 a 150 °C, aunque algunas veces se utilizan temperaturas más elevadas.

La columna cromatográfica puede ser *empacada* o *capilar*. El material de elaboración frecuentemente es vidrio o metal. Las columnas de separación poseen diferentes características físicas. Una de estas es la longitud, que normalmente varía de 2 hasta 300 pies. Los diámetros para columnas empacadas pueden ser de $\frac{1}{4}$ y $\frac{1}{8}$ de pulgada.

El *detector* está diseñado para generar una señal electrónica cuando un gas diferente al gas acarreador eluye de la columna. Los detectores más empleados son: detector de conductividad térmica, detector de ionización de flama, detector de captura de electrón, detector nitrógeno/fósforo, detector fotométrico de flama, detector de conductividad electrolítica, detector de fotoionización, así como también se han adaptado al equipo de CG el Espectrómetro de Infrarrojo y Espectrómetro de Masas. Los detectores anteriores son diferentes en el diseño y permiten obtener diversa selectividad y sensibilidad.

Los detectores de CG están diseñados para gases y no líquidos, por lo cual son calentados para prevenir la condensación de los gases. La temperatura de trabajo usualmente es de 200 a 250 °C.

El *registrador* proporcionará un gráfico llamado *cromatograma* para obtener información cualitativa y cuantitativa de los componentes en la mezcla. Los parámetros más importantes para el *análisis cualitativo* empleando la mayoría de los detectores son el *tiempo de retención* y el *tiempo de retención corregido*, así cada compuesto tiene un valor particular de tiempo de retención que permite identificarlo.

El *tiempo de retención* de un componente en una mezcla se define como el tiempo que transcurre desde la inyección de la muestra hasta el punto máximo del pico correspondiente a este compuesto. Este parámetro está relacionado con la solubilidad y **presión de vapor** de los componentes. Las sustancias con alta presión de vapor y

baja solubilidad en la fase estacionaria emergen rápido de la columna, sustancias con alta presión de vapor y alta solubilidad emergen lentamente, mientras que las sustancias con baja presión de vapor y alta solubilidad emergerán en un largo tiempo.

El *tiempo de retención corregido* equivale al tiempo de retención menos el tiempo necesario para el pico del aire.

El *análisis cuantitativo* se basa en el hecho de que la cantidad de determinado compuesto es directamente proporcional al área del pico obtenido en el cromatograma. Los métodos para determinar el área del pico son manuales o computarizados. La determinación manual puede realizarse por los métodos de altura del pico, triangulación y media anchura. Los métodos computarizados miden el tamaño del pico por la integración del área de este.

En cromatografía, los problemas que se presentan comúnmente son: disminución del tamaño del pico, deformación de la simetría del pico, alteración del tiempo de retención, estabilidad y perturbaciones de la línea base, y presencia de picos no esperados (Kenkel, 1994).

3.4.3 Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución

La cromatografía de líquidos de alta resolución es una técnica analítica empleada para separar e identificar los componentes de una mezcla líquida. Se conoce generalmente como HPLC (High Performance Liquid Chromatography). La separación por HPLC implica el flujo del líquido a través de la columna a alta presión, frecuentemente de 4000 a 6000 psi (libras/pulgada²).

La *fase estacionaria* al igual que CG es un sólido de partículas muy pequeñas empacadas en el interior de la columna. La elución de los componentes de la mezcla

en la fase estacionaria puede realizarse por *elución isocrática* y *elución de gradiente*. La *fase móvil* es un solvente líquido en el que se disuelven los componentes (o soluto). Los solventes más frecuentemente usados son hexano, cloruro de metileno, cloroformo, tetrahidrofurano, acetonitrilo, isopropanol, metanol y agua.

Un diagrama del instrumento de HPLC se muestra en la *figura 3.4.3*. Consiste principalmente de un *contenedor de solvente* (fase móvil), *bomba*, *sistema de inyección*, *columna* y *detector*. Además de estos componentes básicos, la unidad de HPLC puede equiparse de un programador de gradiente, automuestreador, filtros en el interior de la línea y sistemas de integración computarizados.

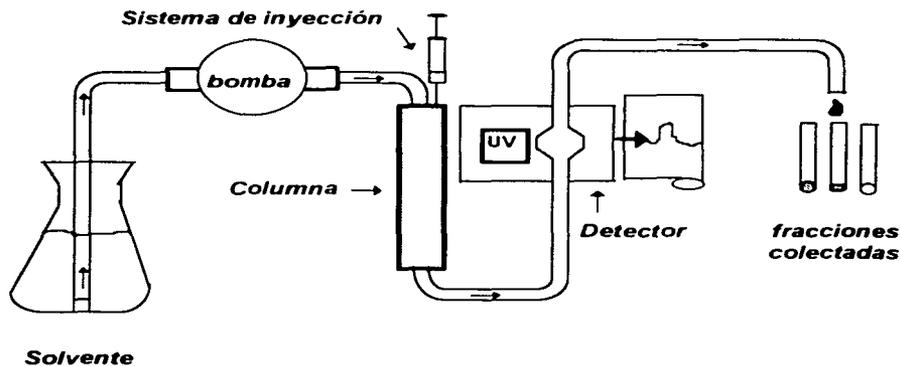


Figura 3.4.3. Diagrama de un sistema de HPLC.

Las *bombas* que se utilizan no pueden ser de cualquier tipo, son bombas capaces de proporcionar altas presiones a fin de bombear la fase móvil a través de la fase estacionaria a una velocidad de flujo razonable, usualmente entre 0.5 a 4.0 ml/min. Estas pueden ser bombas de presión constante o de caudal constante.

El *sistema de inyección* como en CG introduce la muestra a la columna de separación. En HPLC la introducción de la muestra es un problema especial debido a la alta presión del sistema. Existen varias formas de realizar la inyección: inyección con jeringa a través de septum, inyección con paro de flujo e inyección por medio de válvulas.

Las *columnas* se seleccionan por el contenido de la fase estacionaria dependiendo el tipo de cromatografía de estudio. Así, existen *columnas de fase normal, fase reversa, adsorción, intercambio iónico y exclusión por tamaño*.

Detector. La función de los detectores de HPLC es examinar la solución que eluye de la columna y producir una señal electrónica proporcional a la concentración del componente individual presente en la mezcla. Los detectores más populares en HPLC son *Absorción en UV, Fluorescencia, Índice de Refracción, Espectroscopía de masas y electroquímica* (conductividad, amperometría).

El análisis cualitativo y cuantitativo por HPLC es similar a cromatografía de gases. El *análisis cualitativo* depende solamente del *tiempo de retención* y *tiempo de retención corregido*, bajo ciertas condiciones experimentales el tiempo de retención es un valor particular para cada componente en la mezcla. Para realizar el *análisis cuantitativo* se utilizan los mismos métodos de CG para medir el área del pico.

Las ventajas que ofrece HPLC son: rapidez, resolución, sensibilidad, columnas reutilizables y recuperación de muestras. Dentro de las limitaciones se tiene una instrumentación costosa, elevado costo de operación, y la falta de un detector universal y sensible.

Los problemas que surgen con HPLC están asociados con la variación de alta y baja presión, fugas del sistema, burbujas de aire, canalización de columna, tiempo de *retención* disminuido y desviación de la línea base (Kenkel, 1994).

3.4.4 Tipos de cromatografía

A continuación se describen brevemente dos tipos de cromatografía que fueron las más sobresalientes en las metodologías analíticas revisadas.

Adsorción:

La adsorción es un tipo de cromatografía. Como el nombre lo indica el mecanismo de separación es la adsorción en la superficie de un sólido. La fase estacionaria consiste de partículas sólidas finamente divididas empacadas en el interior de un tubo.

Los diferentes componentes de una mezcla se adsorben en diferentes grados de fuerza en la fase estacionaria, y mediante este mecanismo son separados. La naturaleza de la adsorción implica la interacción de moléculas polares o moléculas con grupos polares con una fase sólida estacionaria muy polar. Esta fase sólida muy polar es típicamente sílica gel o alúmina. Los componentes polares de la mezcla pueden ser ácidos orgánicos, alcoholes, etc. La fase móvil puede ser un líquido o un gas.

Intercambio iónico:

Este tipo de cromatografía permite separar una mezcla de iones, sean orgánicos o inorgánicos. La fase estacionaria consiste de pequeñas cuentas de resina polímero que tienen muchos sitios iónicos de enlace en la superficie. Estos sitios intercambian iones selectivamente conforme la fase móvil se mueve a través de la resina. Los iones que se enlazan en la resina son separados de aquellos que no se enlazan.

La resina puede ser de *intercambio aniónico* o *catiónico*. La resina de intercambio aniónico posee sitios cargados positivamente para intercambiar iones negativos,

mientras que la resina de intercambio catiónico posee sitios cargados negativamente para intercambiar cationes. La fase móvil puede ser solamente un líquido (Kenkel, 1994).

3.5 Espectroscopia de Emisión Atómica - Plasma Acoplado Inductivamente.

3.5.1 Conceptos teóricos

La técnica de espectroscopia de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente es una técnica que mide la luz emitida de los átomos de un elemento por espectrometría óptica. En la emisión atómica, la muestra es sometida a una alta energía y temperatura con el objeto de producir átomos en estado excitado capaces de emitir luz. En ICP (Inductively Coupled Plasma) se emplea como fuente de energía un plasma.

El *plasma* es una especie de flama ionizada de un gas muy caliente típicamente argón. Es estable e inerte químicamente y desarrolla temperaturas muy cercanas a los 10,000 °K. En la mayoría de los casos, es casi la fuente de emisión ideal (Jobin-Yvon, 1989).

El espectro de emisión de un elemento expuesto a esta fuente de energía consiste de una colección de bandas correspondientes a las longitudes de onda permitidas, comúnmente llamadas líneas de emisión. Este espectro de emisión puede usarse como una característica única para la identificación *cualitativa* del elemento. La técnica puede también usarse para determinaciones *cuantitativas* de un elemento, para lo cual se mide la intensidad de luz emitida a la longitud de onda (λ) del elemento. La intensidad de la emisión a esta longitud de onda será cada vez más alta conforme se incrementa el número de átomos del analito (Kenkel, 1994).

3.5.2 Instrumentación

Los componentes básicos que consta el espectrofotómetro de ICP son: *sistema de introducción de muestra* (nebulizador, cámara de spray), *antorcha de plasma*, *generador de radio frecuencia*, *la transferencia óptica y espectrómetro*, e *interface y computadora*. En la *figura 3.5.2* se muestra un diagrama esquematizado de un sistema ICP simultáneo (Thompson y Walsh, 1989).

Sistema de introducción de muestra. En principio la muestra puede estar en estado sólido, líquido o gaseoso. El método más común de introducir la muestra dentro del plasma es la inyección directa de líquido aerosol. Estos aerosoles pueden ser formados ya sea por nebulizadores ultrasónicos o por nebulizadores neumáticos. Se pueden observar los siguientes tipos de nebulizadores neumáticos: flujo cruzado, baington y tipo concéntrico o jet.

Una forma alterna de la introducción de muestra podrá ser usada para aquellos elementos que puedan formar hidruros, estos incluirán el arsénico, selenio, antimonio, bismuto, estaño, germanio y plomo.

La *antorcha de plasma* consiste de un tubo de cuarzo rodeado por una bobina de inducción. El argón fluye hacia arriba. Cuando la energía de radio frecuencia es aplicada a la bobina, un campo magnético intenso es desarrollado. Al momento de que la chispa de la bobina de tesla es aplicada para producir un flujo electrónico, el argón se convierte en un gas conductor y los iones del gas con los electrones fluyen dentro de un conjunto circular. Las partículas cargadas, iones y electrones son acelerados en el campo magnético oscilante produciendo calentamiento colisional. Con el flujo **apropiado** de gas el plasma posee forma de toroide o dona.

La función del *generador de radio frecuencia* es proveer de potencia a la bobina de inducción que rodea a la antorcha. Su frecuencia de operación está controlada por un

crystal oscillator and operates at 27.12 MHz. Ultimately to avoid voltage fluctuations and to obtain more precise results, some ICP instruments operate at 40.68 MHz.

Espectrómetro de ICP. La función del espectrómetro es analizar la radiación emitida por la fuente de plasma. La radiación es dispersada por una rejilla de difracción, de tal forma que las líneas de resonancia del elemento sean aisladas. Las intensidades son medidas por uno o más tubos fotomultiplicadores.

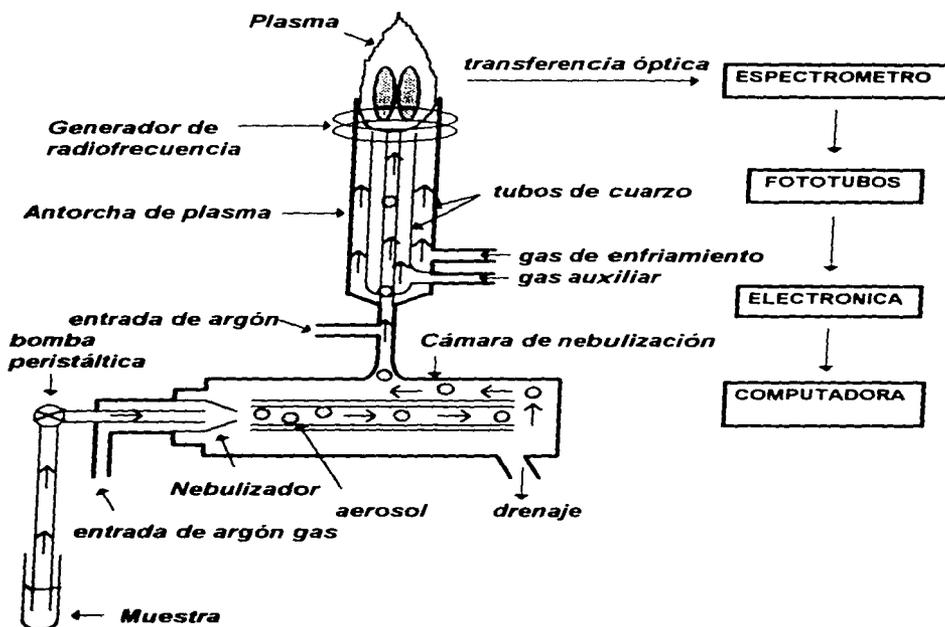


Figura 3.5.2. Diagrama esquematizado de un sistema ICP simultáneo.

En el mercado existen dos tipos de espectrofotómetros que son de uso común: *secuenciales* y *simultáneos*. El *espectrofotómetro secuencial* emplea un monocromador de barrido a manera de aislar las líneas analíticas del elemento en secuencia. Una rotación precisa de la rejilla, direcciona a las líneas espectrales sucesivamente a través de la ranura de salida hacia el detector. Estos instrumentos son muy versátiles, ya que permiten una amplia selección de líneas y elementos. En el *espectrofotómetro simultáneo*, la lectura es realizada directamente. Los fototubos son colocados detrás de un número de ranuras de salida localizadas precisamente en el plano focal. Este sistema permite la medida de muchas líneas analíticas al mismo tiempo. Un gran número de ranuras y detectores pueden ser acomodados.

Interface y computadora. Las señales de las líneas de emisión obtenidas por los fotomultiplicadores son procesadas por la electrónica, la cual deberá estar libre de ruido electrónico y también deberá ser lineal sobre seis diferentes magnitudes, de tal manera de poder utilizar la linealidad inherente del ICP que representa su mejor ventaja.

Para obtener alta precisión y exactitud deberá contarse con electrónica de alta sensibilidad a través del paso del tiempo. Debido al alto volumen de datos generados, computadoras de alta velocidad son usadas. Estas controlan la operación del instrumento, adquieren y reducen la información y entregan reportes (Jobin-Yvon, 1989).

3.5.3 Aplicaciones

El ICP-AES determina trazas de elementos incluyendo metales, en solución. El método es aplicable a diversas matrices incluyendo agua superficial, muestras acuosas, desechos industriales y orgánicos, suelos, lodos, sedimentos, desechos sólidos, aire, plantas y tejidos de animales (EPA, 1989).

Frecuentemente, 40 o más elementos son determinados en un sola muestra. A una razón de una muestra por minuto, 2400 determinaciones por hora son posibles. Esta alta cantidad de muestras determinadas es la ventaja más importante del espectrofotómetro simultáneo de ICP (Wallas,1989). Los niveles de detección que se obtienen utilizando ICP se muestran en la *tabla A2-1* (anexo 2).

3.5.4 Interferencias

Las *interferencias* de ICP-AES pueden ser *espectrales* (traslape de líneas espectrales de otro elemento), *físicas* (procesos de nebulización, transporte de la muestra) y *químicas* (formación de compuestos moleculares, efectos de ionización y vaporización del soluto) (EPA, 1989).

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- * La especiación de aluminio, arsénico, cromo, mercurio y plomo en agua se cita en una variedad de métodos de separación y análisis desarrollados en los estudios de investigación. Generalmente, los métodos de separación están basados en procesos de cromatografía líquida y gaseosa, intercambio iónico, extracción, precipitación y quelatación. Entre las técnicas de análisis destacan principalmente Espectroscopía de absorción atómica con flama, horno de grafito, vapor frío o generación de hidruros, Espectroscopía de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente, Espectroscopía de fluorescencia atómica, Espectroscopía ultravioleta-visible y valoraciones volumétricas.
- * En las metodologías analíticas se consideran como aspectos relevantes la conservación de muestras y limpieza del material, así como las condiciones redox y pH de las muestras, las cuales juegan un papel importante en los estudios de especiación.
- * Los estudios de especiación permiten determinar principalmente las especies de los elementos de interés que tienen importancia toxicológica y ambiental, que para tal propósito es posible especiarlos de acuerdo a su estado de oxidación y/o forma química orgánica e inorgánica.
- * La información recopilada sobre la especiación de los elementos seleccionados muestra que existe una gran variedad de metodologías disponibles para apoyar la determinación de especies en una diversidad de muestras de agua.
- * Los estudios de especiación se fundamentan en general, en el principio de separación de las especies por medios físicos y químicos antes de aplicar la técnica analítica que puede ser la misma o diferente para cada especie.

* Respecto a la evaluación de la metodología de especiación de arsénico en agua sintética, la metodología permite diferenciar el arsénico trivalente y pentavalente, sin embargo, la determinación de cada especie no es cuantitativa. La metodología puede modificarse en la parte experimental para obtener resultados analíticos satisfactorios. Con base en la experiencia sobre la especiación de arsénico, se recomienda que las metodologías sean evaluadas antes de aplicarlas a casos particulares de estudio.

* En los estudios de especiación se requiere tanto de equipos analíticos de gran sofisticación tecnológica como de personal técnico especializado para desarrollar o aplicar las metodologías analíticas y utilizar los instrumentos analíticos.

* Es importante la evaluación e implementación de las metodologías de especiación de metales, por que en un futuro su aplicación permitirá establecer niveles de concentración de sustancias tóxicas en las normas ambientales, ya que en la actualidad solamente se exige la cuantificación de cromo hexavalente en los Criterios Ecológicos de Calidad de Agua CE-CCA-001/89 y cromo total en la NOM-127-SSA1-1994.

REFERENCIAS

- Ahmed R. and Stoeppler M. (1997). *Storage and stability of mercury and methylmercury in sea water.*, Analytica Chimica Acta., 192, 109.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), *Arsenic.* (1989). (<http://atsdr1.atsdr.cdc.gov:8080/ToxProfiles/phs8802.html>).
- ATSDR-Chromium (1989). (<http://atsdr1.atsdr.cdc.gov:8080/ToxProfiles/phs8810.html>).
- ATSDR-Mercury. (1990). (<http://atsdr1.atsdr.cdc.gov:8080/ToxProfiles/phs8916.html>).
- ATSDR-Lead. (1990). (<http://atsdr1.atsdr.cdc.gov:8080/ToxProfiles/phs8817.html>).
- Aurillo A. C., Mason R. P., Hemond H. F. (1994). *Speciation and fate of arsenic in three lakes of the aberjona watershed.*, Environ. Sci. Technol., 28, 577.
- Beaubien S., Nriagu J., Blowes D., Lawson G. (1994). *Chromium speciation and distribution in the great lakes.*, Environ. Sci. Technol., 28(4), 730.
- Bender G. T. (1987). *Métodos instrumentales de análisis en química clínica.*, Acribia, S. A.
- Bertsch P. M., Anderson M. A. (1989). *Speciation of aluminum in aqueous solutions using ion chromatography.*, Anal. Chem., 61, 535.
- Bodek I., Lyman W. J., Reehl W. F., Rosenblatt D. H. (1988). *Environmental Inorganic Chemistry.*, Pergamon Press Inc.

- Braman R. S., Johnson D. L., Foreback C. C., Ammons J. M., Bricker J. L. (1977).** *Separation and determination of nanogram amounts of inorganic arsenic and methylarsenic compounds.*, *Analytical Chemistry.*, 49(4), 621.
- Buldini P. L., Ferri D., Zini Q. (1980).** *Differential pulse polarographic determination of inorganic and organic arsenic in natural waters.*, *Mikrochimica Acta.*, 26, 71.
- Bulska E., Baxter D. C., Frech W. (1991).** *Capillary column gas chromatography for mercury speciation.*, *Analytica Chimica Acta.*, 249, 545.
- Campbell P. G. C., Bisson R. B., Tessier A., Villeneuve J-P. (1983).** *Speciation of aluminum in acidic freshwaters.*, *Anal. Chem.*, 55, 2246.
- Cappon C. J. and Smith J. C. (1977).** *Gas-chromatography determination of inorganic mercury and organomercurials in biological materials.*, *Anal. Chem.*, 49(3), 365.
- Chakraborti D., De Jonge W. R. A., Van Mol W. E., Van Cleuvenbergen R. J. A., Adams F. C. (1984).** *Determination of ionic alkyllead compounds in water by gas chromatography-atomic absorption spectrometry.*, *Anal. Chem.*, 56, 2692.
- Chakraborti D., Dirkx W., Van Cleuvenbergen R., Adams F. (1989).** *Speciation of ionic alkyllead in potable water and soil.*, *The Science of the Total Environment.*, 84, 249.
- Chau Y. K., Wong P. T. S., Kramar O. (1983).** *The determination of dialkyllead, trialkyllead, tetraalkyllead and lead (II) ions in water by chelation-extraction and gas chromatography-atomic absorption spectrometry.*, *Analytica Chimica Acta.*, 146, 211.
- Chen Shun-Long, Dzeng Shiaan R., Yang Mo-Hsiung. (1994).** *Arsenic species in groundwaters of the blackfoot disease area, Taiwan.*, *Environ. Sci. Technol.*, 28,

877.

Clevenger T. E., Chintana S., Koirtyohann. (1991). *Lead speciation of particles on air filters collected in the vicinity of a lead smelter.*, Environ. Sci. Technol., 25(6), 1128.

Comisión Nacional del Agua (CNA), 1983. *Tabla de Calidad requerida para uso y aprovechamiento del agua.*

Criterios Ecológicos de Calidad del Agua CE-CCA-001/89.

Cram S. (1995). *Reduktion von chromat (VI) in humosen böden.*, These, Hohenheim, Deutschland.

El-Wakil A. M., Farag A. B., El-Nahas M. S. (1993). *Iodometric microgram determination of chromium (III) and (VI) by use of chemical amplification reactions.*, Talanta., 40(6), 841.

Emsley John. (1991). *The elements.*, Clarendon Press, 2nd edition.

Emteborg H., Baxter D. C., Frech W. (1993). *Speciation of mercury in natural waters by capillary gas chromatography with a microwave-induced plasma emission detector following preconcentration using a dithiocarbamate resin microcolumn installed in a closed flow injection system.*, Analyst., 118, 1007.

Emteborg H., Baxter D. C., Sharp M., Frech W. (1995). *Evaluation, mechanism and application of solid-phase extraction using a dithiocarbamate resin for the sampling and determination of mercury species in humic-rich natural waters.*, Analyst., 120, 69.

Environmental Protection Agency (EPA). (1992). *Test methods for evaluating solid waste, metals atomic absorption methods.*

Ficklin W. H. (1990). *Extraction and speciation of arsenic in lacustrine sediments.*, Talanta., 37(8), 831.

Flores V. L. (1992). *Método de especiación de cromo (VI) y cromo (III) para extractos de suelo con alto contenido de materia orgánica natural.*, Tesis de maestría, UNAM, México.

Forsyth D. S. and Marshall W. D. (1983). *Determination of alkyllead salts in water and whole eggs by capillary column gas chromatography with electron capture detection.*, Anal. Chem., 55, 2132.

Friberg L., Nordberg G.F., Vouk V. B. (1990). *Handbook on the toxicology of metals.*, Elsevier, 2nd edition, vol. II.

Galvao L. A. C., Corey G. (1987). *Arsénico.*, Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud., Metepec, México.

Gammelgaard B., Jons O., Nielsen B. (1992). *Simultaneous determination of chromium (III) and chromium (VI) in aqueous solutions by ion chromatography and chemiluminescence detection.*, Analyst., 117, 637.

Goulden P.D. and Anthony D. H. J. (1980). *Chemical speciation of mercury in natural waters.*, Analytica Chimica Acta., 120, 129.

Hasegawa H., Sohrin Y., Matsui M., Hojo M., Kawashima M. (1994). *Speciation of arsenic in natural waters by solvent extraction and hydride generation atomic absorption spectrometry.*, Anal. Chem., 66, 3247.

Hempel M., Hintelmann H., Wilken R. D. (1992). *Determination of organic mercury species in soils by high-performance liquid chromatography with ultraviolet*

detection., *Analyst.*, 117, 669.

Hintelmann H., Hempel M., Wilken R. D. (1995). *Observation of unusual organic mercury species in soils and sediments of industrially contaminated sites.*, *Environ. Sci. Technol.*, 29, 1845.

Howard A G. and Arbab-Zavar M. H. (1981). *Determination of "inorganic" arsenic (III) and arsenic (V), "methylarsenic" and "dimethylarsenic" species by selective hydride evolution atomic absorption spectroscopy.*, *Analyst.*, 106, 213.

Howelles Gwyneth. (1995). *Acid rain and acid waters.*, Ellis Horwood.

Hutchinson T. C., Meema K. M. (1987). *Lead, mercury, cadmium and arsenic in the environment.*, John Wiley and Sons.

Jian Wei and Mcleod C. W. (1992). *Rapid sequential determination of inorganic mercury and methylmercury in natural waters by flow injection-cold vapour-atomic fluorescence spectrometry.*, *Talanta.*, 39(11), 1537.

Jobin-Yvon. (1989). *User manual the spectrometer JY38 plus sequential ICP. Part 1, 2, and 3.* France.

Jones P. and Paul B. (1992). *Study of aluminium speciation in potable waters from the south west of England using ion chromatography.*, *Analytical Proceedings.*, 29, 402.

Kenkel John. (1994). *Analytical chemistry for technicians.*, Lewis Publishers, 2nd edition.

Kirk-Othmer. (1995). *Encyclopedia of chemical technology.*, John Wiley and Sons, 4th edition, vol. 16.

- Kramer J. R., Allen H. E. (1991). *Metal speciation, theory, analysis and application.*, Lewis Publishers.
- Kubrakova I., Kudinova T., Formanovsky A., Kuz'min N. (1994). *Determination of chromium (III) and chromium (VI) in river water by electrothermal atomic absorption spectrometry after sorption preconcentration in a microwave field.*, *Analyst.*, 119, 2477.
- Lan C-R., Tseng C-L., Yang M-H. (1991). *Two-step coprecipitation method for differentiating chromium species in water followed by determination of chromium by neutron activation analysis.*, *Analyst.*, 116, 35.
- LaZerte B. D., Chun C., Evans D. (1988). *Measurement of aqueous species: comparison of dialysis and ion-exchange techniques.*, *Environ. Sci. Technol.*, 22, 1106.
- Le Sean X. C., Cullen W. R., Reimer K. J. (1994). *Speciation of arsenic compounds in some marine organisms.*, *Environ. Sci. Technol.*, 28, 1598.
- Le X-C., Cullen W. R., Reimer K. J. (1994). *Effect of cysteine on the speciation of arsenic by using hydride generation atomic absorption spectrometry.*, *Analytica Chimica Acta.*, 285, 277.
- Lobinski R. and Adams F. C. (1992). *Sensitive speciation analysis of lead in environmental waters by capillary gas chromatography microwave-induced plasma atomic emission spectrometry.*, *Analytica Chimica Acta.*, 262, 285.
- López A., Torralba R., Palacios M. A., Camara C. (1992). *Generation of AsH₃ from As (V) in the absence of KI as prereducing agent: speciation of inorganic arsenic.*, *Talanta.*, 39(10), 1343.

Lupsina V., Horvat M., Jeran Z., Stegnar P. (1992). *Investigation of mercury speciation in lichens.*, *Analyst.*, 117, 673.

Madrid Y., Cabrera C., Perez-Corona T., Cámara C. (1995). *Speciation of methylmercury and Hg(II) using baker's yeast biomass (saccharomyces cerevisiae). Determination by continuous flow mercury cold vapor generation atomic absorption spectrometry.*, *Anal. Chem.*, 67(4), 750.

Manahan Stanley E. (1985). *Toxicological Chemistry. A guide to toxic substances in chemistry.*, Lewis Publishers, 4 th edition.

Manahan Stanley E. (1991). *Environmental Chemistry.*, Lewis Publishers, 5th edition.

Medina I., Rubi E., Mejuto C. M., Cela R. (1993). *Speciation of organomercurials in marine samples using capillary electrophoresis.*, *Talanta.*, 40(11), 1631.

Merian E. (1991). *Metals and their compounds in the environment.*, VCH, 1st edition.

Mikac N. and Branica M. (1992). *Determination of ionic alkyllead compounds in natural waters by differential-pulse anodic stripping voltammetry.*, *Analytica Chimica Acta.*, 264, 249.

Minagawa K. and Takizawa Y. (1980). *Determination of very low levels of inorganic and organic mercury in natural waters by cold-vapor atomic absorption spectrometry after preconcentration on a chelating resin.*, *Analytica Chimica Acta.*, 115, 103.

Miyazaki A. and Barnes R. M. (1981). *Differential determination of chromium (VI) - Chromium (III) with poly(dithiocarbamate) chelating resin and inductively coupled plasma - atomic emission spectrometry.*, *Anal. Chem.*, 53(2), 365.

Munaf E., Haraguchi H., Ishii D. (1990). *Speciation of mercury compounds in waste water by microcolumn liquid chromatography using a preconcentration column with cold-vapour atomic absorption spectrometric detection.*, *Analytica Chimica Acta.*, 235, 399.

Naghmush A. M., Pyrzynska K., Trojanowicz. (1995). *Flame AAS determination of lead in water with flow-injection preconcentration and speciation using functionalized cellulose sorbent.*, *Talanta.*, 42(6), 851.

Norma Oficial Mexicana (NOM)-127-SSA1-1994.

Nyamah D. and Torgbor J. O. (1986). *Colorimetric method for the determination of arsenic in potable water.*, *Wat. Res.*, 20(11), 1341.

Perkin-Elmer. (1982). *Analytical methods for atomic absorption spectrometry.*

Pierce F. D. and Brown H. R. (1976). *Inorganic interference study of automated arsenic and selenium determination with atomic absorption spectrometry.*, *Anal. Chem.*, 48(4), 693.

Powell M. J. and Boomer D. W. (1995). *Determination of chromium species in environmental samples using high-pressure liquid chromatography direct injection nebulization and inductively coupled plasma mass spectrometry.*, *Anal. Chem.*, 67(14), 2474.

Pradyot P. (1992). *A comprehensive guide to the hazardous properties of chemical substances.*, Van Nostrand Reinhold.

Pungor E. (1995). *A practical guide to instrumental analysis.*, CRC Press, Inc.

Purdue L. J., Enrione R. E., Thompson R. J., Bonfield B. A. (1973). *Determination of*

organic and total lead in the atmosphere by atomic absorption spectrometry., Anal. Chem., 45(3), 527.

Puttemans F. and Massart D. L. (1982). *Solvent extraction procedures for the differential determination of arsenic (V) and arsenic (III) species by electrothermal atomic absorption spectrometry.*, Analytica Chimica Acta., 141, 225.

Quintela M-J., Gallego M., Valcácel M. (1993). *Flow injection spectrophotometric method for the speciation of aluminium in river and tap waters.*, Analyst., 118, 1199.

Radojevic M., Allen A., Rapsomanikis S., Harrison R. M. (1986). *Propylation technique for the simultaneous determination of tetraalkyllead and ionic alkyllead species by gas chromatography-atomic absorption spectrometry.*, Anal. Chem., 58, 658.

Radziuk B., Thomassen Y., Van Loon J. C., Chau Y. K. (1979). *Determination of alkyllead compounds in air by gas chromatography and atomic absorption spectrometry.*, Analytica Chimica Acta., 105, 255.

Rapsomanikis S., Donard O. F. X., Weber J. H. (1986). *Speciation of lead and methyllead ions in water by chromatography-atomic absorption spectrometry after ethylation with sodium tetraethylborate.*, Anal. Chem., 58, 35.

Sarzanini C., Sacchero G., Aceto M., Abollino O., Mentasti E. (1994). *Ion chromatographic separation and on-line cold vapour atomic absorption spectrometric determination of methylmercury, ethylmercury and inorganic mercury.*, Analytica Chimica Acta., 484, 661.

Schintu M., Kauri T., Kudo A. (1989). *Inorganic and methyl mercury in inland waters.*, Water Res., 23(6), 699.

Seiler H. G., Sigel A., Sigel H. (1994). *Handbook on metals in clinical and analytical chemistry.*, Marcel Dekker, Inc., 1st edition.

Sperling M., Yin X., Welz B. (1992). *Differential determination of chromium (VI) and total chromium in natural waters using flow injection on-line separation and preconcentration electrothermal atomic absorption spectrometry.*, *Analyst.*, 117, 629.

Sutheimer S. H., Cabaniss S. E. (1995). *Aqueous Al (III) speciation by high-performance cation exchange chromatography with fluorescence detection of the aluminum-lumogalion complex.*, *Anal. Chem.*, 67, 2342.

Thompson M. and Walsh J. N. (1989). *Handbook of inductively coupled plasma spectrometry.*, Blackie & Son Ltd, 2nd edition.

Van Cleuvenbergen R. J. A., Chakraborti D., Adams F. C. (1986). *Occurrence of tri- and dialkyllead species in environmental water.*, *Environ. Sci. Technol.*, 20, 589.

Van Elteren J. T., Hoeghe J., Van Der Hoek E.E., Das H. A., De Ligny C. L., Agterdenbos J. (1991). *Preservation of As (III) and As (V) in some water samples.*, *J. Radioanal. Nucl. Chem. Letters.*, 154(5), 343.

Van Elteren J. T., Das H. A., De Ligny C. L., Agterdenbos J., Bax D. (1994). *Arsenic speciation in aqueous samples using a selective As (III) / As (V) preconcentration in combination procedure for monomethylarsonic acid and dimethylarsinic acid.*, *J. Radioanal. Nucl. Chem Articles.*, 179(2), 211.

Wallas G. F., Barrest P. (1981). *Analytical methods development for inductively coupled plasma spectrometry.* Inc. Corporation Perkin-Elmer Notwalk.

Willard M. D. (1982). *Métodos instrumentales de análisis.*, 5a edición, Continental, S. A. de C. V., Méx.

Yu M-Q., Liu G-Q., Jin Q. (1983). *Determination of trace arsenic, antimony, selenium and tellurium in various oxidation states in water by hydride generation and atomic absorption spectrophotometry after enrichment and separation with thiol cotton.* *Talanta.* 30(4), 265.

Zakrzewski Sigmund F. (1991). *Principles of environmental toxicology.* ACS Professional Reference Book.

ANEXOS

ANEXO 1

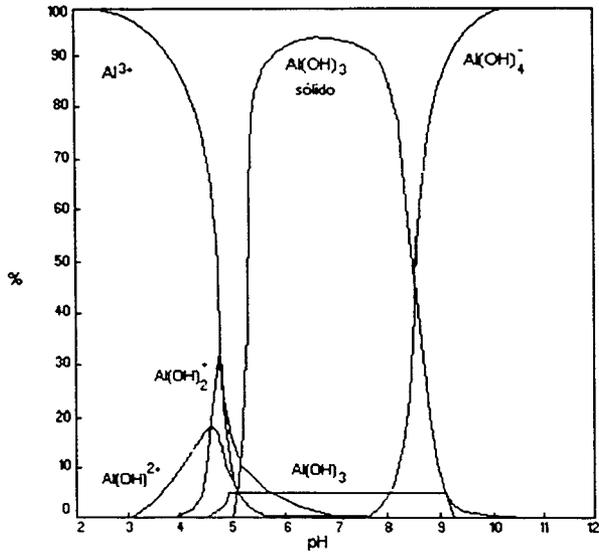


Figura A1-1. Diagrama de especies de hidroxialuminio en función de pH.

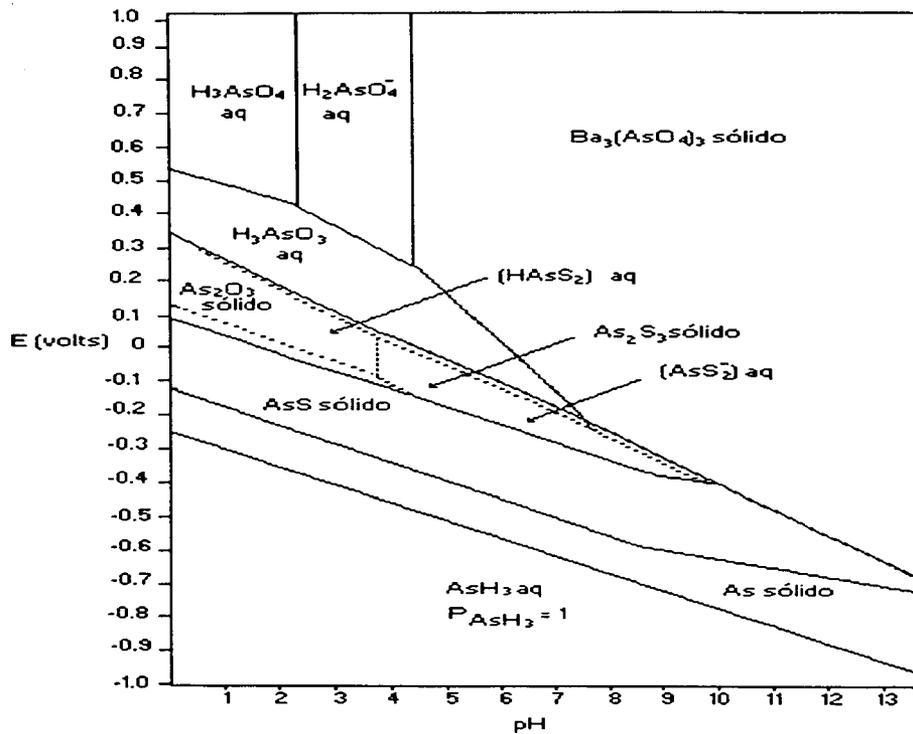


Figura A1-2. Zonas de dominio de especies de arsénico en presencia de 10^{-5} M de arsénico total, 10^{-3} M de sulfuro y 2.2×10^{-7} M de bario.

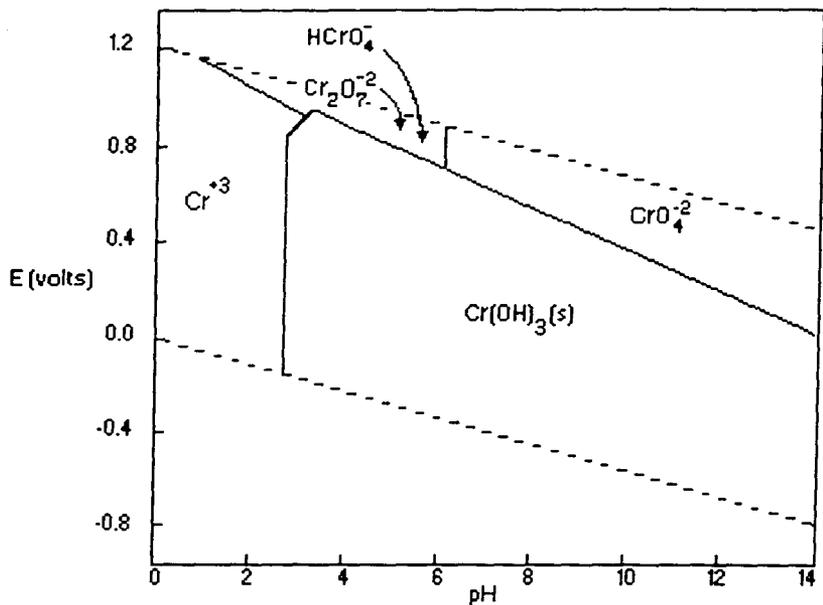


Figura A1-3. Diagrama E vs pH para el sistema de cromo en agua.

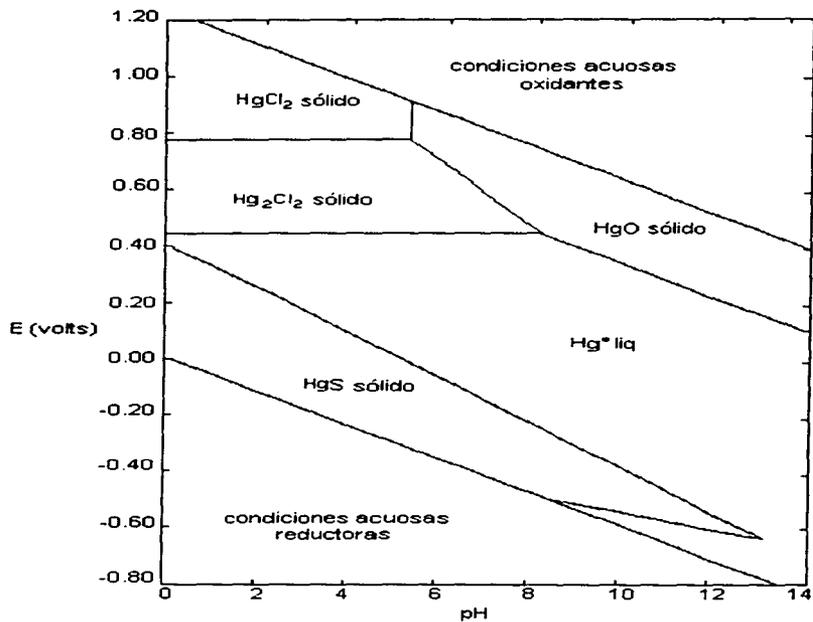


Figura A1-4. Diagrama E vs pH de especies de mercurio con 36 mg/L de Cl⁻ y 96 mg/L de sulfuro como sulfato.

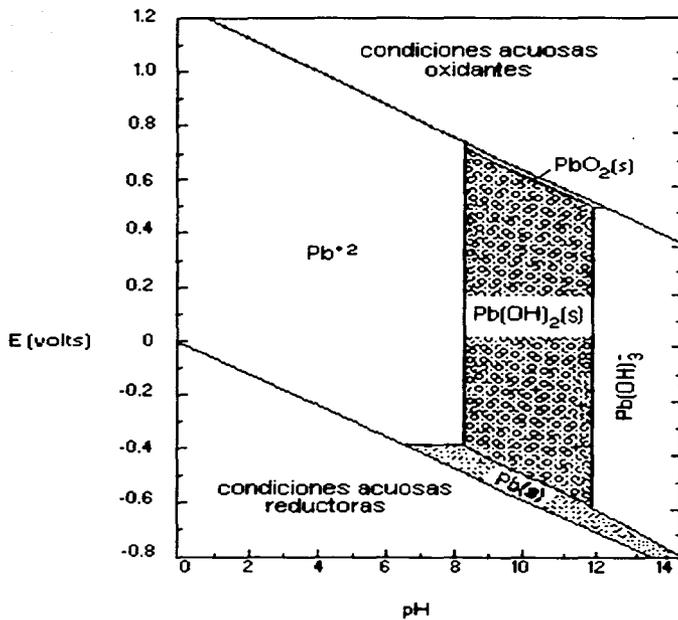


Figura A1-5. Diagrama E vs pH para un sistema de plomo en agua.

ANEXO 2

Tabla A2-1. Niveles de detección en mg/L de diferentes técnicas analíticas.

Elemento	A. A. Flama	A. A. Horno de Grafito	A. A. Hidruros	Plasma Acop. Inductivamente
Al	0.03 ^{a,b}	0.00001		
Sb	0.03 ^c	0.0002	0.0001	0.02
As	0.1 ^c	0.0002	0.00002	
Ba	0.008 ^{a,b,e}	0.00004		0.05
Bi	0.02 ^c	0.0001	0.00002	0.0005
B	0.7 ^{a,b}	0.02		
Cd	0.0005 ^c	0.000003		0.004
Ca	0.001 ^c	0.00005		0.004
Cr	0.002 ^c	0.00001		0.0001
Co	0.006 ^c	0.00002		0.005
Cu	0.001 ^c	0.00002		0.006
Au	0.006 ^c	0.0001		0.003
Fe	0.003 ^c	0.00002		
Pb	0.01 ^c	0.00005		0.003
Li	0.0005 ^c	0.0003		
Mg	0.00001 ^c	0.000004		
Mn	0.001 ^c	0.00001		
Hg	0.2 ^c	0.002		0.001
Mo	0.03 ^{a,b}	0.00002	0.000001 ^f	
Ni	0.004 ^c	0.0001		0.008
Nb	1.00 ^{a,b,e}			0.01
P	50.00 ^{a,b}	0.04		0.02
K	0.002	0.00002		0.05
Se	0.07 ^c	0.0005		
Si	0.06 ^{a,b}	0.0001	0.00002	0.05
Ag	0.0009 ^c	0.000005		
Na	0.0002	0.0005		
S				
Ta	1.00 ^{a,b}			0.05 ^d
Te	0.02 ^c			0.02
Tl	0.009 ^c	0.0001	0.00002	
Sn	0.1 ^{a,b}	0.0002		
Ti	0.05 ^{a,b}	0.0005		0.03
W	1.0 ^{a,b}			0.002
U	11.0 ^{a,b}			0.04
V	0.04 ^{a,b}			0.05
Zn	0.0008 ^c	0.0002		0.005
Zr	0.4 ^{a,b}	0.000001		0.002
				0.004

Las especificaciones de la *tabla A2-1* son las siguientes:

- Usar flama óxido nitroso-acetileno.
- Usar spoiler en cámara de spray.
- Usar esfera de impacto en cámara de spray.
- Se requiere purgar.
- Agregar 1.00 mg/L de potasio para control de la ionización.
- † Usar accesorio de amalgamación MHS-20 (Perkin-Elmer, 1982).

ANEXO 3

Con el objetivo de realizar la evaluación de una metodología analítica de especiación, se seleccionó la metodología descrita por Hasegawa *et al* (1994) para especiar arsénico trivalente y pentavalente en una muestra acuosa. La metodología describe la complejación del As (III) con dietilditiocarbamato de dietilamonio (DDCDA) en CCl_4 y la determinación por GH-EAA (Generación de Hidruros-Espectroscopia de Absorción Atómica).

La evaluación consistió en aplicar la metodología reportada a una solución sintética que contenía As(III) y As(V) a una concentración de 0.05 mg/L de cada especie, y analizar las soluciones obtenidas por GH-EAA.

Reactivos y material

Se prepararon las soluciones de As(III) y As(V) a una concentración de 0.1 mg/L a partir de las sales As_2O_3 y $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, respectivamente, solución de dietilditiocarbamato de dietilamonio 0.01M en CCl_4 , solución amortiguadora de acetato de sodio/ácido acético a pH 5.0 y soluciones de NaClO al 5%, HCl 5 M y NaOH 0.1M. Los reactivos fueron de grado analítico y se empleó en las disoluciones agua desionizada. El material de cristalería y recipientes de polietileno se lavaron con ácido nítrico diluido y se enjuagaron con agua desionizada.

Equipo

Las determinaciones de As se realizaron por GH-EAA en un espectrofotómetro de absorción atómica marca Perkin-Elmer, modelo 1100B. Los análisis se realizaron utilizando la línea de resonancia de As a 193.7 nm y SBW (0.7). La calibración para 0.2 nm de absorbancia se realizó con una solución de 50 ng/10 ml de As en medio

ácido, la cual se preparó a partir de una solución "stock" de As (1000 $\mu\text{g/ml}$). El blanco utilizado para ajustar a cero fue 10 ml de HCl al 1.5%.

Procedimientos para evaluar la especiación

Arsénico (III):

1) Se mezclaron iguales volúmenes de las soluciones de As^{3+} y As^{5+} que contenían teóricamente 0.1 mg/L, para obtener una solución final con 0.05 mg/L (C) de cada especie (As^{3+} y As^{5+}).

2) Un volumen de 500 ml (V) de la solución final se colocó en un embudo de separación, y se añadieron 30 ml de DDCDA/ CCl_4 y 10 ml de la solución amortiguadora.

3) Se agitó el embudo por 15 minutos y se separaron las fases. La fase acuosa se desechó y la fase orgánica [$(\text{DDC})_3 \text{As}$] se transfirió cuantitativamente a otro embudo de separación, al que se agregaron 30 ml de la solución de NaOH.

4) Se agitó el embudo por 15 minutos y se separaron las fases. La fase orgánica se desechó y la fase acuosa (As^{3+}) se transfirió cuantitativamente a un matraz erlenmeyer, al que se agregaron 5 ml de HCl y 5 gotas de NaClO.

5) La solución en el matraz se calentó por 25 minutos a una temperatura de 90 °C aproximadamente. La solución se dejó enfriar y después se agregaron 5 ml de HCl y se aforó a 50 ml (v) con agua desionizada.

6) Las muestras se analizaron una semana después por GH-EAA.

Arsénico total:

A partir de la solución final que contenía las dos especies se determinó el contenido de arsénico total (Ast). Una muestra de 50 ml de la solución se acidificó con 5 ml de HCl y analizó por GH-EAA.

Resultados y discusión

Para fines estadísticos se realizaron cinco extracciones de As (III) a partir de la misma solución sintética. Las muestras primarias de As^{3+} , As^{5+} y Ast, así como las muestras obtenidas de las extracciones (E_1 a E_5) se analizaron cada una por quintuplicado. En la *tabla A3-1* se muestran los resultados de los cinco análisis para cada muestra. Se observa que los valores obtenidos para todas las muestras varían de una determinación a otra. La variación entre cada determinación es posible atribuirla a la forma de pipetear las muestras (microlitros) y a deficiencias en la calibración del equipo.

Tabla A3-1. Resultados de las determinaciones de las muestras primarias y de las cinco extracciones realizadas (E_i).

Muestra	Determinación no.				
	1	2	3	4	5
As^{3+}	0.0958	0.1196	0.1707	0.1533	0.1235
As^{5+}	0.0754	0.1076	0.0982	0.0878	0.0734
Ast	0.068	0.1287	0.09	0.1139	0.1153
E_1^*	0.2214	0.2464	0.2238	0.2214	0.2857
E_2^*	0.1476	0.126	0.145	0.161	0.121
E_3^*	0.187	0.187	0.123	0.15	0.201
E_4^*	0.242	0.275	0.272	0.315	0.316
E_5^*	0.16	0.325	0.263	0.1973	0.1948
	<i>valores en mg/L</i>				

* Referidos al volumen de aforo después de la extracción, 50 ml.

En la *tabla A3-2* se presentan los valores promedio para cada muestra. Los valores promedio de las cinco extracciones muestran que no se extrajo más de 0.2840 mg/L de As^{3+} . Los porcentajes de extracción de As^{3+} resultaron ser insuficientes, ya que estos variaron del 24 a 50% aproximadamente. En general, la escasa recuperación del As^{3+} por extracción puede atribuirse a diferentes fuentes de error, como el tiempo insuficiente de agitación, la separación no cuantitativa de las fases acuosa y orgánica en los pasos de extracción y re-extracción, evaporación del analito en la destrucción de la fase orgánica residual y la posible oxidación del As^{3+} en la muestra.

Se realizaron otras pruebas de extracción variando el tiempo de agitación (20 min), pH (5.5-6.0) y utilizando una solución de As^{3+} preparada a partir de arsenito de sodio ($NaAsO_2$). Los resultados mostraron que aún cambiando las anteriores condiciones se obtuvieron porcentajes de extracción deficientes (20-46%).

Tabla A3-2. Valores promedio de cada muestra y porcentajes de las extracciones realizadas.

<i>Muestra</i>	<i>promedio, mg/L</i>	<i>%E (As^{3+} extraído)</i>
As^{3+} (C)	0.1129	-
As^{3+}	0.0979	-
AsI	0.1119	-
E ₁ (c)	0.2397	42.5
E ₂ (c)	0.1401	24.84
E ₃ (c)	0.1696	30.07
E ₄ (c)	0.2840	50.35
E ₅ (c)	0.2280	40.42

Los porcentajes de extracción se obtuvieron aplicando las siguientes ecuaciones:

$$C \times V/2 = M \quad (1)$$

donde:

C, concentración de As^{3+} , mg/L.

V, volumen inicial de extracción, L.

M , masa de As^{3+} por extraerse, mg.

2, factor de dilución.

$$c \times v / 1000 = m \quad (2)$$

donde:

c , concentración de As^{3+} después de la extracción, mg/L.

v , volumen de aforo después de la extracción, ml.

1000, factor de conversión.

m , masa de As^{3+} extraída, mg.

$$E = m/M \times 100 \quad (3)$$

donde:

E , arsénico (III) extraído, %.

Conclusiones

La evaluación de la metodología permitió concluir que es posible determinar el arsénico trivalente de una mezcla de especies tri- y pentavalente, aún cuando la determinación no es cuantitativa. La consideración de todas las posibles fuentes de error y la eliminación total o parcial de éstas, conducirá a obtener resultados analíticos más significativos. El estudio más profundo de todas las variables experimentales que influyen en la determinación del As (III) permitirá evaluar completamente la metodología.

Con base en esta experiencia se concluye que es necesario evaluar las metodologías analíticas antes de aplicarlas a casos particulares de estudio.

ABREVIATURAS

AAS	<i>Atomic Absorption Spectrophotometry</i>
AES	<i>Atomic Emission Spectrometric</i>
AFS	<i>Atomic Fluorescence Spectrometry</i>
ATSDR	<i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i>
CE	<i>Capillary Electrophoresis</i>
CNA	<i>Comisión Nacional del Agua</i>
CVAAS	<i>Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry</i>
CVAFS	<i>Cold Vapour Atomic Fluorescence Spectrometry</i>
DIN-ICPMS	<i>Direct Injection Nebulization - Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
DPASV	<i>Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry</i>
ECD	<i>Electron Capture Detection</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
ETAAS	<i>Electrothermal Atomic Absorption Spectrophotometry</i>
FG-AAS	<i>Graphite Furnance Atomic Absorption Spectrometer</i>

FI	<i>Flow Injection</i>
GC-ECD	<i>Gas Chromatography Electron Capture Detection</i>
GC-LSS	<i>Gas Chromatography Liquid Scintillation Spectrometric</i>
GC-MIP	<i>Gas Chromatography Microwave Induced Plasma Emission Detection</i>
HG-AAS	<i>Hydride Generation Atomic Absorption Spectrophotometry</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IC	<i>Ion Chromatography</i>
ICPMS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrophotometry</i>
MAS	<i>Molecular Absorption Spectrophotometry</i>
NAA	<i>Neutron Activation Analysis</i>
NOM	<i>Norma Oficial Mexicana</i>
PIC-HPLC	<i>Pairing Ion High Performance Liquid Chromatography</i>
UV-VIS	<i>Ultraviolet - Visible Spectrophotometry</i>

GLOSARIO

Agente tóxico: Cualquier sustancia capaz de producir un efecto nocivo sobre los organismos vivos.

Cromóforo: Es un grupo funcional aislado capaz de absorber radiación visible y/o ultravioleta (800-200 nm).

Deposición ácida: Se refiere a la deposición en la superficie de la tierra de ácidos acuosos, gases ácidos (como SO_2) y sales ácidas (NH_4HSO_4).

Elución: Es el proceso de extracción de un componente a partir de otro.

Eluyente: Es un líquido usado para extraer un componente a partir de otro, como en cromatografía.

Intercambio iónico: Proceso de remoción de aniones o cationes específicos disueltos en agua, a través de su reemplazo por aniones o cationes de un medio de intercambio, natural o sintético, con el que se pone en contacto.

Lluvia ácida: Precipitación de gotas de agua que al entrar en contacto con SO_2 y NO_x del aire contaminado y por acción fotoquímica, toma un carácter marcadamente ácido.

Metaloides: Elemento con propiedades de los metales y de los no metales. Denominación de los semimetales o elementos de transición.

pH: Es el logaritmo en base 10 de la concentración de iones hidrógeno con signo negativo; sirve para indicar la concentración de iones hidrógeno o de iones hidroxilo en las disoluciones acuosas.

Precipitación pluvial: Caída del agua en cualquiera de sus formas (lluvia, nieve, granizo).

Toxicidad: Capacidad inherente a un agente químico de producir un efecto nocivo sobre los organismos vivos.