



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE QUÍMICA

**DESARROLLO DE METODOLOGÍAS DE ANÁLISIS POR
INYECCIÓN SECUENCIAL PARA LA DETERMINACIÓN DE
FOSFATOS, ARSENATOS Y ARSENITOS**

Tesis que para obtener el título de:

QUÍMICA

Presenta

Belén E. Ramírez Cordero



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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	Profa. Rebeca Mariana Sandoval Márquez
Vocal	Profa. Liliana Virginia Raquel Saldívar y Osorio
Secretaria	Profa. María del Pilar Cañizares Macias
1er. suplente	Prof. Adolfo García Osuna
2do. suplente	Profa. Anel Verónica Garduño García

SITIO DONDE SE REALIZÓ EL TEMA

Laboratorios 105 y 106 de la Unidad de Posgrado, Depto. De Química Analítica,
Facultad de Química

Asesor de Tesis

Dra. Ma. del Pilar Cañizares Macias

Sustentante

Belén Ernestina Ramírez Cordero

INDICE

Objetivos.....	1
Introducción.....	2
1 Fundamento teórico.....	4
1.1 Especiación.....	4
1.2 Arsénico.....	4
1.3 Fosfatos.....	6
1.4 Reacción de formación del azul de molibdeno.....	7
1.5 Automatización.....	8
1.6 Análisis por inyección secuencial (SIA).....	9
1.6.1 Componentes principales de una configuración SIA.....	10
1.6.2 Características del análisis por inyección secuencial.....	12
1.6.3 Diagramas obtenidos en el análisis (siagramas).....	12
1.6.4 Dispersión.....	13
1.6.5 Zona de traslape.....	16
1.7 Espectrometría de absorción molecular ultravioleta – visible.....	20
1.7.1 Limitaciones de la ley de Beer.....	22
1.7.2 Instrumentación.....	22
1.7.3 Fuente.....	23
1.7.4 Recipiente.....	23
1.7.5 Tipo de instrumento.....	24
1.7.6 Análisis cuantitativo mediante medidas de absorción.....	25
1.7.7 Selección de la longitud de onda.....	25
1.7.8 Método de adición estándar.....	26
1.8 Otras formas de cuantificar arsénico.....	26
1.8.1 Técnicas espectrométricas.....	26
1.8.1.1 Absorción Atómica con Generación de Hidruros (GH – AAS).....	26
1.8.1.2 Espectrometría de Absorción Atómica con horno de grafito.....	27

1.8.1.3	Espectrometría de Emisión Atómica – Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP – AES) y Espectrometría de Masas – Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP – MS).....	28
1.8.1.4	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC) y ICP – MS.....	28
1.8.2	Métodos Electroquímicos.....	29
1.8.3	Técnicas colorimétricas.....	30
1.9	Otras formas de determinar fosfatos.....	30
2	Metodología.....	33
2.1	Equipos y materiales.....	33
2.2	Procedimiento.....	34
2.2.1	Preparación de disoluciones.....	34
2.2.2	Obtención de espectros.....	35
2.2.2.1	Heteropoliácido de fósforo.....	35
2.2.2.2	Heteropoliácido de arsénico.....	35
2.2.3	Configuraciones SIA optimizadas.....	35
2.2.3.1	Configuración I.....	36
2.2.3.2	Configuración II.....	37
2.2.3.3	Configuración III.....	38
2.2.4	Secuencias de inyección.....	39
2.2.4.1	Secuencia de inyección A.....	39
2.2.4.2	Secuencia de inyección B.....	40
2.2.5	Determinación de los analitos de interés.....	40
2.2.5.1	Determinación de fosfatos.....	40
2.2.5.2	Determinación de arsenatos.....	41
2.2.5.3	Determinación de arsenitos.....	41
2.2.5.4	Resolución de mezclas binarias de fosfatos y arsenatos.....	41
2.2.5.5	Resolución de mezclas binarias de arsenatos y arsenitos.....	42
2.2.5.6	Resolución de mezclas ternarias de fosfatos, arsenatos y arsenitos.....	42

2.2.5.7	Resumen de las secuencias empleadas y su aplicación.....	43
2.3	Cálculos.....	43
2.3.1	Cálculo de las concentraciones en mezclas binarias de fosfatos y arsenatos.....	45
2.3.2	Cálculo de las concentraciones en mezclas binarias de arsenatos y arsenitos.....	46
2.3.3	Cálculo de las concentraciones en mezclas binarias de fosfatos, arsenatos y arsenitos.....	47
2.3.4	Cálculo de los límites de detección y cuantificación de las curvas de calibración.....	48
2.4	Evaluación de los métodos.....	49
2.4.1	Precisión como repetibilidad.....	49
2.4.2	Reproducibilidad y repetibilidad (prueba de siete días).....	49
2.4.3	Exactitud.....	51
2.5	Muestras.....	52
2.5.1	Determinación de fosfatos y As(V) solubles en jales mineros.....	52
2.5.1.1	Extracción de compuestos solubles.....	52
2.5.1.2	Medición de fosfatos.....	52
2.5.1.3	Medición de As(V).....	52
2.5.2	Determinación de As(V) en arsenopirita.....	52
3	Resultados.....	54
3.1	Espectros de absorción de los heteropoliácidos de fósforo y As(V).....	54
3.2	Sistema de inyección secuencial.....	55
3.2.1	Optimización de parámetros químicos.....	55
3.2.1.1	Disolución de ácido ascórbico.....	55
3.2.1.2	Disolución de molibdato de amonio.....	55
3.2.1.3	Disolución de yodato de potasio.....	56
3.2.2	Optimización de parámetros físicos e hidrodinámicos.....	57
3.2.2.1	Temperatura.....	57
3.2.2.2	Caudal.....	59

3.2.2.3	Secuencia de inyección para la determinación de fosfatos y arsenatos.....	59
3.2.2.3.1	Optimización de los volúmenes de reactivos y muestra.....	60
3.2.2.4	Secuencia de inyección para la determinación de arsenitos.....	61
3.2.2.4.1	Volúmenes de reactivos y muestra.....	62
3.2.2.5	Reactor de espera.....	62
3.2.2.6	Reactor de reacción.....	63
3.3	Curvas de calibración.....	64
3.4	Estudio de la determinación de especies en mezclas de los analitos de interés.....	67
3.4.1	Mezclas binarias de fosfatos y arsenatos.....	67
3.4.2	Mezclas binarias de arsenatos y arsenitos.....	69
3.4.3	Mezclas ternarias de fosfatos, arsenatos y arsenitos.....	71
3.5	Evaluación de la precisión del método.....	72
3.6	Exactitud.....	74
3.7	Resultados del análisis de muestras.....	74
3.7.1	Determinación de fosfatos y As(V) solubles en jales mineros.....	75
3.7.2	Determinación de As(V) en arsenopirita.....	76
	Conclusiones.....	78
	Perspectivas.....	79
	Referencias.....	80

OBJETIVOS

Objetivo general

Desarrollar y evaluar metodologías automáticas para determinar fosfatos, arsenatos y arsenitos en medio acuoso por medio de sistemas de análisis por inyección secuencial (SIA).

Objetivos particulares

- Optimizar los parámetros hidrodinámicos, químicos y físicos del sistema SIA para poner a punto la determinación de cada uno de los analitos en estudio.
- Elaborar las curvas de calibración para desarrollar el sistema de ecuaciones más conveniente para calcular la concentración de los tres analitos en mezclas.
- Validar el método mediante el cálculo de precisión, reproducibilidad, repetibilidad, exactitud, límite de detección y límite de cuantificación para cada analito.
- Analizar muestras reales con el método propuesto.

INTRODUCCIÓN

Existen numerosas técnicas para la determinación de fosfatos, la mayoría tienen como base la reacción de estos iones con los iones molibdato para formar el heteropoliácido de fosfomolibdato. Una desventaja importante que tienen estas técnicas es la interferencia por presencia de iones arsenato y silicato, los cuales reaccionan de forma similar con el molibdato formando los heteropoliácidos correspondientes que tienen un comportamiento casi igual al del fosfomolibdato. Por lo tanto, en muestras que contienen arsenatos o silicatos, la determinación de fosfatos dará una concentración mayor a la real. Esta interferencia se tomó como base para lograr la determinación de las concentraciones individuales de arsenatos y fosfatos simultáneamente.

La determinación de arsénico es muy importante debido a su alta toxicidad. En México, las personas en varios estados como Baja California Sur, Chihuahua, Coahuila, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo y Morelos, están expuestas a residuos con alto contenido de arsénico, sobretodo en sus formas inorgánicas. Estos residuos han sido generados especialmente por la industria minera a lo largo de los dos últimos siglos.

En este proyecto se logró optimizar un sistema automático de análisis por inyección secuencial para determinar fosfatos, arsenatos y arsenitos. Se realizaron curvas de calibración en las condiciones adecuadas para cada analito. Para todas se obtuvo un valor de regresión lineal mayor de 0.998. Los intervalos de concentración en los que se demostró que la respuesta analítica es lineal para la determinación de los tres analitos estudiados es de 0.5 – 10 mg/L.

Para cada curva de calibración se realizó la determinación de los límites de detección y cuantificación, también se realizó el cálculo de repetibilidad con resultados entre 1.1 y 6.8 % de desviación estándar relativa.

Se logró la resolución de mezclas binarias de fosfatos y arsenatos cuando las concentraciones de los analitos se encontraban en proporciones desde 5P:1As hasta 1P:5As.

La cuantificación de arsenatos y arsenitos pudo ser realizada fácilmente cuando la proporción de arsenitos: arsenatos es mayor de 5:1. Cuando esta proporción es menor, fue necesario realizar la cuantificación de arsenitos con una curva de adiciones estándar de arsenatos. También se logró la cuantificación de arsenatos, arsenitos y fosfatos en mezclas ternarias cuando la concentración de arsenitos es mayor que la concentración de fosfatos y arsenatos.

Se realizaron pruebas para determinar la precisión de las determinaciones de fosfatos y arsenatos por separado y en mezclas. Este procedimiento se realizó utilizando estándares certificados de los analitos. En disoluciones simples se obtuvieron valores de repetibilidad entre 0.7 y 3.9 % y de reproducibilidad entre 1.4 y 4.7 %. En mezclas se obtuvieron valores de repetibilidad entre 1.3 y 1.9 %, y de reproducibilidad entre 1.7 y 5.3 % para ambos analitos.

Por último se aplicó el método midiendo fosfatos y arsenatos en jales mineros y arsenatos en arsenopirita.

1 FUNDAMENTO TEÓRICO

1.1 ESPECIACIÓN

La especiación de elementos es de gran interés especialmente en análisis ambiental, esto debido a que la toxicidad de varios elementos depende directamente de la forma química en la que se encuentra. Esencialmente, éste es el origen del amplio desarrollo de métodos analíticos que permiten, entre otras cosas, diferenciar las diversas formas en las que se encuentra una sustancia en el medio investigado.

Un ejemplo representativo y que además es tratado en el presente proyecto, es el caso del arsénico, en general se ha comprobado que el As(III) es más tóxico que el As(V), el cual a su vez es más tóxico en su forma inorgánica (arsenato AsO_4^{3-}) que en sus formas orgánicas como son la arsenobetaina, el ión tetrametilarsónico $[(\text{CH}_3)_4\text{As}^+]$, metilarsenato, dimetilarsenato y algunos arsenoazúcares que se encuentran principalmente en peces y otros organismos acuáticos [1].

1.2 ARSÉNICO

Se obtiene como producto secundario en la producción y refinación de cobre, plomo, zinc, estaño y oro. México produce 20% de todo el arsénico mundial. Se utiliza en la fabricación de insecticidas, herbicidas y fungicidas, aunque cada vez menos para estos fines. Se producen algunos colorantes a base de arsénico. Se emplea en tratamientos de enfermedades de la piel, como la psoriasis, en la disección de animales y conservación de pieles, en la industria de la curtiduría y peletería, en las del vidrio y microelectrónica.

Por razones geológicas naturales, en ciertas zonas del mundo el agua que beben algunas poblaciones puede contener más arsénico inorgánico del habitual. Así ocurre en Argentina, Formosa, Chile y México.

La población con mayor riesgo es la que vive cerca de las explotaciones mineras y sus desechos, y la expuesta a través del aire y agua contaminados por tales

actividades. También la que vive cerca de las instalaciones en donde se refina el arsénico o se utiliza como materia prima.

El arsénico entra al cuerpo a través de agua y alimentos contaminados, y por malos hábitos higiénicos en el trabajo. También ingresa por inhalación de polvos y vapores.

En exposiciones agudas y a altas concentraciones, el arsénico irrita ojos, piel y tracto respiratorio. La aguda puede causar efectos adversos en los sistemas circulatorio y nervioso; en riñón, hígado y tracto gastrointestinal, causando convulsiones, alteraciones renales, hemorragias graves, pérdida de fluidos y electrolitos, *shock* y muerte. Los efectos pueden no ser inmediatos.

Las exposiciones prolongadas o repetidas en la piel, pueden ocasionar inflamación y a largo plazo, afectar las membranas mucosas, piel, riñón e hígado, dando lugar a neuropatías, alteraciones de la pigmentación y perforación del tabique nasal.

En las poblaciones que beben agua contaminada con altas concentraciones de arsénico se han descrito efectos vasculares periféricos caracterizados por cianosis y pérdida progresiva de la circulación en las extremidades, que puede finalizar en gangrena seca, mejor conocida como *enfermedad del pie negro*. Ésta eventualmente conlleva la amputación del miembro. En dichas poblaciones se incrementa el riesgo de cáncer de piel o tumores en vejiga, riñón, hígado y pulmón. El arsénico es un carcinogénico comprobado y puede indirectamente dañar el material genético. Los trabajadores expuestos al arsénico por inhalación presentan propensión al cáncer de pulmón [1, 2, 3, 4].

Las especies más tóxicas y abundantes son las inorgánicas, arsenito [As (III)] y arsenato [As (V)], siendo el As(III) el más tóxico. [1].

La solubilidad del arsénico está determinada principalmente por la concentración de Mn, Fe y Ca contenida en el agua, esto es debido a que estos iones, al reaccionar con el arsénico forman $Mn_3(AsO_4)_2$, $FeAsO_4$ y $Ca_3(AsO_4)_2$, complejos

insolubles en agua. Así, todos los aniones que compitan para formar complejos con estos metales alteran la movilización del arsénico; un ejemplo importante es el caso de los iones fosfato, los cuales a una concentración de 3×10^{-3} M evitan la precipitación del arsénico. Por lo tanto, aguas expuestas a arsénico y que tienen alto contenido de fosfatos presentan mayor cantidad de este elemento en solución que aguas con concentraciones bajas de fosfatos [5].

1.3 FOSFATOS

El fósforo forma la base de gran número de compuestos, de los cuales los más importantes son los fosfatos. En todas las formas de vida, los fosfatos desempeñan un papel esencial en los procesos de transferencia de energía, como el metabolismo, la fotosíntesis, la función nerviosa y la acción muscular. Los ácidos nucleicos, que entre otras cosas forman el material hereditario (los cromosomas), son fosfatos, así como cierto número de coenzimas. Los esqueletos de los animales están formados por fosfato de calcio.

Las plantas necesitan fosfatos para crecer y desarrollar su potencial genético, éstas absorben únicamente el fósforo que está en la disolución del suelo en forma de HPO_4^{-2} (ión fosfato monoácido) y $\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$ (ión fosfato diácido). Lamentablemente, éstos no son abundantes en el suelo. El fósforo presente en el suelo no está en formas disponibles para la planta. La disponibilidad de este elemento depende del tipo de suelo, así, una pequeña o gran parte del fósforo total puede estar “fijado” (no disponible) en los minerales del suelo. Esto significa que la planta no puede absorberlo. En la naturaleza, el fósforo forma parte de las rocas y los minerales del suelo. Las fuentes de fósforo como nutrimento para las plantas son los fertilizantes minerales y los fertilizantes orgánicos.

Los fosfatos tienen muchos efectos sobre los organismos. Los efectos son mayormente consecuencias de las emisiones de grandes cantidades de fosfatos en el ambiente debido a la minería y los cultivos. Durante la purificación del agua los fosfatos no son a menudo eliminados correctamente, así que pueden expandirse a través de largas distancias cuando se encuentran en las aguas superficiales.

El incremento de la concentración de fósforo en las aguas superficiales aumenta el crecimiento de organismos dependientes del fósforo, como son las algas. Estos organismos usan grandes cantidades de oxígeno y previenen que los rayos de sol entren en el agua. Esto hace que el agua sea poco adecuada para la vida de otros organismos. El fenómeno es comúnmente conocido como eutrofización.

1.4 REACCIÓN DE FORMACIÓN DEL AZUL DE MOLIBDENO.

El método propuesto está basado en la reacción de los iones fosfato y arsenato con molibdato en medio ácido para formar los heteropoliácidos de molibdeno correspondientes. Estos compuestos son de color amarillo, tienen una estructura tipo jaula que tiene la capacidad de reducirse y oxidarse sin apenas modificar su estructura [6].

Cuando son tratados con un reductor como el ácido ascórbico o estaño (II) se logra reducir el estado de oxidación del molibdeno de VI a V en un equivalente de diez de los doce átomos de la jaula, así el compuesto resultante es el heteropoliácido conocido como azul de molibdeno [7,8]. (Figura 1) cuyo máximo de absorbancia en el espectro electromagnético se encuentra alrededor de los 850 nm.

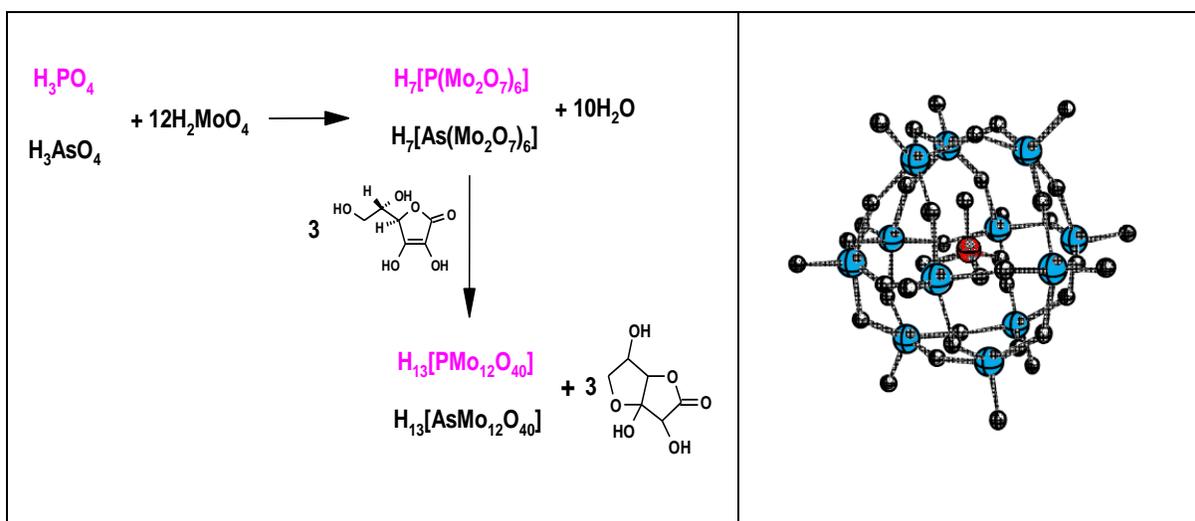


Figura 1.1. A la izquierda la reacción de formación de los heteropoliácidos de molibdeno, también conocida como reacción del azul de molibdeno. En el lado derecho se muestra la estructura de del compuesto tipo jaula formado, la jaula está formada por átomos de molibdeno (de mayor tamaño) y de oxígeno (mas pequeños), en el centro se encuentra encerrado el grupo fosfato o arsenato.

Es importante mencionar que los arsenitos no reaccionan con el ión molibdato.

La reacción también es positiva con silicatos, estos son una interferencia importante cuando la reacción se lleva a cabo a una temperatura mayor de 45 °C. En la literatura se encuentran reportados algunos trabajos sobre la minimización de esta interferencia en análisis por inyección en flujo [9,10], aunque no se encontró información para la reducción de interferencias en análisis por inyección secuencial.

1.5 AUTOMATIZACIÓN

Uno de los principales progresos de la Química Analítica durante las tres últimas décadas, ha sido la aparición en el mercado de sistemas automáticos para análisis, que proporcionan datos analíticos con la mínima intervención del operador. Inicialmente estos sistemas se diseñaron para solucionar las necesidades de los laboratorios clínicos, en los que hay que determinar, de forma rutinaria, treinta muestras o más, con fines diagnósticos y preventivos. Como anualmente se realizan cientos de millones de análisis clínicos parece lógico que su coste se mantenga dentro de un nivel razonable. Estas dos consideraciones motivaron el desarrollo de los primeros sistemas analíticos automáticos. Hoy en día estos instrumentos se utilizan en áreas tan distintas como el control de procesos industriales, o las determinaciones rutinarias de distintas sustancias en aire, agua, suelos, productos agrícolas y farmacéuticos.

- *Ventajas y limitaciones de los análisis automáticos*

Los instrumentos automatizados ofrecen una importante ventaja económica al ahorrar costos laborales, aunque para llegar a obtenerla se requiere que el volumen de trabajo del instrumento sea lo suficientemente grande como para compensar la inversión inicial de capital y el gran esfuerzo que normalmente hay que realizar para que el sistema automático trabaje a pleno rendimiento.

La segunda ventaja importante de los sistemas automatizados es su velocidad, que suele ser significativamente mayor que la de los métodos manuales. La tercer

ventaja es que con un buen analizador se pueden conseguir resultados, durante largos periodos de tiempo, más reproducibles que los que podría obtener un operador utilizando un instrumento manual. Un factor que contribuye de manera muy importante a la precisión, es la elevada reproducibilidad de las medidas de los tiempos en las sucesivas operaciones de los instrumentos automatizados, una reproducibilidad que raramente se puede lograr con los métodos manuales. Por ejemplo, los métodos automáticos permiten usar reacciones colorimétricas sin alcanzar el equilibrio, o las que dan lugar a productos cuya estabilidad no sea apta para medidas manuales. En estos casos, la gran reproducibilidad en la secuencia de las operaciones, garantiza que las muestras y los patrones se procesan exactamente igual y exactamente en el mismo periodo de tiempo [11].

1.6 ANÁLISIS POR INYECCIÓN SECUENCIAL (SIA)

El análisis por inyección secuencial (SIA) es un método analítico automático basado en la aspiración secuencial de zonas de muestra y reactivos adecuados, para su posterior propulsión hacia un detector en el cual se cuantifica el producto de la reacción [8, 12, 13, 14].

Esta técnica ofrece varias ventajas frente a otras técnicas automáticas, siendo la más común el análisis por inyección en flujo (FIA), técnica que a tenido gran auge debido a sus múltiples aplicaciones.

El FIA tiene como base angular el uso de un flujo de proporción constante y de un acarreador adecuado, en el cual se introduce una zona de muestra. Algunas desventajas que presenta este método es el uso de complejos flujos múltiples que requieren el uso de bombas peristálticas multicanal, lo que lleva a esquemas de tubería difíciles de manejar [15]. Todo esto sin contar con que los acarreadores que se encuentran en flujo continuo deben contener los reactivos necesarios para realizar la detección del compuesto de interés; esto implica un gasto relativamente grande de reactivos.

En análisis por inyección secuencial se sustituye el manejo del flujo continuo por el de un flujo programado, en el que se puede incorporar la inyección secuencial de

zonas de reactivos y muestra en un orden específico que favorece la formación de un producto detectable por el sistema de detección adecuado. En general el tamaño de las zonas inyectadas es del orden de μL por lo que se reduce enormemente el gasto de reactivos. El acarreador cumple con la función de empujar las zonas en la dirección programada y favorecer la dispersión de éstas [12].

En análisis por inyección en flujo se evita tener dispersiones grandes para impedir la dilución de la muestra. Como contraste, en el análisis por inyección secuencial se promueve esta dispersión para favorecer el traslape de las zonas de reactivos y muestra y así tener una mayor formación de producto.

1.6.1 COMPONENTES PRINCIPALES DE UNA CONFIGURACIÓN SIA

Los elementos principales con los que debe contar un montaje de análisis por inyección secuencial se muestran en la figura 1.2 y se enlistan a continuación.

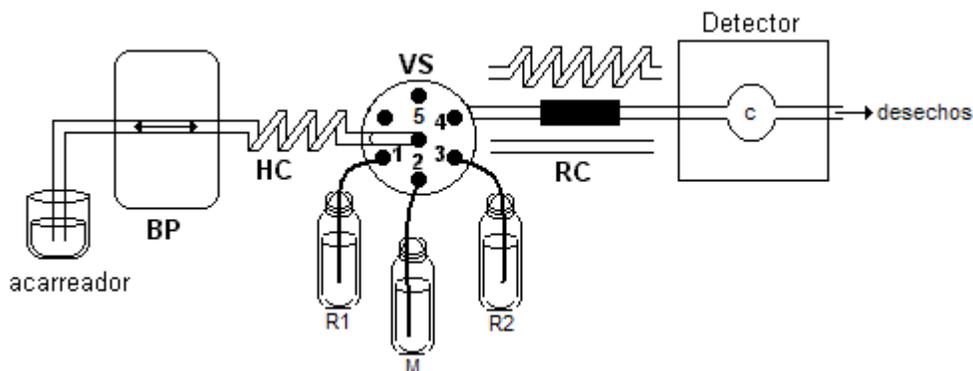


Figura 1.2. Esquema general de una configuración SIA, se muestra la bomba peristáltica BP, el reactor de espera HC, la válvula de selección VS, el reactor de reacción RC que puede ser enrollado, recto o empacado, la celda de flujo c y el detector.

- a) Válvula de selección multi – posiciones (VS-MP) que permite aspirar los diferentes reactivos y la muestra en el orden adecuado, ver figura1.3.

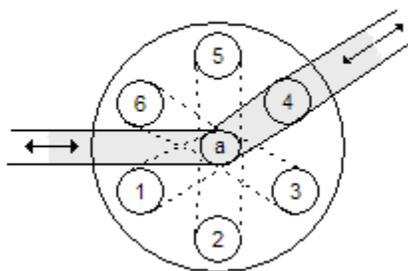


Figura 1.3. Representación de una válvula de selección. Consta de un puerto principal *a*, que siempre está abierto, y varios puertos periféricos, tiene un panel de control (no mostrado en la figura) que manipula la posición periférica abierta. En el esquema, la posición abierta es la 4, así, el flujo pasa por la posición *a* y la 4 en cualquiera de las dos direcciones posibles.

- b) Unidad de propulsión, que establece un caudal controlado. Puede ser una bomba peristáltica (BP) o un sistema de pistones.
- c) Reactor de espera (holdig coil, HC), necesario para contener las zonas de reactivos y muestra evitando que entren al contenedor del acarreador. Se controla el tamaño y forma de éste con el fin de evitar la contaminación del portador e iniciar la dispersión de zonas lo que favorece el traslape de las mismas y el inicio de la reacción de interés.
- d) Reactor de reacción (RC). Este es un trozo de tubo que se coloca en la configuración con el objeto de favorecer el traslape de zonas para obtener el producto. Puede variar la geometría, longitud, temperatura de éste a conveniencia del método. También puede estar relleno de material químicamente activo (resinas de intercambio iónico, redox, enzimas inmovilizadas, etc) para llevar a cabo o favorecer la reacción.
- e) Celda de flujo. Para realizar la detección continua de la propiedad a medir (absorbancia, fluorescencia, potencial, etc.).
- f) Detector. Debe tener un programa que permita observar y almacenar el esquema y datos de la señal transitoria durante el análisis.

1.6.2 CARACTERÍSTICAS DEL ANÁLISIS POR INYECCIÓN SECUENCIAL

1. El flujo es continuo y está programado.
2. La muestra y los reactivos son inyectados (aspirados) en un orden y con volúmenes predeterminados. Este paso es posible con el uso de una válvula de selección. Inicialmente se aspiran estas zonas hacia un reactor de espera (holding coil) y posteriormente el bolo es enviado al detector para cuantificar el producto de interés.
3. Dispersión controlada de muestra y reactivos. Se produce una mezcla incompleta pero reproducible que da lugar a un gradiente de concentración variable a lo largo del sistema. La dispersión ocurre desde el momento en que las zonas de reactivos y muestra son aspiradas al reactor de espera y posteriormente se cambia la dirección del flujo para dirigir el paquete de reactivos y muestra hacia la válvula de selección y el detector. Este proceso forma un gradiente de concentraciones bien definido de reactivos, muestra y producto. La manipulación de la dispersión se realiza mediante un control de las características geométricas e hidrodinámicas del sistema.
4. Coordinación reproducible. Para lograr la reproducibilidad de las mediciones es necesario alcanzar la repetibilidad de todos los eventos de un ciclo de medición, incluyendo la secuencia de aspiración de muestras y reactivos hacia el reactor de espera, transporte de las zonas formadas hacia el reactor y detector, longitud de reactor o tiempo de flujo detenido en su caso.
5. En el momento de la detección de la señal no se ha alcanzado el equilibrio físico ni químico.

1.6.3 DIAGRAMAS OBTENIDOS EN EL ANÁLISIS (SIAGRAMAS)

La respuesta de la unidad de detección de un sistema SIA es una señal transitoria. Se trata de una representación de la señal analítica (absorbancia, fluorescencia, potencial, etc.) en función del tiempo (figura 1.4).

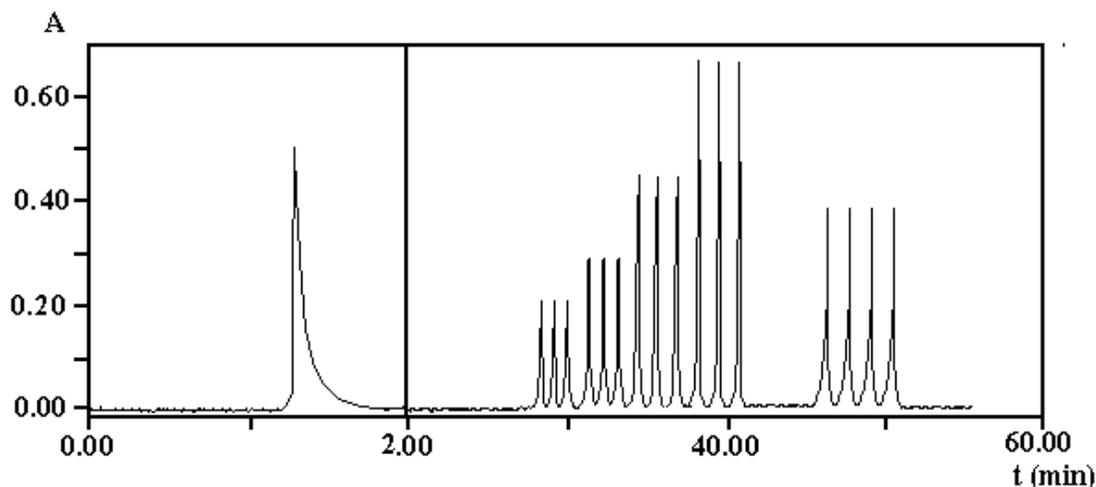


Figura 1.4. Ejemplo de un siagrama. Se muestra la ampliación de un pico del lado izquierdo, en éste se observa el coleo debido a la dispersión dentro del sistema. Del lado derecho se muestra el comportamiento de una curva de calibración y una muestra, la altura de los picos aumenta al aumentar la concentración de los estándares inyectados.

La característica más importante es que la altura del pico obtenido se relaciona con la concentración del componente que se determina en la muestra inyectada. En la figura 1.4 se muestra un ejemplo de un siagrama común, conteniendo cuatro puntos de una curva de calibración y la inyección de una muestra.

1.6.4 DISPERSIÓN

En un sistema de inyección secuencial inmediatamente después de aspirar la muestra o los reactivos, las respectivas zonas de estos tienen un perfil de concentración rectangular. Al ir circulando por el interior del tubo, tiene lugar una dispersión. El perfil resultante depende de varios fenómenos. Uno es la convección asociada al flujo laminar en el que el centro del fluido avanza más rápidamente que el líquido adyacente a las paredes, lo que da lugar a una zona con perfil parabólico (figura 1.5) mientras se desplaza. También se produce ensanchamiento en las zonas por difusión.

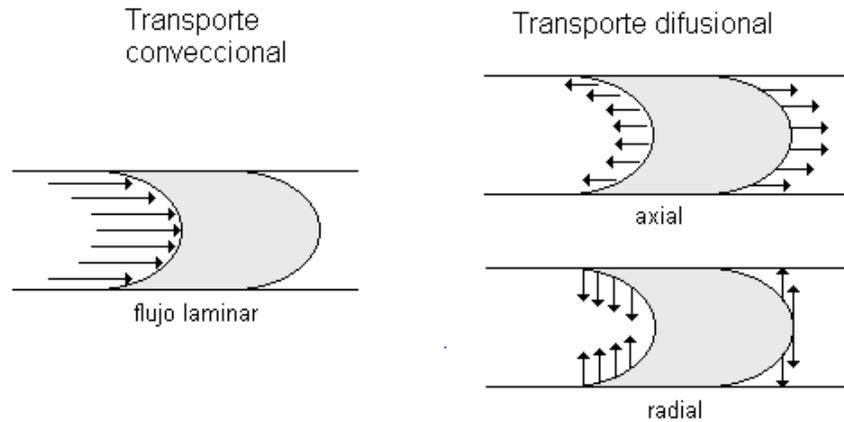


Figura 1.5. Tipos de transporte que afectan el perfil de las zonas dentro de un sistema en flujo.

Pueden producirse dos tipos de difusión: radial o perpendicular a la dirección del flujo y longitudinal o paralela al flujo. Se ha demostrado que la difusión longitudinal, en un tubo estrecho, no es significativa, sin embargo, la difusión radial siempre es importante.

Ruzicka, describe un modelo llamado “random walk” que permite tener una visión de la distribución del analito siendo desplazado en el proceso de dispersión en cualquier dirección por un paso de tamaño fijo. La dirección de este paso está determinada por el cambio, así, si el cambio de movimiento en alguna dirección es igual al cambio en la dirección contraria, entonces el avance aleatorio es simétrico. Entonces, las moléculas dentro del elemento de fluido no tienen un movimiento predecible. Así, si un gran número de moléculas están juntas en un avance aleatorio de varios pasos, la desviación estándar, σ , del resultado (gaussiano) del perfil de concentración es:

$$\sigma = l * n^{1/2} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde l es la longitud del paso de tamaño fijo y n es el número de avances que se llevan a cabo. Es evidente, que la dispersión y el traslape de las zonas es proporcional a la longitud individual de los pasos. El desplazamiento final de la zona incrementa con la raíz cuadrada del número de pasos, n , esto se espera por el efecto de la cancelación que debe ser considerada cuando las moléculas son inducidas a moverse hacia la dirección opuesta al desplazamiento original.

Si varios avances aleatorios ocurren simultánea o consecutivamente el desplazamiento final de cualquier molécula está determinado por la suma de desplazamientos en todas las direcciones:

$$\sigma^2 = l^2 n_1 + l^2 n_2 + \dots = \sigma_1 + \sigma_2 + \dots \quad \text{Ecuación 2}$$

Este modelo es utilizado para visualizar el grado de mezclado en análisis por inyección secuencial.

En SIA, la inyección se realiza en varios pasos, un paso muy importante que favorece enormemente la dispersión de las zonas es el cambio de dirección del flujo, para enviar el paquete de reactivos y muestra desde el HC hacia el detector. Considerando el modelo anterior, se tiene que con la selección de la longitud de avance y el número de inversiones de flujo adecuados, se puede obtener fácilmente cualquier grado de mezclado y optimizar los tiempos de reacción.

El coeficiente de dispersión D se define mediante la ecuación:

$$D = c_o / c \quad \text{Ecuación 3}$$

En la que c_o es la concentración del analito en la muestra inyectada y c es la concentración correspondiente a la obtenida en el detector. La dispersión se mide fácilmente inyectando una disolución de colorante de concentración conocida c_o y a continuación se mide la absorbancia en la cubeta de flujo. Después de la calibración, se calcula c usando la ley de Beer.

En la dispersión intervienen tres variables interrelacionadas y controlables: el volumen de la muestra, la longitud del tubo y la velocidad del bombeo. El efecto del volumen de muestra o reactivos sobre la dispersión se muestra en la figura 1.6. Para volúmenes grandes la dispersión llega a ser casi la unidad porque no hay un mezclado apreciable y no hay dilución observable. Sin embargo, el análisis por inyección secuencial se basa en la interacción entre las diferentes zonas inyectadas, por lo que es necesario tener una dispersión mayor a 1. La enorme

influencia del volumen inyectado en la altura del pico enfatiza la necesidad de que los volúmenes de inyección sean perfectamente reproducibles.

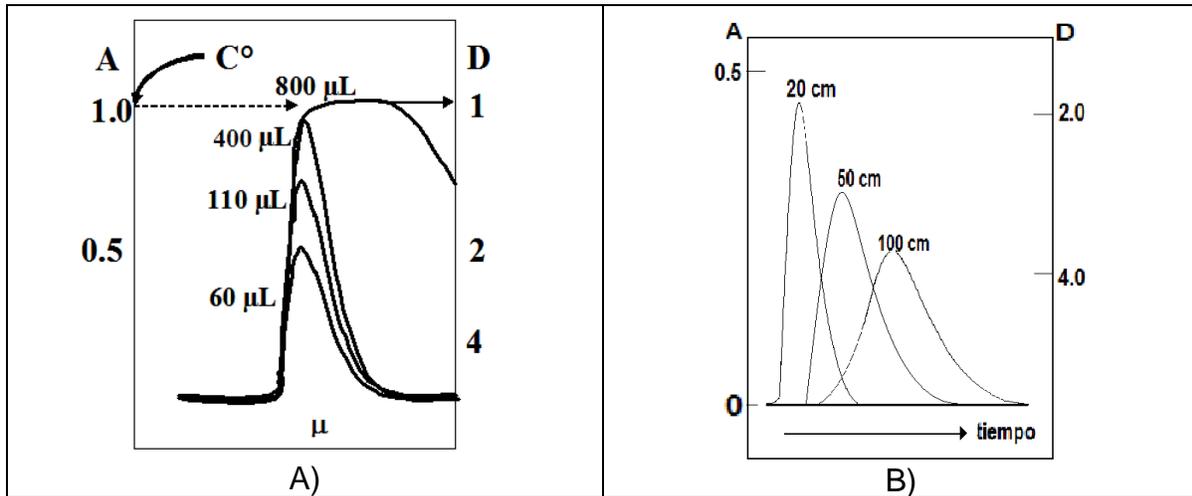


Figura 1.6. A) Efecto del volumen inyectado, C° es la concentración inicial de la muestra. B) Efecto de la longitud de tubo.

En la figura 1.6 B) se observa el efecto de la longitud del tubo en la dispersión cuando se mantienen constantes el tamaño de la muestra y la velocidad del bombeo. El número sobre cada pico indica la longitud que ha recorrido la muestra en cm.

1.6.5 ZONA DE TRASLAPE

El concepto de zona de traslape se refiere a una región donde se encuentran mutuamente ínter dispersadas las zonas de reactivo(s) y muestra, dentro de la cual el coeficiente de dispersión D_s es mayor a 2. Cuando solo hay un reactivo, solo es necesaria la fusión entre las dos zonas, la de reactivo y la de muestra; cuando en la reacción hay dos reactivos, será necesaria la fusión de las tres zonas y así sucesivamente.

La zona de penetración (traslape) se define como:

$$P = 2W_0(W_m + W_r) \quad \text{Ecuación 4}$$

La descripción de ésta se da en la figura 1.7. Se obtiene una zona de traslape completo cuando $P=1$, así, en una zona donde no hay traslape $P=0$, y las zonas de traslape parcial tienen valores entre estos dos extremos.

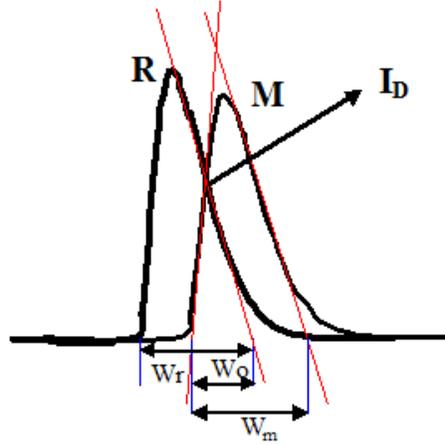


Figura 1.7. Descripción de la zona de traslape. M es la zona de la muestra, R es la zona de reactivo, I_D es el punto de isodispersión y W_r , W_o y W_m son los anchos de las zonas de reactivo, traslape y muestra, respectivamente.

Debe hacerse notar que cuando no hay una zona de traslape completa, se observa un punto de isodispersión I_D donde la dispersión de la muestra y del reactivo son idénticas. Este punto de isodispersión es independiente de la concentración. En el elemento del fluido correspondiente a I_D la relación de las concentraciones de reactivo y muestra es prácticamente la misma que la relación de concentraciones en la inyección ($C_m/C_r=C_m^o/C_r^o$), ya que en este punto están igualmente dispersados.

En el caso de que exista una reacción completa que consuma igual cantidad de reactivo y muestra, una máxima concentración de producto se observa en el punto de isodispersión, y si el producto es detectado, el máximo del pico aparecerá en el tiempo t de I_D . Como la relación C_r^o/C_m^o es mucho mayor a uno, ya que el reactivo debe encontrarse en exceso, la posición del máximo del pico de producto suele moverse del punto I_D hacia el centro de la zona de la muestra [30]. Como se muestra en la figura 1.8.

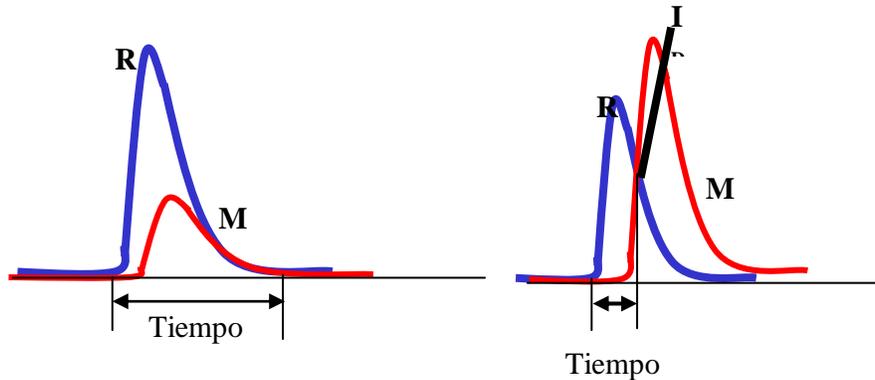


Figura 1.8. Comportamiento de la zona de traslape al cambiar la proporción C°_r/C°_m . En la figura de la derecha la concentración de la muestra es mayor que la de reactivo, y en la figura de la izquierda la concentración de reactivo es mayor que la de muestra.

Considerando que la zona de traslape depende directamente de la dispersión de las zonas, cabe mencionarse que los factores (analizados en la sección anterior) que afectan a la dispersión también afectaran el grado de traslape. Además de estos factores, la zona de traslape se ve directamente afectada por otros parámetros operacionales que se numeran a continuación:

- 1) Diámetro interno de la tubería.
- 2) Geometría de los reactores.
- 3) Orden de inyección.

A continuación se describen los efectos sobre el sistema de inyección secuencial que tienen los tres parámetros enlistados.

- 1) Varios factores deben considerarse para la optimización del diámetro del tubo que se utilizará, entre estos se encuentran la presión resultante a lo largo del tubo, la vulnerabilidad a bloqueos, y el grado de dispersión radial. Un diámetro de tubo pequeño provoca altas presiones en el sistema.

Cuando hay una alta presión, al invertir repentinamente el flujo, se pueden formar burbujas de los gases disueltos, ya que hay una zona que momentáneamente tiene una presión por debajo de la presión parcial de estos gases. Cuando esto ocurre hay una mala reproducibilidad del flujo y pueden registrarse señales falsas en el detector.

El área superficial del fluido en contacto con las paredes del tubo disminuye cuando el diámetro interno aumenta. Así, el efecto de la fricción con las paredes del tubo disminuye cuando incrementa el diámetro interno del tubo. Esto hace que disminuya la dispersión axial y se obtengan picos más estrechos existiendo menos traslape entre muestra y reactivo.

En la tabla 1.1 se observa el efecto que tiene el aumento de diámetro interno en la zona de traslape y en la precisión de las mediciones. Estos datos se obtuvieron de forma experimental inyectando un colorante, el pico 1 se refiere a la inyección del colorante preparado en agua y el pico 2 a una inyección similar pero con el colorante preparado un buffer.

Parámetro	Diámetro del Tubo, mm		
	1.5	0.8	0.5
Zona de traslape	0.197	0.335	0.363
s pico 1*	0.007	0.013	0.022
s pico 2*	0.011	0.017	0.021

Tabla 1.1. Efectos del diámetro interno del tubo en la zona de traslape y la precisión. *s se refiere a la precisión como desviación estándar relativa.

2) Geometría de reactor. Existen varios tipos de reactores descritos en la literatura. Cuando éste consiste en un trozo de tubería abierta, se han propuesto varias geometrías. En la tabla 1.2 se pueden observar los resultados experimentales del estudio de reactores de tres geometrías diferentes, entrecruzado, enrollado y recto. El estudio se realizó de forma similar al análisis para verificar el efecto de diámetro interno.

Parámetro	Geometría del reactor		
	Entrecruzado	Enrollado	Recto
Zona de traslape	0.223	0.241	0.273
s pico 1*	0.024	0.014	0.023
s pico 2*	0.013	0.026	0.017

Tabla 1.2. Efecto de la geometría del reactor en la zona de traslape y la precisión. *s se refiere a la precisión como desviación estándar relativa.

El tubo recto propicia una dispersión axial más grande, el reactor enrollado provoca una menor dispersión axial y el entrecruzado presenta la menor dispersión axial de los tres. Como en SIA se procura tener una mayor zona de traslape es importante la elección de la geometría de reactores.

3) Orden de inyección. En SIA se ha demostrado que la dispersión de la primera zona inyectada es mayor que la de la segunda y esta a su vez mayor que la de la tercera y así subsecuentemente. Esto se debe a la diferencia de tiempo en el sistema de cada zona, además de que la primera zona está en contacto directo con el acarreador mayor tiempo por lo que presenta una mayor dispersión por difusión.

Cuando la sensibilidad del método es importante se recomienda inyectar primero el reactivo, debido a que tiene una concentración suficientemente alta para que la dispersión no afecte significativamente la reacción. Cuando hay más de un reactivo es recomendable colocar la zona de la muestra en medio de estos [29].

1.7 ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN MOLECULAR ULTRAVIOLETA – VISIBLE.

La espectroscopia de absorción molecular se basa en la medida de la transmitancia T o de la absorbancia A de disoluciones que se encuentran en cubetas transparentes que tienen un camino óptico de b cm. Normalmente, la concentración c de un analito absorbente está relacionada linealmente con la absorbancia como representa la ecuación:

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde P es la potencia del haz incidente, P_0 es la potencia del haz emergente ϵ es la absortividad molar del analito. Esta ecuación es una representación matemática de la ley de Beer. Esta ecuación predice que al graficar A vs. concentración se obtendrá una línea recta que cruza por cero cuando la concentración del analito es cero. Generalmente no se cumple esta predicción por

lo que se considera la aproximación de la ley de Beer a la ecuación de una línea recta de ecuación general:

$$A = mC + b \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde A es la absorbancia, m es la pendiente de la recta, C es la concentración del analito detectado y b es la ordenada al origen, esta última generalmente tiene un valor cercano a cero.

La absorbancia y la transmitancia como se definen en la ecuación 5 no pueden medirse exactamente en el laboratorio ya que en la disolución del analito debe mantenerse algún tipo de recipiente transparente o cubeta que causa algunas interferencias en la medición. Como se observa en la figura 1.9 en las dos interfases aire/pared de la cubeta, así como en las dos interfaces pared/disolución tienen lugar reflexiones.

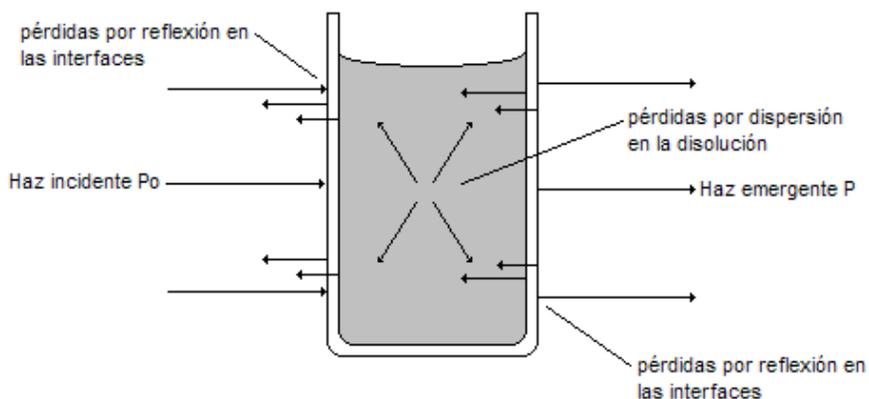


Figura 1.9. Pérdidas por reflexión y dispersión

La atenuación del haz resultante es primordial, por ejemplo, aproximadamente el 8.5% de un haz de luz amarilla se pierde por reflexión en su paso a través de una cubeta de vidrio llena de agua. Además, la atenuación del haz puede ocurrir como consecuencia de la dispersión causada por moléculas grandes y, a veces por la absorción por las paredes del recipiente. Para compensar todos estos efectos, la potencia del haz transmitido por la disolución del analito se compara con la potencia del haz transmitido por una cubeta idéntica que solo contiene disolvente.

Así, con la siguiente ecuación se obtiene la absorbancia experimental que se aproxima estrechamente a la verdadera:

$$A = \log \frac{P_{\text{disolvente}}}{P_{\text{disolución}}} \approx \log \frac{P_0}{P} \quad \text{Ecuación 7}$$

La ley de Beer también se puede aplicar a un medio que contenga más de una clase de sustancias absorbentes. Siempre que no haya interacción entre las distintas especies, la absorbancia total para un sistema multicomponente viene dado por:

$$A_{\text{total}} = A_1 + A_2 + \dots + A_n = \varepsilon_1 b c_1 + \varepsilon_2 b c_2 + \dots + \varepsilon_n b c_n \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde los subíndices se refieren a los componentes absorbentes 1, 2, ..., n .

1.7.1 LIMITACIONES DE LA LEY DE BEER

Se han encontrado pocas excepciones a la generalización de que la absorbancia está relacionada linealmente con el camino óptico. En ocasiones estas desviaciones surgen como consecuencia de la forma en que se realiza la medición o como resultado de cambios químicos asociados con cambios de concentración; éstas son conocidas como desviaciones instrumentales y desviaciones químicas.

Con respecto a las desviaciones químicas se debe considerar que cuando un analito se disocia, se asocia o reacciona con un disolvente para dar lugar a un producto con un espectro de absorción diferente al del analito, se producen desviaciones a la ley de Beer.

1.7.2 INSTRUMENTACIÓN

Actualmente en el mercado se cuenta con más de 100 modelos de equipos útiles para medidas en la región ultravioleta/visible del espectro electromagnético. Existen desde modelos sencillos cuyo costo es de algunos cientos de dólares, hasta equipos complejos informatizados cuyo precio asciende y supera los 30 000 dólares.

Los instrumentos par medir la absorción de radiación ultravioleta, visible y en el infrarrojo cercano están compuestos por algunos de los siguientes componentes: 1) fuentes, 2) selectores de longitud de onda, 3) recipientes para la muestra, 4) detectores de radiación y 5) procesadores de señal y dispositivos de lectura.

1.7.3 FUENTE

En este proyecto se realizó la detección de absorción de radiación visible, el equipo utilizado opera con una lámpara de filamento de wolframio como fuente.

La distribución de energía de esta fuente se aproxima a la del cuerpo negro y, por ello depende de la temperatura. En la mayoría de los equipos la temperatura de trabajo del filamento es de 2 870 K. Así la mayor parte de la energía emitida corresponde a la región del infrarrojo. La lámpara de filamento de wolframio es útil para la región de longitudes de onda comprendida entre 350 y 2 500 nm, El límite inferior está impuesto por la absorción de radiación que se produce en la envoltura de vidrio que rodea al filamento.

1.7.4 RECIPIENTE

Al igual que los demás elementos ópticos de un instrumento de absorción, las celdas deben construirse de un material que deje pasar la radiación de la región espectral de interés. En la región visible, se pueden utilizar recipientes de cuarzo, vidrios silicatados y hasta recipientes de plástico.

En el desarrollo de este proyecto se utilizó una celda de cuarzo (figura 1.10) diseñada para mediciones en flujo, la capacidad de volumen que pasa por la celda es de 18 μ L y la longitud del paso del haz es de 1cm.

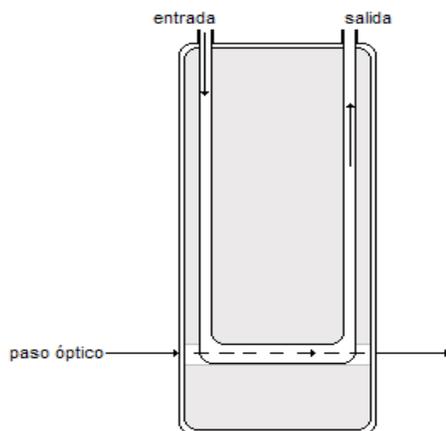


Figura 1.10. Celda de flujo utilizada en la medición de absorbancia en este proyecto.

1.7.5 TIPO DE INSTRUMENTO

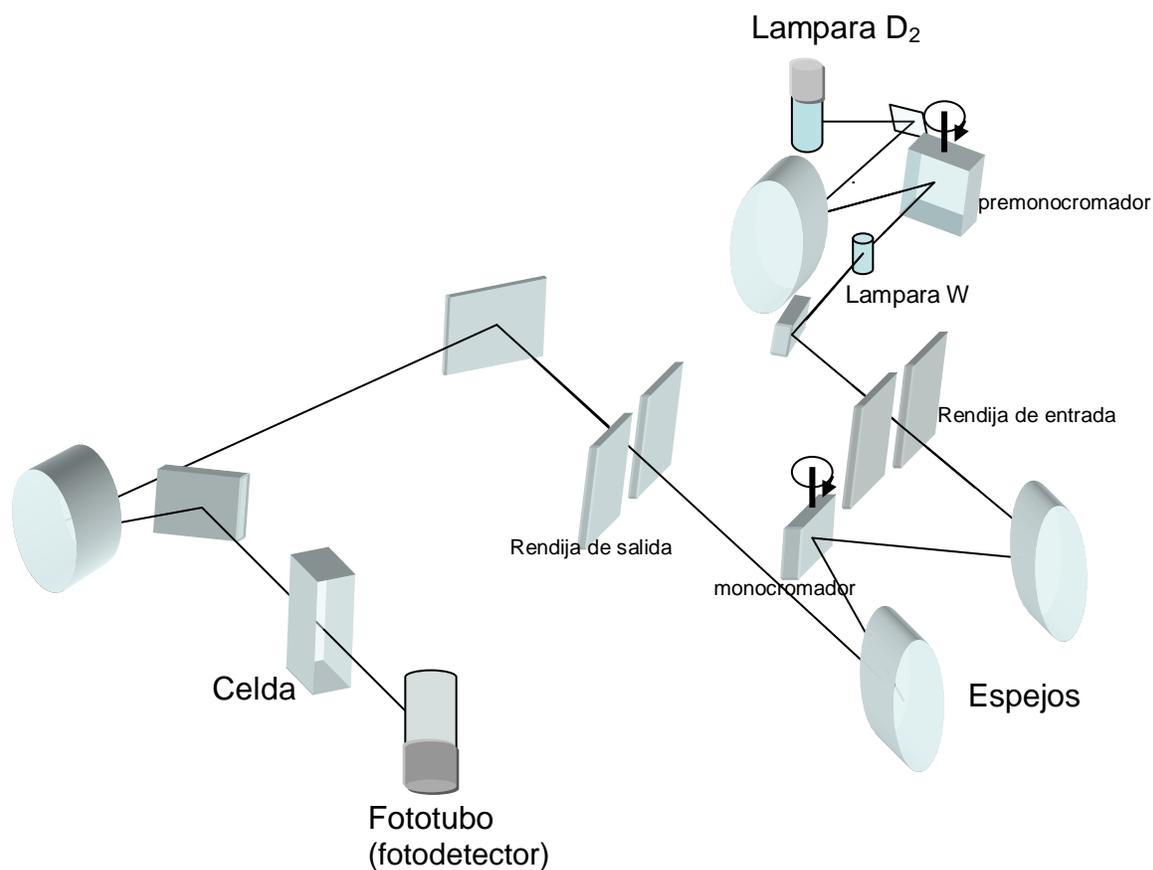


Figura 1.11. Sistema óptico del espectrofotómetro UV – VIS Cary 1.

El espectrofotómetro empleado es un instrumento de haz sencillo. Consta de dos fuentes de radiación, una lámpara de wolframio descrita anteriormente, además de una lámpara para generación de radiación ultravioleta, un filtro o un

monocromador para la selección de la longitud de onda, un detector, un amplificador y un dispositivo de lectura. El intervalo de longitudes de onda en el que trabaja es de aproximadamente 200 a 900 nm. En la figura 1.11 se muestra el sistema óptico básico de un espectrofotómetro Cary 1 Varian.

1.7.6 ANÁLISIS CUANTITATIVO MEDIANTE MEDIDAS DE ABSORCIÓN

La espectroscopia de absorción es una de las herramientas más útiles y más utilizadas en el análisis cuantitativo. Las características más importantes de los métodos espectrofotométricos incluyen: 1) gran aplicabilidad tanto para sistemas orgánicos como inorgánicos, 2) sensibilidades características de 10^{-4} a 10^{-5} M que con frecuencia pueden ampliarse, 3) selectividad de moderada a alta, 4) buena precisión y 5) adquisición de datos fácil y adecuada.

Numerosos reactivos reaccionan selectivamente con especies no absorbentes y generan productos que absorben fuertemente en las regiones ultravioleta o visible. Las primeras etapas de un análisis espectrofotométrico incluyen el establecimiento de las condiciones de trabajo y la preparación de una curva de calibración que relacione la absorbancia con la concentración.

1.7.7 SELECCIÓN DE LA LONGITUD DE ONDA

Las medidas de absorbancia espectrofotométrica se realizan, generalmente, a una longitud de onda correspondiente a un pico de absorción, ya que el cambio en la absorbancia por unidad de concentración es mayor en este punto, consiguiéndose así la máxima sensibilidad. Además la curva de absorción suele ser plana en esta región, por lo que se puede esperar una buena aplicación de la ley de Beer.

- *Determinación de la relación entre absorbancia y concentración*

Después de decidir las condiciones para el análisis es necesario preparar la curva de calibración a partir de una serie de disoluciones patrón que abarquen el intervalo de concentración esperado en las muestras.

De forma ideal, patrones de calibración deben tener una composición parecida a la de las muestras a analizar para minimizar los efectos de los diferentes componentes de la muestra en la absorbancia medida. Cuando se analizan materiales complejos como suelos, minerales, plantas o material biológico, la preparación de patrones semejantes a las muestras suele ser prácticamente imposible o muy difícil. En estos casos el método de adición estándar es útil para contrarrestar los efectos de la matriz.

1.7.8 MÉTODO DE ADICIÓN ESTÁNDAR

Se pueden aplicar distintas modalidades del método de adición estándar. La que se selecciona con mayor frecuencia para los análisis espectrofotométricos supone la adición de uno o más volúmenes iguales de disolución estándar a alícuotas de la muestra del mismo tamaño. Después cada disolución se diluye hasta un volumen fijo antes de medir su absorbancia.

Cuando interesa ahorrar tiempo o muestra es posible realizar un análisis de adición estándar utilizando solo dos volúmenes de muestra.

1.8 OTRAS FORMAS DE CUANTIFICAR ARSÉNICO.

En la literatura se han encontrado varias técnicas para la cuantificación de arsénico y fosfatos, de las cuales las más importantes son las técnicas espectrométricas y electroquímicas.

1.8.1 TÉCNICAS ESPECTROMÉTRICAS

1.8.1.1 Absorción Atómica con Generación de Hidruros (GH – AAS)

Esta es la técnica más utilizada actualmente para la detección de arsénico inorgánico, reportada por primera vez en 1969 por Holak [16]. Consta de tres etapas fundamentales: la generación y volatilización del hidruro, la transferencia del mismo y su posterior atomización en el espectrómetro de AA. La generación del hidruro se consigue tratando la muestra que contiene arsénico con una disolución de borohidruro de sodio (NaBH_4) en medio ácido, la arsina gaseosa generada es arrastrada hacia la cámara de cuarzo del equipo con una corriente de

gas inerte, generalmente se usa argón, y por último se atomiza el arsénico calentando la arsina en la cámara a alrededor de 900 °C.

Presenta la ventaja de que es posible diferenciar el As(III) del As(V) ya que el primero reacciona en condiciones de pH mayor que el necesario para la formación de arsina a partir del As(V). La técnica de fluorescencia atómica con generación de hidruros posee las mismas características.

Actualmente se ha adoptado exitosamente la generación de hidruros en línea (usando análisis por inyección en flujo y análisis por inyección secuencial [17], lo que ha aportado ventajas como incrementar la sensibilidad de la detección y disminuir las interferencias debidas a la matriz [18, 19]., también se ha logrado disminuir las interferencias debidas a la formación de los hidruros de metales de transición, y disminuir la concentración del reductor así como minimizar la precipitación de compuestos de boro [20, 21].

1.8.1.2 Espectrometría de Absorción Atómica con horno de grafito

Esta técnica, también llamada espectrometría de absorción atómica electrotrémica (ETAAS), está basada en la absorción de átomos libres de arsénico, producidos a partir de la muestra depositada en un pequeño tubo de grafito, el cual puede ser calentado eléctricamente a muy altas temperaturas para atomizar la muestra (2000 a 3000 °C). Esta técnica tiene una mayor sensibilidad debido a que se atomiza toda la muestra dentro del horno de grafito en un periodo muy corto de tiempo y la permanencia de los átomos en el camino óptico es de un segundo o más, a diferencia de absorción atómica de flama, donde solo se atomizan los átomos que pasan a la flama y permanecen algunos ms [11, 22, 23].

La desventaja que presenta es que es imposible diferenciar el As(III) del As(V) sin realizar un tratamiento de separación a la muestra original. Hay interferencias cuando en la muestra hay presencia de Cu, Pb, Pd, Zr, Ba y Sn principalmente [19].

1.8.1.3 Espectrometría de Emisión Atómica Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-AES) y Espectrometría de masas Plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS).

Las técnicas de ICP utilizan el plasma para ionizar los componentes; cuando la muestra es acidificada y nebulizada hacia el plasma, la alta temperatura de éste atomiza y ioniza *todas* las formas de arsénico presentes.

El ICP es utilizado acoplado a otras técnicas analíticas, como la espectrometría de masas (MS) y la de emisión atómica (AES). La técnica ICP-AES es menos utilizada ya generalmente es aplicada para la comparación y obtención de una mayor exactitud en análisis multielementales. En contraste, la ICP-MS es una de las técnicas más utilizadas en la detección de arsénico, una de las principales ventajas es que ésta puede detectar isótopos y tiene menores límites de detección que ICP-AES.

Una desventaja importante de ICP-MS en la determinación de arsénico es que cuando el equipo cuenta con un nebulizador directo de Ar y la muestra tiene altos niveles de Cl, se forma cloruro de argón ($^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$) en el plasma, el cual se puede confundir con (^{75}As). Para solucionar este problema, la muestra puede ser arrastrada al plasma por vaporización electrotérmica (ETV) evitándose la formación del ArCl. Así, se ha modificado el sistema a ETV-ICP-MS.

Cuando se usa un equipo de MS de alta resolución es posible diferenciar el cloruro de argón del arsénico.

1.8.1.4 Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC) y ICP-MS

Un sistema acoplado que incluye HPLC y ICP-MS es apropiado para determinar elementos no volátiles como el arsénico. Además de que ha sido aprovechado para análisis de especiación. El acoplamiento de HPLC y absorción atómica (AAS) a mostrado tener límites de detección malos, los cuales pueden ser mejorados usando la combinación HPLC-ICP-MS. El uso de la columna apropiada en HPLC mejora la selectividad de los experimentos; Thomas y Sniatecki [24] reportaron el uso de cromatografía iónica de fase reversa acoplada a ICP-MS para la identificación de varias especies de arsénico, incluyendo As(III) y As(V).

Se ha reportado la separación satisfactoria de arsenatos, arsenitos, monometilarsenato, dimetilarsenato, arsenobetaina y arsenocolina en una corrida cromatográfica usando una columna mezclada. Usando una fase móvil acuosa con un buffer bajo en sales que minimiza los problemas asociados con el acoplamiento de HPLC y ICP-MS.

En el año 2000 se reportó una comparación entre las técnicas acopladas HPLC-ICP-MS y HPLC-HG-AFS (HPLC acoplado a espectroscopia de fluorescencia atómica con generador de hidruros) para la especiación de arsenitos, arsenatos y otros compuestos de arsénico en agua [25]. Se encontró que los límites de detección eran similares en ambas técnicas, pero que el AFS presentaba ventajas ya que tiene un costo mucho menor, el análisis se realiza en menor tiempo y el manejo es más fácil.

1.8.2 MÉTODOS ELECTROQUÍMICOS

La técnica electroquímica más antigua usada para la determinación de arsénico es la polarografía de gota de mercurio. El fundamento de la técnica se basa en la reducción del arsénico en la superficie de la gota, el arsénico no forma amalgama con el mercurio como los cationes metálicos. Con esta técnica es posible diferenciar el As(III) del As(V).

En la actualidad se usa eficientemente la polarografía diferencial de impulsos (DPP) ya que es altamente selectiva y tiene bajos límites de detección [33, 34]. Ésta consiste en aplicar un impulso de 50 mV durante los últimos 50 ms de vida de la gota de mercurio; se realizan dos medidas de intensidad de corriente en la gota de mercurio, la primera 16.7 ms antes de aplicar el impulso y la segunda 16.7 ms antes de terminar el impulso. La diferencia de intensidad por impulso (Δi) se registra en función del potencial que aumenta linealmente. Así se obtiene una curva diferencial en forma de pico, cuya altura es directamente proporcional a la concentración. Una desventaja importante que presenta es que la determinación de cationes depende del electrolito soporte que se utiliza ya que puede desplazar el potencial de semionda, por lo que la naturaleza de las muestras a analizar puede interferir de forma importante la detección por efecto de la matriz.

Otras técnicas electroquímicas muy usadas para la determinación de arsénico son las Voltamperometrías de Redisolución Anódicas y Catódicas (ASV y CSV). Estas técnicas se realizan en dos pasos principalmente, en el primero, se deposita el analito sobre un microelectrodo, normalmente desde una disolución agitada, después de un tiempo perfectamente medido se detiene la electrólisis y la agitación y entonces el analito se mide voltamperométricamente, durante esta segunda etapa el analito depositado en el microelectrodo se redisuelve.

El análisis CSV de arsénico se realiza por polarografía, primero se preconcentra la muestra en un medio fuertemente ácido y después se hace un barrido de potencial en dirección catódica donde se obtiene un pico debido a la formación de arsina. Para lograr la deposición de arsénico con estado de oxidación III se coloca otro metal en el medio (como Cu) así se logra la deposición de Cu_3As_2 .

En el análisis ASV se deposita As^0 en el microelectrodo y subsecuentemente se hace el barrido anódico para obtener la señal de la formación de As^{3+} .

1.8.3 TÉCNICAS COLORIMÉTRICAS

Método del dietilditiocarbamato de plata: Con este método se puede determinar directamente el As(III), el As(V) y los compuestos orgánicos de arsénico deben tratarse primero para transformarlos en As(III).

El As(III) se transforma a arsina usando una disolución de zinc y ácido clorhídrico, el gas se hace pasar por un filtro de algodón impregnado con acetato de plomo y luego llaga a un contenedor que tiene una disolución de dietilditiocarbamato de plata en piridina. La arsina forma un compuesto color rojo que tiene un máximo de absorbancia a 540 nm, así, la disolución de dietilditiocarbamato en piridina usada se lee en un espectrofotómetro y la concentración de arsénico se determina con ayuda de una curva de calibración [26, 27].

1.9 OTRAS FORMAS DE DETERMINAR FOSFATOS

Para determinar fosfatos, la técnica más usada es el análisis espectrofotométrico de la formación de azul de molibdeno, el cual se ha optimizado para emplearse de forma automatizada con la técnica de FIA [7, 8, 9, 28]. La reacción de las

interferencias que se presentan es la presencia de arsenatos y silicatos ya que también reaccionan para formar un heteropoliácido similar de color azul.

Otras técnicas ópticas empleadas son:

- 1) La reacción del molibdofosfato con un derivado clorado del verde de malaquita (Cl-MG) o con rodamina B (RB) para formar agregados en disolución ácida. La detección se realiza midiendo intensidad de fluorescencia con un espectrofluorómetro, las longitudes de onda de excitación son 460 nm para el agregado de Cl-Mg y 580 nm para el de RB.
- 2) La formación del heteropoliácido amarillo vanadomolibdofosfato.
- 3) Determinación indirecta con espectrometría de fluorescencia, que se basa en la formación del ion vanadomolibdofosfato y su reducción con tiamina (no fluorescente) que se transforma en una especie de tiocromo altamente fluorescente, también hay interferencias por la formación de heteropoliácidos de arsenatos y silicatos.
- 4) Determinación indirecta por quimioluminiscencia. Los fosfatos se hacen reaccionar en reactores empacados que contienen enzimas inmovilizadas que generan como producto final peróxido de hidrogeno, el cual a su vez es detectado por quimioluminiscencia cuando reacciona con el bis[2-(3,6,9-trioxadecaniloxicarbonil)4-nitrofenil]oxalato.

Los métodos potenciométricos pueden ser directos o indirectos, la detección directa se realiza con electrodos selectivos. Se ha reportado el uso de un electrodo de membrana sólida de tri(tiourea)cobre(I) fosfato monoácido y sulfuro de plata. Actualmente se han obtenido mejores resultados con el uso de un sensor de PVC/ionoforo con una poliamina cíclica. Los métodos indirectos consisten en medir el cambio de potencial de una disolución que contiene algún catión metálico al mezclarse con la muestra que contiene fosfatos; se ha empleado exitosamente Pb(II), ya que forma $Pb_3(PO_4)_2$, la disminución de Pb(II) libre se mide con un electrodo selectivo de iones Pb^{2+} [28].

La determinación de fosfatos con HG-AAS y ICP-AES, se realiza de forma indirecta, primero se forma el fosfomolibdato, haciendo reaccionar la muestra con molibdato de amonio, posteriormente el heteropoliácido es extraído con una fase orgánica; en el equipo se detecta el molibdeno; si hay arsenatos o silicatos en la muestra, también se forman los heteropoliácidos correspondientes lo que puede provocar interferencias importantes.

En la literatura se encuentran reportadas un gran número de opciones para la determinación de fosfatos por métodos automáticos (J. M. Estela publicó recientemente un review completo sobre el tema [28], la mayoría empleando FIA. Algunos autores ya comienzan a utilizar análisis por inyección secuencial, pero no se ha reportado el uso de esta técnica para análisis simultáneo de fosfatos y arsenatos.

En el presente trabajo se desarrolla una metodología SIA para determinar fósforo y As(V) con base en la formación de del heteropoliácido de molibdeno. De la misma forma también es posible la diferenciación de As(V) y As(III).

2.1 EQUIPOS Y MATERIALES

Para la realización de este proyecto se utilizó un espectrofotómetro UV – VIS Cary (Varian, Sydney, Australia) equipado con una celda de flujo de cuarzo con capacidad de 18 μ L.

Para construir las diferentes configuraciones SIA se emplearon los siguientes materiales y equipos:

- Bomba peristáltica Gilson Minipuls 3 de cuatro canales.
- Tubería de teflón de 0.5 mm de diámetro interno.
- Tubería de teflón de 0.8 mm de diámetro interno.
- Tubo para bomba peristáltica.
- Conectores de teflón.
- Válvula de selección semiautomática de 6 puertos SCIVEX.
- Cinta de teflón para sellar las conexiones.

También se utilizó material de vidrio común, un baño de ultrasonido BRANSON 2510, un baño de agua con temperatura controlada LAB-LINE, un agitador orbital LAB-LINE y un equipo para filtración MILLIPORE.

Todos los materiales usados fueron previamente lavados con detergente libre de fosfatos y enjuagados minuciosamente con agua corriente y posteriormente con agua destilada.

2.2 PROCEDIMIENTO

2.2.1 PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES

Para realizar el procedimiento experimental se utilizaron varias disoluciones, las cuales se mencionan a continuación, así como la forma en que fueron preparadas. Todas las disoluciones se prepararon en agua destilada y con reactivos de grado analítico.

1. Disolución madre de 500 mg/L de fósforo en forma de fosfatos. Se preparó a partir de fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4) con una pureza del 99.5 %. Se pesaron aproximadamente 220 mg para aforar a 100mL. Para conservar esta disolución se guardó en el refrigerador a 4° C aproximadamente. La vida útil de la disolución en refrigeración es de 15 días.
2. Disolución madre de 500 mg/L de arsénico en forma de arsenato. Se preparó a partir de arsenato dibásico de sodio heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) de 99% de pureza. Se pesaron aproximadamente 210 mg del compuesto que se disolvieron en agua para llevar a un aforo de 100 mL. La vida útil de la disolución en refrigeración es de 2 meses aproximadamente.
3. Disolución madre de 500 mg/L de arsénico en forma de arsenito. Se preparó a partir de arsenito de sodio (NaAsO_2) con 100% de pureza. Se pesaron aproximadamente 217 mg del compuesto que se disolvieron en agua para llevar a un aforo de 250 mL. La vida útil de la disolución en refrigeración es de 2 meses aproximadamente.
4. Ácido ascórbico 6% (disolución **A**). Se pesaron 0.6 g de ácido ascórbico, se disolvieron en aproximadamente 8 mL de agua y se aforó a 10 mL.
5. Molibdato de amonio al 0.4% en medio ácido (disolución **B**). Se preparó pesando 40 mg de molibdato de amonio tetrahidratado $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ que se disolvieron en aproximadamente 5 mL de agua destilada, posteriormente se agregaron 0.7 mL de una disolución de ácido sulfúrico 2.2 M y se aforó a 10 mL.

6. Yodato de potasio 0.5% (disolución **C**). Se pesaron 50 mg de yodato de potasio (KIO_3) que se disolvieron en agua para llevar a un aforo de 10 mL.

Todas las disoluciones y el acarreador (agua destilada) fueron sonicados por 20 minutos antes de introducirse en las configuraciones. Las disoluciones 4, 5 y 6 se prepararon todos los días.

2.2.2 OBTENCIÓN DE ESPECTROS

2.2.2.1 Heteropoliácido de fósforo

Para obtener el espectro del heteropoliácido de fósforo y molibdeno en un matraz volumétrico de 10 mL se colocaron 100 μ L de una disolución estándar de 500 mg/L de fósforo en forma de fosfato, 1 mL de la disolución de molibdato de amonio al 0.4% en medio ácido y 1 mL de la disolución de ácido ascórbico al 6%. La mezcla anterior se aforó a 10 mL, se esperó 5 minutos para que la reacción se lleve a cabo por completo y por último se leyó el espectro de absorción desde 300 hasta 900 nm del producto color azul en un espectrofotómetro UV-VIS.

2.2.2.2 Heteropoliácido de arsénico (V)

Para obtener el espectro del heteropoliácido de arsénico y molibdeno se realizó un procedimiento similar, aunque se preparó la mezcla en un vaso de precipitados, se cambió la disolución estándar por una de 500 mg/L de arsénico en forma de arsenato y se colocó la mezcla en un baño de agua a aproximadamente 70° C por 1 minuto, posteriormente se enfrió para colocarse en un matraz volumétrico de 10 mL y aforarse. Por último se leyó el espectro de absorción de forma similar al heteropoliácido de fósforo.

2.2.3 CONFIGURACIONES SIA OPTIMIZADAS

A continuación se describen las configuraciones que se emplearon en este proyecto. La configuración **I** se empleó para la determinación de fosfatos, la configuración **II** para determinar arsenatos y la configuración **III** para determinar arsenitos.

2.2.3.1 Configuración I

La configuración I (Figura *¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..1*) está conformada por dos reactores conectados a una válvula de selección VS de seis puertos, una bomba peristáltica y el detector UV – VIS equipado con una celda de flujo con una capacidad de 18 μL , además de la tubería necesaria para hacer conexiones y aspirar disoluciones desde la válvula de selección. Todos los reactores se encuentran a temperatura ambiente (23 ± 2 °C).

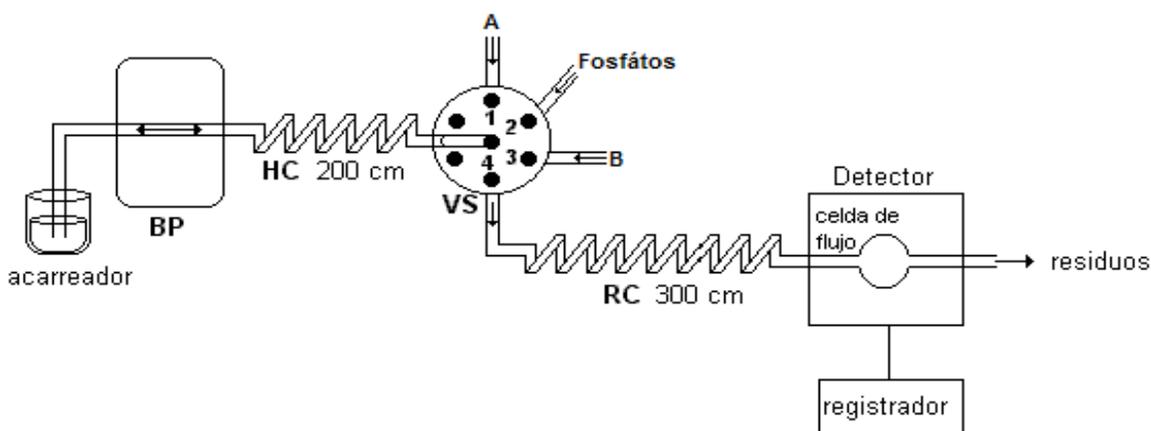


Figura *¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..1. Configuración I.* Se esquematizan las partes que forman la configuración SIA, la bomba peristáltica (BP), la válvula de selección (VS), el reactor de espera (HC), el reactor de reacción (RC), el detector y la celda de flujo. En la posición 1 se encuentra la disolución A (ácido ascórbico al 6%), en la posición 2 la disolución que contiene fosfatos y en la posición 3 la disolución B (molibdato de amonio al 0.4% en H_2SO_4 0.15 M).

La válvula de selección tiene un total de siete puertos, el central y seis posiciones laterales. A continuación se enlista la organización alrededor de la válvula VS de los aditamentos que conforman esta configuración.

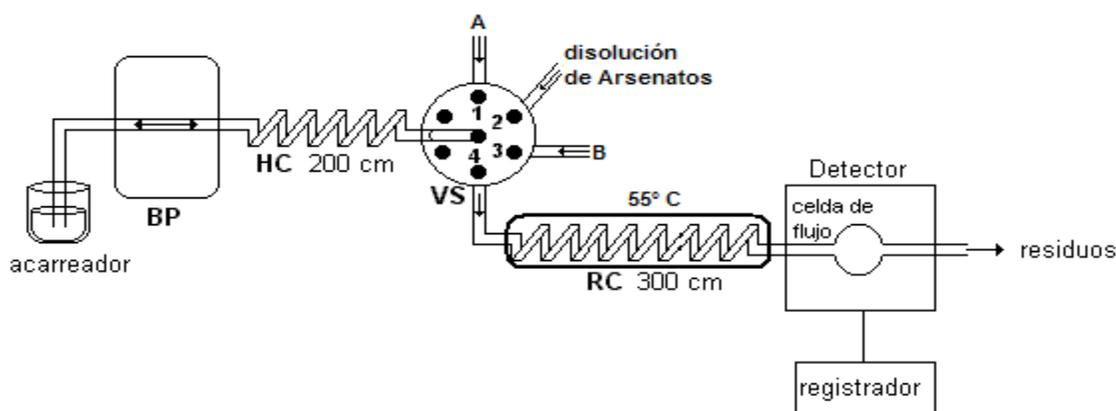
- Posición central.- En ésta se conectó el primer reactor, llamado reactor de espera HC Por el otro extremo del reactor se conectó el tubo de la bomba peristáltica que genera el flujo. El diámetro interno del tubo con el que se hizo este reactor es de 0.8mm y tiene una longitud de 200cm.
- Posición 1.- En esta posición se colocó un tubo de teflón que se conecta al contenedor de la disolución A (ácido ascórbico al 6%).

- Posición 2.- En esta posición se colocó el tubo de teflón por el cual se aspiraron las disoluciones que contienen la especie de interés, estándares o muestras.
- Posición 3.- En esta posición se colocó un tubo de teflón que conecta al contenedor de la disolución B (molibdato de amonio al 0.4% en medio ácido).
- Posición 4.- En esta se encuentra el segundo reactor llamado reactor de reacción RC, que a su vez se conectó a la celda de flujo del detector. El tubo con el que está formado este reactor tiene 0.5 mm de diámetro interno y una longitud de 300 cm.
- Las posiciones 5 y 6 no se utilizaron en esta configuración.

La bomba peristáltica genera un flujo constante que puede ser dirigido en dos direcciones, en este caso, hacia el detector o hacia el reactor de espera. En todas las configuraciones se utilizó agua destilada como portador y un caudal de 1.2 mL/min.

2.2.3.2 Configuración II

Esta configuración (**Figura** ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..2) tiene además de los mismos componentes que la anterior un baño de agua a



temperatura controlada.

Figura ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..2. *Configuración II.* Se esquematiza la bomba peristáltica (BP), la válvula de selección (VS), el reactor de espera (HC), el reactor de reacción (RC) que se encuentra a 55 °C, el detector y la celda de flujo. En la posición 1

se encuentra la disolución A (ácido ascórbico al 6%), en la posición 2 la disolución que contiene arsenatos o fosfatos y en la posición 3 la disolución B (molibdato de amonio al 0.4% en H₂SO₄ 0.15 M).

A continuación se enlista la organización de la configuración II alrededor de la válvula de selección. Las especificaciones sobre los reactores y disoluciones son iguales a las de la configuración I.

- Posición central.- En esta se conectó el reactor de espera HC. Por el otro extremo del reactor se conectó al tubo de la bomba peristáltica.
- Posición 1.- Disolución A.
- Posición 2.- Disolución que contiene la especie de interés.
- Posición 3.- Disolución B.
- Posición 4.- En esta se encuentra el reactor de reacción RC que está sumergido en un baño de agua a 55° C y que a su vez se conectó a la celda de flujo del detector.
- Las posiciones 5 y 6 no se utilizaron en esta configuración.

2.2.3.3 Configuración III

Esta configuración (figura 2.3) consta de los mismos elementos que la configuración II pero, utiliza un canal más.

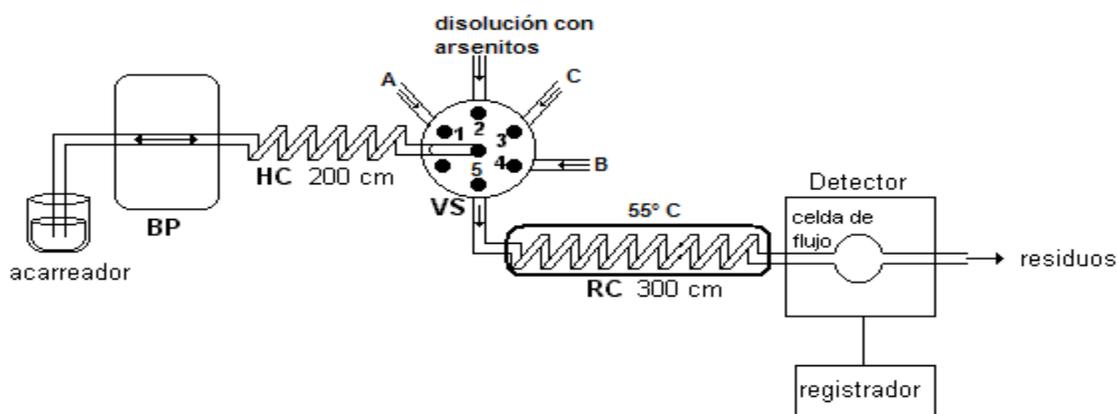


Figura ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..3 Configuración III. . Se esquematiza la bomba peristáltica (BP), la válvula de selección (VS), el reactor de espera (HC), el reactor de reacción (RC) que se encuentra a 55 °C, el detector y la celda de flujo. En la posición 1 se encuentra la disolución A (ácido ascórbico al 6%), en la posición 2 la disolución que contiene arsenitos, en la posición 3 la disolución de KIO_3 al 0.5 % y en la posición 4 la disolución B (molibdato de amonio al 0.4% en H_2SO_4 0.15 M).

A continuación se enlista la organización alrededor de la válvula de selección VS.

- Posición central.- En ésta se conectó el reactor de espera HC. Por el otro extremo del reactor se conectó al tubo de la bomba peristáltica.
- Posición 1.- Disolución A.
- Posición 2.- Disolución que contiene la especie de interés.
- Posición 3.- Disolución C (KIO₃ 0.5%).
- Posición 4.- Disolución B
- Posición 5.- En esta se encuentra el reactor de reacción RC que está sumergido en un baño de agua a 55° C y que a su vez se conectó a la celda de flujo del detector.
- La posición 6 no se utilizó en esta configuración.

2.2.4 SECUENCIAS DE INYECCIÓN

Para las determinaciones se utilizaron dos secuencias de inyección. La secuencia **A** que se utilizó con las configuraciones **I** y **II** para determinar fosfatos y arsenatos; y la secuencia **B** que se utilizó con la configuración **III** para determinar arsenitos.

2.2.4.1 Secuencia de inyección A

A continuación se detallan los pasos de la secuencia de inyección **A**.

- a) Con el flujo del acarreador en dirección inversa y la válvula de selección en posición 1, aspirar la disolución A por 5 segundos hacia el reactor HC.
- b) Cambiando la válvula de selección a la posición 2, aspirar la disolución estándar o muestra por 5 segundos hacia el HC.
- c) Cambiando la válvula de selección a la posición 3, aspirar la disolución B por 5 segundos hacia el HC.

- d) Cambiar el sentido del flujo hacia el detector (derecha de la **Figura** ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..1) y cambiar al mismo tiempo la válvula de selección a la posición 4 que permite que la mezcla avance hacia el reactor RC y llegue posteriormente al detector.

2.2.4.2 Secuencia de inyección B

A continuación se detallan los pasos de la secuencia de inyección **B**.

- a) Con el flujo del acarreador en dirección contraria al detector y la válvula de selección en posición 1, aspirar la disolución A por 5 segundos hacia el reactor HC.
- b) Cambiando la válvula de selección a la posición 2, aspirar la disolución estándar o muestra por 5 segundos hacia el HC.
- c) Cambiando la válvula de selección a la posición 3, aspirar la disolución C, por 3 segundos hacia el HC.
- d) Cambiando la válvula de selección a la posición 4, aspirar la disolución B por 5 segundos hacia el HC.
- e) Cambiar el sentido del flujo hacia el detector y al mismo tiempo la válvula de selección a la posición 5 que permite que la mezcla avance hacia el reactor RC y llegue posteriormente al detector.

2.2.5 DETERMINACIÓN DE LOS ANALITOS DE INTERÉS

A continuación se explica el procedimiento realizado para obtener las señales analíticas con las que se determinó la concentración de fosfatos, arsenatos y arsenitos en disoluciones simples o mezclas de estos iones.

La lectura de todas las señales se realizó a 850 nm. A cada señal obtenida se la restó la absorbancia del blanco obtenido en la misma secuencia y configuración.

2.2.5.1 Determinación de fosfatos

Para determinar fosfatos se utilizó la configuración **I** y la secuencia de inyección **A**. Se hizo una curva de calibración a temperatura ambiente con disoluciones

estándar de concentración conocida entre 1 y 10 mg/L que se prepararon a partir de la disolución madre de 500 mg/L de fósforo.

Después de inyectar la disolución de interés se midió la altura del pico obtenido. A ésta absorbancia se le restó la absorbancia de la señal del blanco. Se calculó la concentración de fosfatos sustituyendo absorbancia resultante en la ecuación de la curva de calibración de fosfatos a temperatura ambiente y despejando la concentración.

2.2.5.2 Determinación de arsenatos

Para determinar arsenatos en una disolución que no contiene fosfatos se obtuvo una curva de calibración con disoluciones estándar de concentración conocida entre 1 y 10 mg/L preparadas a partir de la disolución madre de 500 mg/L de arsénico (V).

Se utilizó la configuración **II** y la secuencia de inyección **A**. Se midió la altura del pico obtenido. Se calculó la concentración de arsenatos sustituyendo la absorbancia en la ecuación de la curva de calibración y despejando la concentración.

2.2.5.3 Determinación de arsenitos

Para determinar la concentración de arsénico (III) en forma de arsenitos se utilizó la configuración **III** y la secuencia de inyección **B**. Así, se obtuvo una curva de calibración con disoluciones estándar de concentración conocida entre 1 y 10 mg/L preparadas a partir de la disolución madre de 500 mg/L de arsénico (III).

Se calculó la concentración de arsenitos sustituyendo esta absorbancia en la ecuación de la curva de calibración y despejando la concentración.

2.2.5.4 Resolución de mezclas binarias de fosfatos y arsenatos

Para obtener la concentración individual de arsenatos y de fosfatos en una disolución problema que contiene los dos iones se tuvieron que realizar dos determinaciones:

La primera a temperatura ambiente usando la configuración **I** y la secuencia de inyección **A** de donde se calculó directamente la concentración de fosfatos.

La segunda determinación se realizó con la secuencia de inyección **A** y la configuración **II**.

La concentración de As(V) se calculó de la forma indicada en la sección 2.3.1.

2.2.5.5 Resolución de mezclas binarias de arsenatos y arsenitos

De forma general, en una disolución que contiene arsenatos y arsenitos primero se determinó la concentración de arsenatos usando la configuración **II** y la secuencia de inyección **A**. Para obtener la concentración de arsenitos se realizó un segundo análisis usando la configuración **III** y la secuencia **B**.

Pero cuando la concentración de arsenitos en la mezcla tiene una proporción de As(III)/As(V) menor a 5:1, la concentración de los primeros se calcula utilizando una curva de adiciones estándar de As(V). Este procedimiento se realizó elaborando varias disoluciones manteniendo constante el volumen de la mezcla original y adicionando una concentración conocida y variable de arsenatos.

El análisis se realizó a estas disoluciones usando la configuración **III** y la secuencia de inyección **B** de donde se obtuvo una gráfica de absorbancia vs. concentración de arsenatos. La parte lineal de esta gráfica tiene una ecuación cuya ordenada al origen contiene la información necesaria para calcular la concentración de arsenitos. En la sección 2.3.2. se explica el procedimiento que se utilizó.

2.2.5.6 Resolución de mezclas ternarias de fosfatos, arsenatos y arsenitos

Para obtener la concentración de cada ión en disoluciones que contienen las tres especies de interés se realizan tres análisis.

El primero a temperatura ambiente usando la configuración **I** y la secuencia **A**. De este se obtiene directamente la concentración de fosfatos.

El segundo análisis se realiza a 55° C con la configuración **II** y la secuencia **A** para calcular la concentración de arsenatos.

El tercer análisis se realiza empleando un oxidante, con la secuencia de inyección **B** y la configuración **III** para obtener la concentración de arsenitos. En la sección 2.3.3 se explica el procedimiento que se utilizó.

2.2.5.7 Resumen de las secuencias empleadas y su aplicación

En la tabla siguiente se muestran las dos secuencias utilizadas en este proyecto, también se indican las configuraciones con las que se aplican estas secuencias y las especies que se pueden detectar.

Secuencia de inyección A							
Detalles de la secuencia				Configuración	Especies detectadas		
Paso	Posición de la VS	Tiempo de aspiración [s]	Dirección del flujo	I	Fosfatos		
a	1	5	Inverso				
b	2	5	Inverso				
c	3	5	Inverso				
d	4	---	adelante	II	Fosfatos y arsenatos		
Secuencia de inyección B							
Detalles de la secuencia						Configuración	Especies detectadas
Paso	Posición de la VS	Tiempo de aspiración [s]	Dirección del flujo			III	Fosfatos arsenatos y arsenitos
a	1	5	Inverso				
b	2	5	Inverso				
c	3	2	Inverso				
d	4	5	Inverso				
e	5	---	adelante				

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..1. *Secuencias empleadas en la determinación de fosfatos, arsenatos y arsenitos.* La dirección adelante se refiere al flujo en dirección al detector, inverso se refiere al flujo en dirección hacia el HC.

2.3 CÁLCULOS

Para determinar la concentración de fosfatos, arsenatos o arsenitos en una disolución que solo contenga alguno de los tres iones solo se aplica la ecuación de la curva de calibración correspondiente.

A continuación se presentan las representaciones algebraicas de las curvas de calibración utilizadas para la determinación de alguno de los iones de interés en una disolución que no muestra interferencias.

I. Para la determinación de fosfatos a temperatura ambiente la ecuación que se obtuvo tiene la forma:

$$A_1 = C_{P(V)}m_1 + b_1 \quad \dots\dots\dots(I)$$

En todas las ecuaciones A es la absorbancia, m es la pendiente de la recta, C es la concentración y b es la ordenada al origen.

II. Para la determinación de arsenatos en una disolución libre de fosfatos la ecuación de la curva de calibración se representa:

$$A_2 = C_{As(V)}m_2 + b_2 \quad \dots\dots\dots(II)$$

III. La ecuación de la curva de calibración para la determinación de arsenitos en una disolución libre de arsenatos y fosfatos es:

$$A_3 = C_{As(III)}m_3 + b_3 \quad \dots\dots\dots(III)$$

Para el cálculo de las concentraciones de los iones de interés en mezclas de éstos se utilizaron además curvas de calibración auxiliares, cuyas ecuaciones se presentan a continuación.

i. Curva de calibración auxiliar de fosfatos a 55° C. Obtenida con la configuración **II** y la secuencia **A**.

$$A_4 = C_{P(V)}m_4 + b_4 \quad \dots\dots\dots(IV)$$

ii. Curva de calibración auxiliar de fosfatos en presencia de oxidante. Obtenida con la configuración **III** y la secuencia **B**

$$A_5 = C_{P(V)}m_5 + b_5 \quad \dots\dots\dots(V)$$

iii. Curva de calibración auxiliar de arsenatos en presencia de oxidante. Obtenida con la configuración **III** y la secuencia **B**

$$A_6 = C_{As(V)} m_6 + b_6 \quad \dots\dots\dots(VI)$$

2.3.1 CÁLCULO DE LAS CONCENTRACIONES EN MEZCLAS BINARIAS DE FOSFATOS Y ARSENATOS

Para la resolución de este tipo de mezclas se realizaron dos análisis. El primero a temperatura ambiente, de donde se obtiene directamente la concentración de fosfatos sustituyendo la absorbancia de la señal en la ecuación (I) y despejando $C_{P(V)}$.

Para obtener la concentración de arsenatos se realizó un segundo análisis a 55° C con la configuración **II** y con la secuencia de inyección **A** de donde se obtiene una señal de absorbancia A_{55° .

En este análisis se tuvo que considerar que la formación del heteropoliácido de fósforo también es mayor que a temperatura ambiente por lo que se corrió una curva de calibración de fosfatos en las mismas condiciones. Ésta es la curva de calibración auxiliar IV. Esta ecuación sirvió como auxiliar para el cálculo de la concentración de As (V) en la disolución problema, el cual se realizó de la siguiente forma: la absorbancia A_{55° es la suma de las contribuciones de los dos heteropoliácidos en las condiciones de análisis:

$$A_{55^\circ} = A_2 + A_4 \quad \dots\dots\dots(VII)$$

Como a temperatura ambiente se obtuvo la concentración de fosfatos $C_{P(V)}$ en la disolución problema, la concentración de arsenatos se calculó sustituyendo (II) y (IV) en (VII) y despejando $C_{As(V)}$. Así la ecuación que se utilizó para calcular la concentración de arsenatos es:

$$C_{As(V)} = \frac{A_{55^\circ} - C_{P(V)} m_4 - b_4 - b_2}{m_2} \quad \dots\dots\dots(VIII)$$

2.3.2 CÁLCULO DE LAS CONCENTRACIONES EN MEZCLAS BINARIAS DE ARSENATOS Y ARSENITOS

Para la resolución de estas mezclas es necesario hacer dos análisis, el primero usando la secuencia de inyección **A** y la configuración **II** de donde se puede calcular directamente la concentración de arsenatos sustituyendo la absorbancia en la ecuación (II).

Para la determinación de arsenitos se presentan dos casos:

1.- *Cuando la concentración de arsenitos es mayor que la de arsenatos en una proporción As(III)/As(V) mayor a 5:1.* En estos casos, la concentración de arsenitos se obtiene con un segundo análisis realizado con la configuración **III** y la secuencia de inyección **B** en donde se obtiene una señal de absorbancia A_{Ox} . Esta señal es el resultado de la suma de la absorbancia debida a la formación del heteropoliácido del As(V) existente y el heteropoliácido del As(V) recién formado por la oxidación de As(III):

$$A_{Ox} = A_3 + A_6 \quad \dots\dots\dots(IX)$$

Sustituyendo (III) y (VI) en (IX) y despejando $C_{As(III)}$ se obtiene la siguiente ecuación:

$$C_{As(III)} = \frac{A_{Ox} - C_{As(V)}m_6 - b_6 - b_3}{m_3} \quad \dots\dots\dots(X)$$

2.- *Cuando la concentración de arsenitos en la mezcla tiene una proporción de As(III)/As(V) menor a 5:1.* Para conocer la concentración de arsenitos se tiene que realizar una curva de adiciones estándar cuya ecuación es:

$$A_{AE} = C_{As(V)}m_{AE} + b_{AE} \quad \dots\dots\dots(XI)$$

Donde el subíndice AE se refiere a las adiciones estándar. De esta ecuación se tiene que la ordenada al origen contiene la información sobre la concentración original de arsenatos y la de arsenitos presentes en la disolución problema. Así:

$$b_{AE} = A_3 + A_6 \quad \dots\dots\dots(XII)$$

Por lo que sustituyendo las ecuaciones (III) y (VI) en la ecuación XII y despejando $C_{As(III)}$ se tiene la siguiente ecuación para determinar la concentración de arsenitos:

$$C_{As(III)} = \frac{b_{AE} - C_{As(V)}m_6 - b_6 - b_3}{m_3} \quad \dots\dots\dots(XIII)$$

2.3.3 CÁLCULO DE LAS CONCENTRACIONES EN MEZCLAS TERNARIAS DE FOSFATOS, ARSENATOS Y ARSENITOS

Para conocer la concentración de cada especie fue necesario realizar tres análisis.

El primero a temperatura ambiente (configuración I y secuencia A) de donde se calcula la concentración de fosfatos sustituyendo la absorbancia en la ecuación I y despejando $C_{P(V)}$.

El segundo análisis se realiza empleando la configuración II y la secuencia A, la absorbancia de la señal obtenida es A_{55° y el cálculo de la concentración de arsenatos $C_{As(V)}$ se realiza de la forma descrita en la sección 2.3.1.

El tercer análisis se realiza en presencia de oxidante, con la secuencia de inyección B y la configuración III. La señal obtenida es A'_{Ox} , ésta es resultado de la formación de los heteropoliácidos de fosfato, del As(V) existente en la mezcla y del As(V) recién formado por la oxidación del As(III). Entonces se puede establecer que:

$$A'_{Ox} = A_3 + A_5 + A_6 \quad \dots\dots\dots(XIV)$$

Como en las dos determinaciones anteriores se logró conocer los valores de $C_{P(V)}$ y $C_{As(V)}$ para determinar la concentración de arsenitos se sustituyen la ecuaciones (III), (V) y (VI) en (XIV) y se despeja $C_{As(III)}$. La ecuación final es:

$$C_{As(III)} = \frac{A'_{Ox} - C_{P(V)}m_5 - b_5 - C_{As(V)}m_6 - b_6 - b_3}{m_3} \quad \dots\dots\dots(XV)$$

2.3.4 CÁLCULO DE LOS LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN.

Para conocer los límites de detección (LD) de las curvas de calibración, se tomó como base la definición que señala que el límite de detección es la concentración de analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco más tres veces la desviación estándar de éste. La definición se puede expresar con la ecuación siguiente:

$$y - y_B = 3s_B \quad \dots\dots\dots(\text{XVI})$$

Donde y es la señal de una disolución del analito en una concentración igual al límite de detección, y_B es la señal del blanco y s_B es la desviación estándar del blanco. En la práctica es aceptable el uso del valor calculado de la ordenada al origen (b) y su desviación estándar ($s_{y/x}$) en lugar de la señal del blanco y su respectiva desviación estándar [31]. Así, la ecuación para determinar la señal de absorbancia del límite de detección A_{LD} de cada curva de calibración es:

$$A_{LD} = b + 3s_{y/x} \quad \dots\dots\dots(\text{XVII})$$

La desviación estándar $s_{y/x}$ de una curva de calibración se determina con la siguiente ecuación:

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

Donde y_i son los valores de las señales de absorbancia obtenidas experimentalmente para un valor de concentración, \hat{y}_i son los valores calculados con la ecuación de la recta para cada valor de concentración, y n es el número de puntos que tiene la curva de calibración.

Una vez obtenido el valor de A_{LD} se calculó la concentración del límite de detección sustituyendo este valor de absorbancia en la ecuación de la recta correspondiente y despejando la concentración del analito.

Para obtener el valor del límite de cuantificación (LC) se empleó el criterio de que la señal A_{LC} debe ser igual a la del blanco más 10 veces el valor de su desviación estándar, la expresión que se utilizó para calcular esta señal fue:

$$A_{LC} = b + 10s_{y/x} \quad \dots\dots\dots(\text{XIX})$$

Una vez obtenido este valor de absorbancia se sustituyó en la ecuación de la curva analizada y se despejó la concentración del analito.

2.4 EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS

Para verificar la precisión de los métodos se realizaron varias pruebas, se calculó la repetibilidad en un día y la reproducibilidad y repetibilidad realizando una prueba de siete días y se calculó la exactitud de las determinaciones.

Para realizar estas pruebas se utilizaron estándares certificados de fósforo en forma de fosfatos en una concentración de 1000 ± 3 mg/L en una matriz acuosa con HNO_3 0.05%, arsénico (V) en forma de arsenatos en una concentración de 1000 ± 3 mg/L y matriz acuosa con NaOH 2% + TrBr y arsénico (III) en forma de arsenitos en una concentración de 1000 ± 3 mg/L y una matriz acuosa con HCl 2%.

2.4.1 PRECISIÓN COMO REPETIBILIDAD

Para calcular la precisión en un día de trabajo se realizó la inyección de un estándar a una concentración que se encontrara en la parte media de la curva de calibración correspondiente. La inyección se realizó siete veces, se tomaron las lecturas y se calculó la concentración para cada una de ellas empleando la ecuación de la curva. Una vez realizado el cálculo de concentración se evaluó la desviación estándar relativa (DER) de estos valores la cual se reportó como precisión.

2.4.2 REPRODUCIBILIDAD Y REPETIBILIDAD (PRUEBA DE SIETE DÍAS)

Para realizar esta prueba se eligió una concentración con la que se trabajara por siete días. Cada día se prepararon dos disoluciones de la concentración seleccionada, cada disolución se inyectó por triplicado cada día, se calculó la

concentración obtenida en cada inyección utilizando la ecuación de la curva y se calculó el promedio de la concentración de cada disolución.

Con los datos de las dos replicas cuantificadas por siete días se realizó un análisis de varianza (ANOVA) que proporcionó los valores de la suma de cuadrados (SC), los grados de libertad (GL) y las medias de los cuadrados (MC) entre días y dentro de días.

A continuación se presenta un ejemplo de la tabla ANOVA (tabla 2.2) que se obtiene al introducir la serie de resultados de la prueba de los siete días en la opción de *Análisis de varianza de un factor* del programa EXCEL.

Se introdujeron los datos del estudio de la curva de calibración de ecuación (I), correspondiente a la determinación de fosfatos a temperatura ambiente. La concentración utilizada en esta prueba fue de 6 mg/L.

ANÁLISIS DE
VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados(MC)</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.4233259	6	0.070554319	1.70989	0.24910	3.86598
Dentro de los grupos	0.2888363	7	0.041262336			
Total	0.7121622	13				

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..2.ANOVA de los resultados obtenidos con la prueba de los siete días para la determinación de fosfatos a temperatura ambiente usando una concentración de 6 mg/L.

Cuando no se cuenta con esta aplicación en EXCEL se puede calcular el valor de MC calculando la suma de los cuadrados (SM) y los grados de libertad (GL) ya que:

$$MC = \frac{SM}{GL} \dots\dots\dots(XX)$$

Los cálculos necesarios se resumen en la tabla 2.3 que se presenta a continuación.

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SM)	Grados de libertad (GL)
Entre días	$\sum_i T_i^2 / n - T^2 / N$	$h - 1$
Dentro de días	$SM_{\text{Total}} - SM_{\text{entre días}}$	$GL_{\text{Total}} - GL_{\text{entre días}}$
Total	$\sum_i \sum_j y_{ij}^2 - T^2 / N$	$N - 1$

Tabla 3. Formulas para obtener SM y GL. Donde N= número total de medidas realizadas, h=número de días, n=número de réplicas por día, y_{ij} =cada medida realizada, T_i =suma de las medidas en el i-ésimo día y T=suma de todas las medidas (gran total).

Para calcular la repetibilidad, que se define como la variación de la cuantificación dentro de días (s_r) se empleó la siguiente ecuación:

$$s_r = \sqrt{MC_{\text{dentro de días}}} \dots\dots\dots(\text{XXI})$$

Para el cálculo de la reproducibilidad del método (s_{WR}) se empleó la expresión:

$$s_{WR} = \sqrt{s_r^2 + s_{\text{entre días}}^2} \dots\dots\dots(\text{XXII})$$

Donde $s_{\text{entre días}}$ es la variación al realizar la determinación en días diferentes. Se obtiene el valor de su cuadrado empleando la ecuación:

$$s_{\text{entre días}}^2 = \frac{(MC_{\text{entre días}} - MC_{\text{dentro de días}})}{2} \dots\dots\dots(\text{XXIII})$$

2.4.3 EXACTITUD

Para determinar la exactitud del método se emplearon las mismas mediciones realizadas para la determinación de reproducibilidad y repetibilidad, los promedios de concentración obtenidos se compararon con los valores esperados según la concentración del estándar certificado (considerando la dilución correspondiente) y se empleó la ecuación:

$$\text{Exactitud} = \frac{\text{valor experimental}}{\text{valor teórico}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(\text{XXIV})$$

2.5 MUESTRAS

2.5.1 DETERMINACIÓN DE FOSFATOS Y As (V) SOLUBLES EN JALES MINEROS

2.5.1.1 Extracción de compuestos solubles

Se pesaron aproximadamente 5 gramos de cada muestra, se colocó esta cantidad en un matraz Erlenmeyer de 250 mL de capacidad y se adicionaron 100 mL de agua destilada (proporción 1:20 peso/volumen). La mezcla se mantuvo en agitación por 18 horas a 200 rpm en un agitador orbital lab-line (método ASTM 3987), manteniendo los matraces abiertos.

Transcurrido el tiempo de agitación se procedió a filtrar con equipo millipore usando membranas de nylon con un tamaño de poro de 0.45 μ m. Por último el extracto obtenido se almacenó en frascos color ámbar previamente lavados adecuadamente.

2.5.1.2 Medición de fosfatos

Para obtener la concentración de fosfatos en el extracto de los jales se utilizó la configuración I y la secuencia de inyección A. La señal obtenida se sustituyó en la ecuación de la curva de calibración correspondiente para obtener el valor de la concentración de fosfatos.

No fue necesario hacer ninguna dilución o concentración a los extractos.

2.5.1.3 Medición de As(V)

Para obtener la concentración de arsenatos en el extracto de los jales se utilizó la configuración II y la secuencia de inyección A. El cálculo de la concentración de As(V) se realizó como se indica en la sección 2.3.1.

2.5.2 DETERMINACIÓN DE As(V) EN ARSENOPIRITA

Para solubilizar el arsénico de la arsenopirita se realizó el siguiente procedimiento: se pesó aproximadamente 0.1 g. de la muestra, se adicionaron 4 mL de agua

regia (HCl/HNO₃ en una proporción 3:1) y se dejó en reposo por aproximadamente 8 horas.

Una vez transcurrido este tiempo se filtró el extracto y se adicionó agua hasta aforar a 100 mL. Para realizar la medición se diluyó 100 veces el extracto original.

La medición de arsenatos se realizó de la misma forma que para los extractos de jales mineros.

3 RESULTADOS

3.1 ESPECTROS DE ABSORCIÓN DE LOS HETEROPOLIÁCIDOS DE FÓSFORO Y ARSÉNICO V

Los espectros de absorción de los heteropoliácidos de fósforo y arsénico (V) obtenidos conforme lo indicado en la sección 2.2.2 se presentan a continuación en la figura 3.1.

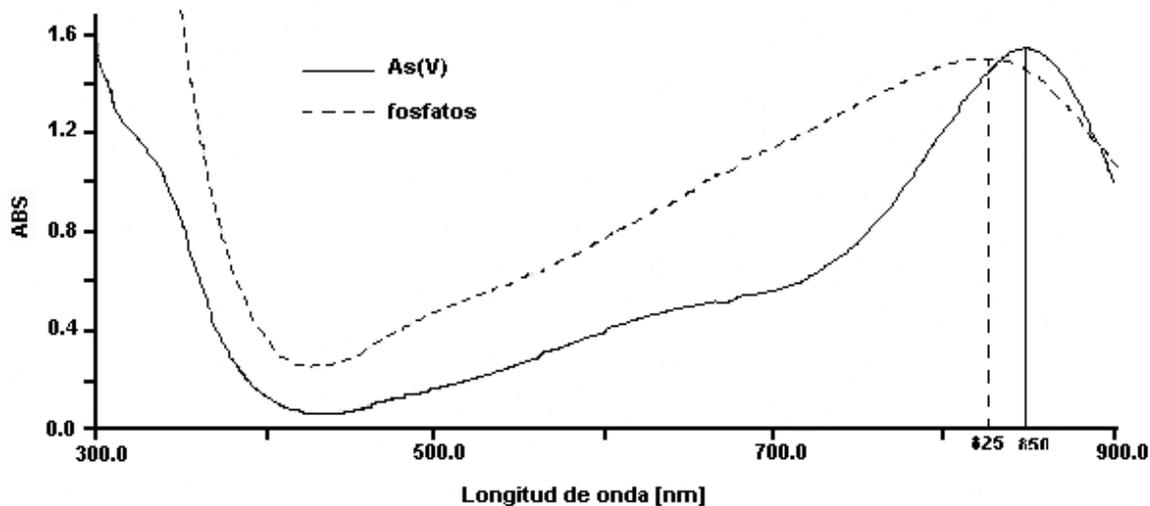


Figura 3.1. Espectros de los heteropoliácidos azules de fosfatos y arsenatos.

El espectro del heteropoliácido de molibdeno y fósforo tiene un máximo de absorción a 825 nm, mientras que el heteropoliácido de arsénico y molibdeno presenta un espectro parecido pero con máximo a 850 nm. La longitud de onda seleccionada para realizar este proyecto fue de 850 nm (máximo del heteropoliácido de As-Mo). Se hizo esta elección debido a que el compuesto azul de fosfato no presenta una diferencia significativa de absorbancia al ser leído a 850 u 825 nm. Mientras que el compuesto azul de As-Mo sí aumenta su absorbancia en forma apreciable cuando se lee a 850 nm comparada con la absorbancia a 825 nm.

Aunque en publicaciones sobre análisis similares se utiliza la longitud de onda de 690 nm, se descartó esta longitud de onda debido a que utilizando una longitud de onda cercana a los máximos de absorción de los compuestos coloridos se obtiene

mejor sensibilidad. Otra causa de que se usara una λ de 850 nm en este proyecto es que no se utilizó el tartrato de antimonio para catalizar la reacción. De haberse utilizado el catalizador la señal a 850 nm se habría saturado a concentraciones muy bajas de fosfatos.

3.2 SISTEMA DE INYECCIÓN SECUENCIAL

3.2.1 OPTIMIZACIÓN DE PARÁMETROS QUÍMICOS

Los reactivos que se utilizaron en las diferentes secuencias de inyección para generar los compuestos coloridos de fosfatos y arsenatos fueron: molibdato de amonio en medio ácido y ácido ascórbico. Además, se empleó como agente oxidante KIO_3 para formar As(V) a partir del As(III).

3.2.1.1 Disolución de ácido ascórbico

La concentración de ácido ascórbico utilizada fue del 6%, basada en los resultados obtenidos en un análisis similar para determinar fosfatos y arsenatos usando la técnica de análisis por inyección en flujo (FIA) [7]

3.2.1.2 Disolución de molibdato de amonio

La reacción de generación del azul de molibdeno se realiza en medio ácido. Por lo que en esta disolución fue necesario optimizar tanto la concentración de molibdato de amonio como el tipo de ácido y la concentración de éste.

En publicaciones anteriores [7] sobre análisis de fosfatos por FIA se reporta el uso de molibdato de amonio 0.4% en ácido sulfúrico o nítrico.

En primer lugar se estudió un intervalo de concentraciones de molibdato de amonio entre 0.1 y 1 % usando una disolución de 5 mg/L de fosfatos y la secuencia A. El ácido usado en las disoluciones de prueba fue ácido sulfúrico 0.6 M.

Se eligió la concentración de 0.4% de molibdato de amonio, ya que genera una buena señal sin que el blanco interfiera significativamente. Además de que concentraciones de molibdato menores a ésta dan señales más pequeñas. Concentraciones mayores a 0.4 % generan blancos con una señal muy alta.

Para optimizar la concentración y el tipo de ácido se probaron tres ácidos: nítrico, clorhídrico y sulfúrico en concentraciones entre 0.2 y 1 M. El alto contenido de fosfatos en los primeros dos, aún en concentraciones bajas, provocó que los blancos dieran señales muy altas, por lo que fueron descartados. Así, se seleccionó ácido sulfúrico

Al realizar pruebas inyectando un estándar de arsenatos de 6 mg/L usando la configuración II y la secuencia A, se observó que la concentración de ácido sulfúrico afecta la formación del heteropoliácido. A mayor concentración del ácido hay una menor formación del complejo.

Una concentración de 0.55 M en la disolución genera una señal cercana a 0.1 de absorbancia, mientras que una concentración 0.2 M genera una señal de aproximadamente 0.3 de absorbancia y una concentración de 0.15 M genera señal de aproximadamente 0.4 de absorbancia. Concentraciones menores a 0.1 M y mayores de 0.6 M de ácido generan señales menores a 0.1 de absorbancia.

La concentración de ácido sulfúrico seleccionada para trabajar fue 0.15 M ya que se obtiene una buena señal tanto para determinar fosfatos como arsenatos.

3.2.1.3 Disolución de yodato de potasio

Para la optimización de la concentración de este reactivo se empleó la secuencia de inyección **B** y la configuración **III**. Se inyectó una disolución de 9 mg/L de As(III).

Se realizaron pruebas con disoluciones de concentración entre 0.2 y 1.3 % de KIO_3 . Los resultados muestran que la concentración óptima fue 0.5%, ya que tanto concentraciones menores y mayores a esta provocan una disminución de la señal analítica (Figura 3.2).

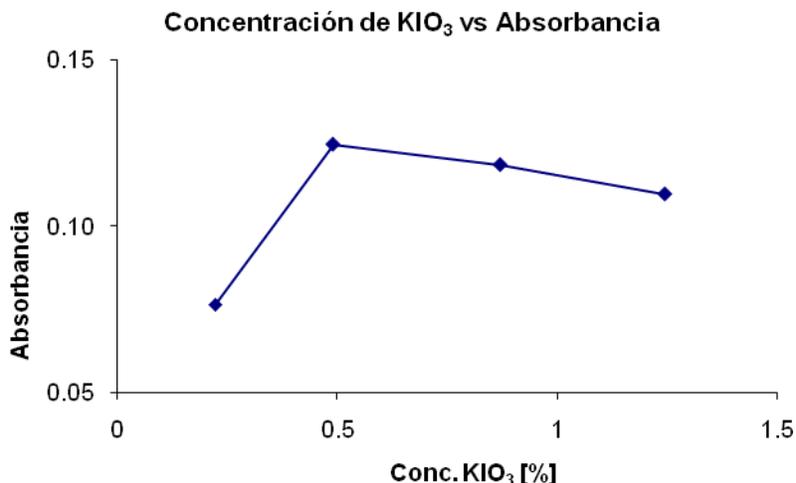


Figura 3.2. Señal obtenida al modificar la concentración de KIO₃ en la secuencia de inyección B.

A concentraciones menores a 0.5% hay deficiencia de oxidante por lo que hay una proporción menor de As(III) que se oxida a As(V) para formar el heteropoliácido. Cuando se inyectó el oxidante se observa en los reactores la formación de un compuesto color amarillo, la intensidad de este color aumentó al aumentar la concentración del KIO₃. De esta forma se puede explicar que la señal disminuyó a concentraciones mayores de KIO₃ debido a la existencia de una reacción secundaria en el sistema favorecida a altas concentraciones del oxidante.

3.2.2 OPTIMIZACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS E HIDRODINÁMICOS

Se realizaron varias pruebas para optimizar los parámetros que afectan la reacción de formación del compuesto azul. Se comenzó la optimización tomando en cuenta los estudios reportados anteriormente [7] para análisis similares. Entre los parámetros hidrodinámicos se encuentran las secuencias de inyección, el caudal y el tamaño y forma de los reactores. El único parámetro físico optimizado fue la temperatura.

3.2.2.1 Temperatura

Antes de realizar las pruebas para la determinación por SIA, se realizaron las reacciones en lote.

En este paso se observó que la reacción de fosfatos se lleva a cabo a temperatura ambiente, mientras que la reacción con arsenatos en las mismas condiciones no es apreciable, para obtener el compuesto azul se tuvo que calentar la mezcla.

Para determinar la temperatura a la que se debió de colocar el reactor de reacción para lograr la formación del heteropoliácido azul de Mo – As se realizaron inyecciones con la secuencia A y una configuración parecida a la II, pero modificando la temperatura del baño de agua. Se empleó un estándar de aproximadamente 7 mg/L de As(V).

Los resultados indican que a una temperatura menor de 40 grados no hay una reacción apreciable (Figura 3.3). No se pudo realizar el estudio a temperatura de 60 °C o mayor debido a que el sistema presentaba formación excesiva de burbujas.

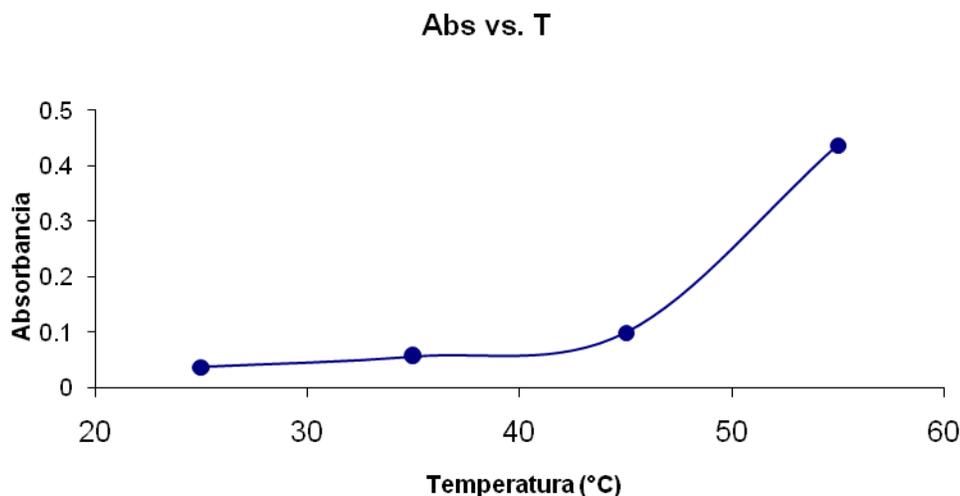


Figura 3.3.- Señal obtenida al inyectar un estándar de As(V) de 7 ppm variando la temperatura del reactor de reacción.

Observando el comportamiento de la reacción respecto a la temperatura se decidió realizar la determinación de arsenatos con el reactor de reacción sumergido en un baño de agua a 55 ° C.

3.2.2.2 Caudal

En el análisis por inyección secuencial el caudal que se maneja en cualquier tipo de reacción es cercano a 1 mL/min. Por lo anterior se comenzó el estudio de caudal a partir de este valor.

Los resultados muestran que el caudal óptimo es de 1.2 mL/min. Con un flujo volumétrico menor las señales disminuyen su altura y aumentan el ancho, lo cual se explica porque la mezcla de reactivos y muestra permanece más tiempo en el sistema lo que favorece que haya una mayor dispersión del compuesto formado. Con un caudal mayor, la señal disminuye su altura debido a que la mezcla no permanece en contacto el tiempo suficiente para que la reacción se lleve a cabo de forma más apreciable.

3.2.2.3 Secuencia de inyección para la determinación de fosfatos y arsenatos.

En esta determinación se emplean dos reactivos, el molibdato de amonio y ácido ascórbico, el primer paso de la reacción es la formación de un heteropoliácido amarillo y el segundo es la reducción de éste al heteropoliácido azul. Para promover el traslape del reactivo reductor con la zona del primer producto de reacción se evaluaron dos secuencias, donde la muestra o estándar se encuentra en medio de los dos reactivos.

1) Secuencia 1: Primero se aspiró la disolución de molibdato de amonio hacia el reactor de espera, en segundo lugar el estándar de fosfatos o arsenatos y por último la disolución de ácido ascórbico, para posteriormente enviar la mezcla hacia el reactor de reacción para que finalmente fuera detectado el producto en el espectrofotómetro.

2) Secuencia 2: En primer lugar la disolución de ácido ascórbico se aspiró hacia el HC, a continuación se aspiró la disolución estándar y en tercer lugar la disolución de molibdato de amonio.

Para realizar estas pruebas, se usó un reactor de espera de 200 cm y un reactor de reacción de 100 cm. Al inyectar la primera secuencia mencionada se

obtuvieron dos picos de aproximadamente la misma altura. En el caso de la segunda secuencia: ácido ascórbico → muestra → molibdato de amonio, se obtuvo un solo pico de absorbancia con una altura mayor a la de la señal obtenida con la primera secuencia.

Así, la secuencia de inyección seleccionada fue:

ácido ascórbico → muestra → molibdato de amonio

También se probaron las secuencias de inyección donde la muestra o estándar se inyectan al inicio o el final, pero se obtuvieron señales mucho más pequeñas.

3.2.2.3.1 Optimización de los volúmenes de reactivos y muestra

Los volúmenes inyectados dependen del caudal y el tiempo de aspiración de cada disolución. Como el manejo de la válvula de selección se realizó de forma manual, no fue posible disminuir los tiempos de aspiración a menos de 2 segundos, ni manejar tiempos de fracciones de segundo.

Empleando un caudal de 1.2 mL/min y la configuración I, se probaron tiempos de aspiración entre 2 y 7 segundos para determinar fosfatos. Los resultados muestran que el tiempo óptimo de aspiración es de 5 segundos para cada una de las disoluciones. Si el tiempo es menor, el compuesto azul formado se dispersa demasiado en los reactores por lo que la altura de la señal disminuye. Cuando los tiempos de aspiración son mayores a 5 segundos se observa un aumento pequeño en la altura del pico, pero también aumenta considerablemente el ancho de ésta, lo que hace que el tiempo de análisis aumente casi al triple cuando los tiempos de aspiración son de 7 segundos.

Considerando el caudal, el volumen de inyección se calculó de la siguiente forma:

$$V = Q_{vol} * t_{aspiración}$$

Donde Q_{vol} es el caudal o flujo volumétrico y t es el tiempo de aspiración. Sustituyendo los valores correspondientes en la ecuación anterior se tiene que el volumen utilizado de reactivos y muestra fue de 100 μL .

Los volúmenes finales y el orden de inyección empleados fueron:

1. Ácido ascórbico 100 μL
2. Muestra 100 μL
3. Molibdato de amonio 100 μL

3.2.2.4 Secuencia de inyección para la determinación de arsenitos

En este caso es necesario oxidar el As(III) para que reaccione con los reactivos de formación del heteropoliácido por lo que se adiciona una disolución de yodato de potasio a la secuencia anterior.

Aunque el número de combinaciones posibles aumenta al aumentar el número de reactivos, considerando que, la zona de oxidante debe ser inyectada de forma adyacente a la zona de la muestra, y basándose en la secuencia anterior las posibilidades se reducen a dos:

Secuencia a) ácido ascórbico \rightarrow muestra \rightarrow oxidante \rightarrow molibdato de amonio.

Secuencia b) ácido ascórbico \rightarrow oxidante \rightarrow muestra \rightarrow molibdato de amonio.

Los resultados obtenidos al inyectar estas dos secuencias utilizando la configuración **III** muestran una señal más alta con la secuencia a), que es la elegida para realizar los análisis de As(III) y que en las otras secciones se denomina como secuencia **B**.

Para complementar el estudio de la secuencia se realizaron pruebas con otras secuencias. Los mejores resultados de éstas dan señales analíticas de aproximadamente una tercera parte de la señal obtenida con la secuencia seleccionada. Estos resultados se obtuvieron con las secuencias:

- oxidante → muestra → molibdato → ácido ascórbico
- oxidante → muestra → ácido ascórbico → molibdato.

3.2.2.4.1 Volúmenes de reactivos y muestra

Para optimizar el volumen inyectado de reactivos se partió de los volúmenes optimizados en la secuencia anterior. Inicialmente se inyectaron 100 μL de cada disolución.

Al realizar diferentes pruebas se observó que al disminuir el volumen de la disolución de oxidante la señal analítica aumenta. Esto puede deberse a que al haber un mayor volumen que separa a los reactivos de formación de los heteropoliácidos coloridos, el traslape de las zonas de éstos no es la adecuada. Así, se inyectó el menor volumen posible del oxidante, esto es, aspirando la disolución por 2 segundos, lo que corresponde a un volumen de 40 μL .

Los volúmenes finales y el orden de inyección empleados son:

1. Ácido ascórbico 100 μL
2. Muestra o estándar 100 μL
3. Disolución de yodato de potasio 40 μL
4. Molibdato de amonio 100 μL

3.2.2.5 Reactor de espera

Este reactor tiene como objetivo mantener la mezcla antes de su propulsión hacia el reactor de reacción sin que llegue al contenedor del portador, por lo tanto solo debe cumplir con una característica, tener la capacidad de contener poco más del volumen total de las disoluciones aspiradas, esto para que aun considerando el fenómeno de dispersión, ningún reactivo llegue hasta el tubo de la bomba peristáltica y mucho menos al portador.

Así, se decidió que éste reactor fuera de 200 cm de tubo de teflón con un diámetro interno de 0.8 mm, se evitó usar tubo de un diámetro menor para evitar el aumento de presión en el sistema. Este reactor tiene una capacidad de 1.005 mL, volumen que excede significativamente el volumen total máximo inyectado que es de 0.34 mL.

Se decidió que la forma de éste reactor fuera enrollado, ya que facilita el uso de espacio y la reacción puede comenzar a desarrollarse.

3.2.2.6 Reactor de reacción

Para la optimización del tamaño del reactor se tomaron en cuenta varios aspectos. Primero, el diámetro interno. Estudios previos han demostrado que diámetros pequeños presentan un mejor solapamiento de las zonas inyectadas y por consecuencia una mayor sensibilidad [17, 29]. También se ha demostrado que los reactores que favorecen este solapamiento son los rectos, más que los enrollados y que los entrecruzados, en el orden que son mencionados. Además, la longitud de este resultó ser muy importante para la reacción estudiada.

Se eligió utilizar tubo de teflón de 0.5 mm de diámetro interno. Este diámetro, al ser relativamente pequeño favorece el solapamiento de las zonas sin aumentar excesivamente la presión del sistema, además de que no es tan pequeño como para presentar problemas graves de bloqueos.

Para optimizar la longitud del reactor se utilizaron las concentraciones de reactivos empleadas en la técnica de análisis por inyección en flujo y una concentración de arsenatos de aproximadamente 10 ppm a 55 °C.

Inicialmente se probó un reactor de longitud de 30 cm con el cual no se tuvo una señal diferente al blanco. Como segunda opción se probó un reactor de 100 cm con el que se obtuvo una señal apreciablemente mayor al blanco.

Al probar con reactores de mayor tamaño, la señal aumentó. Aunque cuando la longitud es mayor o igual a 400 cm, la señal disminuye y presenta ensanchamiento, lo que indica que la dispersión aumentó.

Se eligió un reactor de 300 cm, ya que es suficientemente grande para que las zonas se traslapen y la reacción ocurra en buena proporción. La geometría de éste es enrollada porque es más práctico el manejo de espacio con un reactor tan grande.

3.3 CURVAS DE CALIBRACIÓN

En este trabajo se obtuvieron dos tipos de curvas de calibración. Las primeras son las curvas principales, utilizadas para la determinación directa de las especies de interés. En la sección de cálculos se numeraron estas ecuaciones de la (I) a la (III). Las segundas son las curvas auxiliares, que se emplearon indirectamente para resolver mezclas binarias o ternarias de las especies estudiadas, se numeraron de la (IV) a la (VI).

Los valores de las pendientes y ordenadas al origen de cada ecuación se dan en la Tabla 3.1, también se presentan los valores de las desviaciones estándar de las pendientes y ordenadas, además de los valores de coeficiente de correlación lineal. Se observa que todas las curvas tienen un coeficiente de correlación mayor 0.998.

Ecuación	Especie	Condición	Pendiente	Ordenada al origen	R
I	Fosfatos	23±2 °C	$m_1 = 0.0330 \pm 0.0011$	$b_1 = -0.0022 \pm 0.0066$	0.9995
II	Arsenatos	55±2 °C	$m_2 = 0.0649 \pm 0.0023$	$b_2 = 0.0085 \pm 0.0127$	0.9995
III	Arsenitos	55±2 °C y oxidante	$m_3 = 0.0127 \pm 0.0006$	$b_3 = 0.0069 \pm 0.0036$	0.9990
IV	Fosfatos	55±2 °C	$m_4 = 0.0817 \pm 0.0037$	$b_4 = 0.0133 \pm 0.0204$	0.9992
V	Fosfatos	55±2 °C y oxidante	$m_5 = 0.0497 \pm 0.0034$	$b_5 = 0.0065 \pm 0.0209$	0.9988
VI	Arsenatos	55±2 °C y oxidante	$m_6 = 0.0255 \pm 0.0016$	$b_6 = 0.0287 \pm 0.0100$	0.9989

Tabla 3.1. Ecuaciones de las curvas de calibración empleadas en este proyecto incluyendo la desviación de las ordenadas y pendientes. Se presenta la especie con la que se obtuvo cada curva, las condiciones de temperatura y presencia de oxidante. También se incluye el valor del coeficiente de correlación lineal R.

Todas las señales obtenidas en este proyecto tienen forma de pico, en la figura 3.4 se representa un siagrama de la curva de calibración de fosfatos a 55 °C, como ejemplo de todos los siagramas obtenidos.

Se observa que al aumentar la concentración de fosfatos aumenta la altura del pico, también se puede observar que al aumentar la concentración, el ancho del pico aumenta en la parte inferior. Esto se debe a que al aumentar la concentración de fosfatos aumenta la formación del azul de Mo – P, como la zona de producto es más grande hay un mayor tiempo de permanencia en la tubería del sistema, lo que permite una mayor dispersión, tanto por difusión química como física.

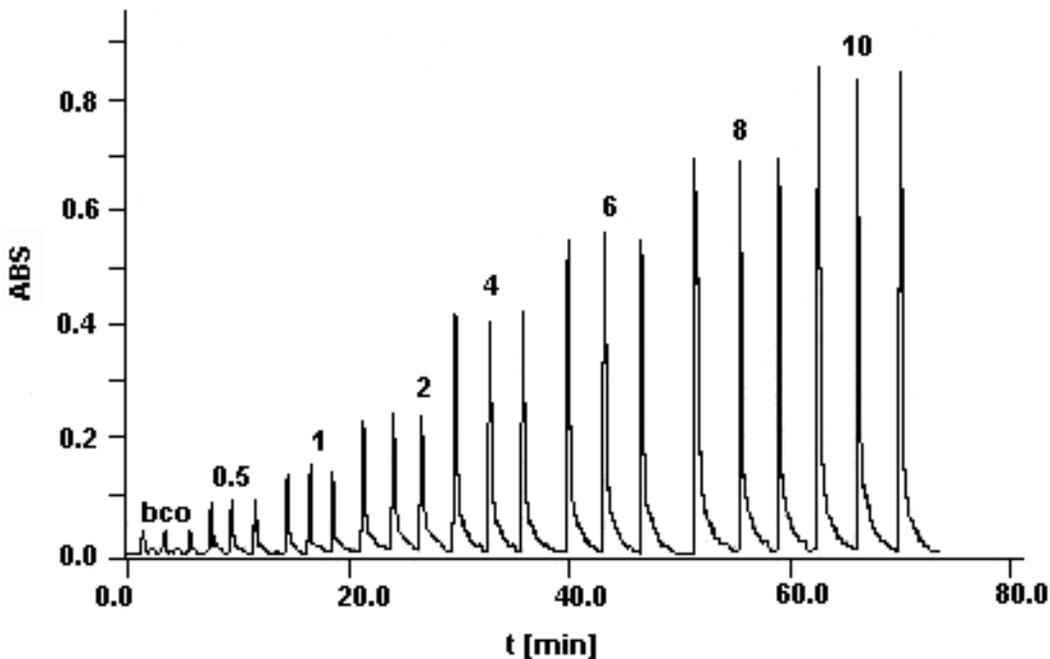


Figura 3.4. Siagrama de la curva de calibración de fosfatos a 55 °C.

Para determinar los intervalos lineales de todas las curvas de calibración se realizaron éstas desde una concentración de 0.5 mg/L hasta una concentración de 15 mg/L, después se calculó el coeficiente de correlación lineal, y se eligió el intervalo donde éste es mayor a 0.998, considerando que la linealidad sea buena tanto en la parte superior como en la inferior. Los resultados se muestran en la Tabla 3.2.

Ejemplo: en la figura 3.5 se observa la curva de calibración de fosfatos a temperatura ambiente, de ésta se obtuvo que el intervalo lineal solo es de 0.5 a 10 mg/L, porque a concentraciones de 12 mg/L o mayores, aunque la señal analítica sigue aumentando no se conserva la tendencia lineal.

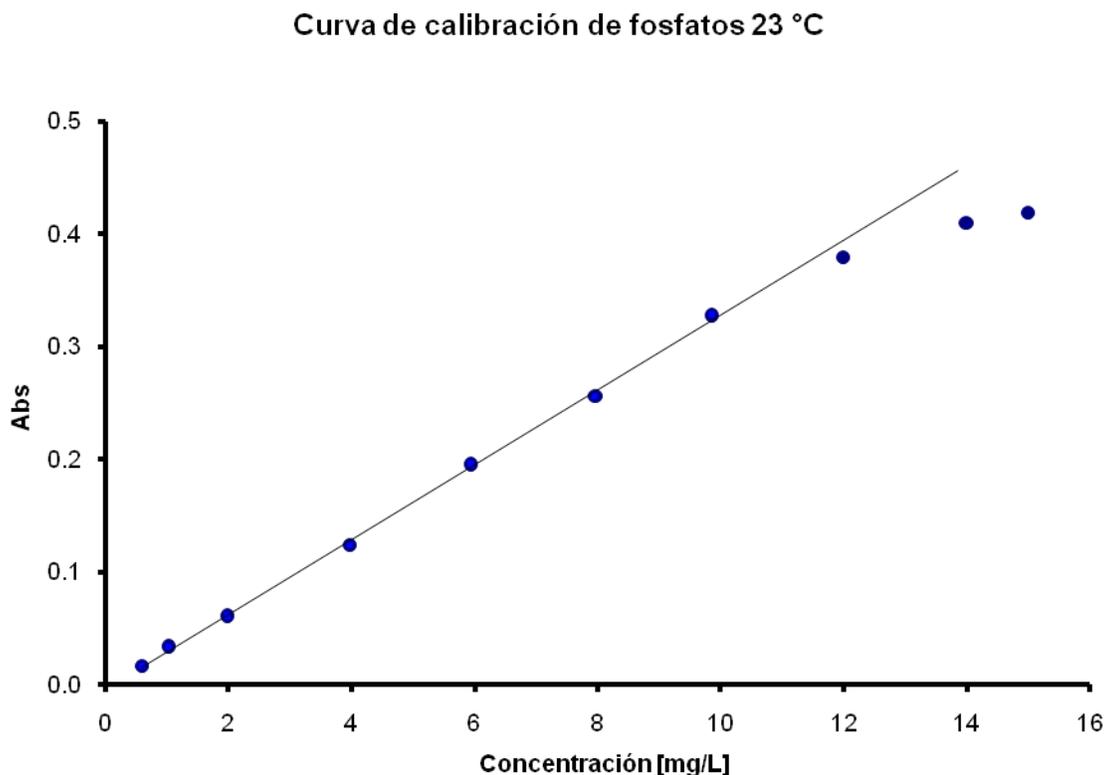


Figura 3.5. Curva de calibración de fosfatos obtenida en un intervalo de 0.5 a 15 mg/L.

Se obtuvieron los valores de límites de detección LD y límites de cuantificación LC para cada ecuación según el método planteado en la sección 2.3.4, los resultados se muestran en la Tabla 3.2. También se presentan los resultados del cálculo de la precisión por repetibilidad explicado en la sección 2.4.1. Todos los valores de precisión son menores del 7% por lo que se considera que el método si es preciso al determinar una de las especies el mismo día empleando cualquiera de las curvas de calibración estudiadas.

Ecuación	Intervalo lineal [mg/L]	LD [mg/L]	LC [mg/L]	% Precisión [DER]
I	0.5 – 10	0.37	1.24	1.12
II	0.5 – 10	0.36	1.20	1.87
III	0.6 – 10	0.52	1.74	6.84
IV	0.6 – 10	0.46	1.53	2.2
V	1 – 10	0.58	1.94	3.59
VI	1 – 10	0.55	1.82	4.87

Tabla 3.2. Valores de límites de detección LD y límites de cuantificación LC para cada curva de calibración. También se presentan los valores de precisión obtenida por repetibilidad.

3.4 ESTUDIO DE LA DETERMINACIÓN DE ESPECIES EN MEZCLAS DE LOS ANALITOS DE INTERÉS

Uno de los objetivos principales de este proyecto es diferenciar los iones estudiados cuando se encuentran mezclados.

Para verificar esta diferenciación se prepararon disoluciones que contenían dos de los iones en concentraciones conocidas. Se determinó la concentración de cada ion experimentalmente y se comparó con la concentración esperada. También se prepararon mezclas ternarias para realizar el mismo procedimiento. A continuación se presentan los resultados obtenidos al analizar los diferentes tipos de mezclas.

3.4.1 MEZCLAS BINARIAS DE FOSFATOS Y ARSENATOS

Para las mezclas de estos dos iones se realizó la determinación como se indica en la sección 2.2.5.4 y el cálculo de las concentraciones se realizó según la sección 2.3.1.

En la Tabla 3.3 se observan los resultados del análisis de varias mezclas en diferentes proporciones. En general se puede observar que el error de la cuantificación de fosfatos es pequeño en el intervalo de concentraciones utilizado que va desde 0.6 a 10 mg/L. Esto se debe a que en la determinación de este ión no interfiere la presencia de As(V) ya que a la temperatura que se realiza el análisis no existe formación del heteropoliácido de As(V).

Proporción		Concentración teórica [mg/L]		Resultados experimentales [mg/L]		% recuperación	
P(V)	As(V)	P(V)	As(V)	P(V)	As(V)	P(V)	As(V)
1	1	1.98	2.02	2.1	2.09	106.1	103.5
		2.97	3.02	3.04	3.05	102.4	101.0
1	3	0.594	1.51	0.619	1.54	104.2	102.0
1	5	0.990	5.04	0.947	5.05	95.7	100.2
0.67	1	0.990	1.51	0.986	1.45	99.6	96.0
1.3	1	1.98	1.51	1.96	1.61	99.0	106.6
2.7	1	3.96	1.51	4.03	1.61	101.8	106.6
4	1	5.94	1.51	5.87	1.64	98.8	108.6
5.3	1	7.92	1.51	7.72	1.75	97.5	115.9
6.7	1	9.90	1.51	10.2	1.05	103.0	69.5

Tabla 3.3. Determinación de fosfatos y arsenatos en mezclas de diferente proporción.

En la cuantificación de As(V) se observa que el error de la determinación aumenta cuando la proporción P:As(V) es mayor a 5:1. Este comportamiento se debe a que para determinar la concentración de arsenatos se realiza el análisis a 55 °C, temperatura a la que la señal obtenida corresponde a la suma de las contribuciones de los dos heteropoliácidos. Así hay una mayor interferencia al realizar el cálculo de la concentración de arsenatos debida a la formación del azul de Mo – P.

En una mezcla que contiene 10 mg/L de P(V) y 1.5 mg/L de As(V), la señal A_{55} es mayor a 0.9, observando las ecuaciones de las curvas de calibración empleadas en el cálculo de concentración de arsenatos, se tiene que este valor de absorbancia no entra en el intervalo lineal de ninguna de las curvas de calibración. Así el error aumenta ya que a este valor de absorbancia no es posible utilizar las ecuaciones planteadas y el error es superior al 15 %

3.4.2 MEZCLAS BINARIAS DE ARSENATOS Y ARSENITOS

Al igual que en el caso anterior se hicieron mezclas de estos iones a partir de disoluciones madre de concentración conocida. La determinación de los iones se realizó de la forma que se indica en la sección 2.2.5.5.

El cálculo de la concentración de arsenatos se realiza como se indica en la sección 2.3.2 y el cálculo de la concentración de arsenitos se realizó como se indica en el caso 1 de esa misma sección.

En la Tabla 3.4 se observan los resultados de la determinación de arsenatos y arsenitos en mezclas binarias. La determinación de arsenatos presenta recuperaciones cercanas al 100% en cualquier proporción, lo que indica que el método propuesto es adecuado.

Proporción		Concentración teórica [mg/L]		Resultados experimentales [mg/L]		% recuperación	
As(V)	As(III)	As(V)	As(III)	As(V)	As(III)	As(V)	As(III)
1	1	4.03	4.03	4.08	2.59	101.2	64.3
1	1.25	4.03	5.04	3.98	3.65	98.8	72.4
1	2.5	2.02	5.04	2.01	3.15	99.5	62.5
1	5	1.008	5.04	0.97	4.82	96.2	95.6
1	8	1.008	8.064	1.05	7.75	104.2	96.1

Tabla 3.4. Resultados obtenidos al realizar la determinación de arsenatos y arsenitos en mezclas binarias de diferentes proporciones.

La determinación de arsenitos solo es posible en los casos en que la proporción de As(III) es igual o mayor a 5 con respecto a la de As(V), se observa que las proporciones menores a esta presentan recuperaciones menores al 75% de donde se concluye que la determinación de arsenitos no es satisfactoria.

Lo anterior se debe a que la formación del complejo azul a partir del As(V) existente en la mezcla es mucho mayor a la formación a partir de la oxidación del As(III); esto se comprueba comparando los valores de las pendientes de las curvas de calibración de arsenatos y arsenitos en presencia de oxidante (ecuaciones III y VI)

Para saber si es posible cuantificar As(III) en mezclas binarias de proporciones menores a 5As(III):1As(V) se realizaron curvas de adiciones estándar como se indica en la sección 2.2.5.5 y el cálculo se realizó de la forma señalada en la sección 2.3.2 caso 2.

Los resultados se observan en la Tabla 3.5. Éstos indican que es posible la determinación de concentraciones de arsenitos en proporciones menores a 5:1 con respecto a la concentración de As(V).

La única mezcla que no fue posible determinar satisfactoriamente fue la que contenía 1mg/L de As(V) y 2mg/L de As(III), sí se logró calcular la concentración de As(V), pero al realizar el cálculo de la concentración de As(III) hay un error mayor al 20%. Esto se puede deber a que la concentración es demasiado pequeña para ser determinada, ya que el aumento en la ordenada al origen de la curva de adiciones estándar de As(V) es muy pequeño respecto a la curva de calibración original.

Proporción en la mezcla original		Pendiente de la curva de adiciones estándar	Concentración teórica [mg/L]		Resultados experimentales [mg/L]		% recuperación	
As(V)	As(III)		As(V)	As(III)	As(V)	As(III)	As(V)	As(III)
1	2	0.079	1.008	2.001	0.99	1.56	98.2	78.0
		0.125	2.02	4.002	1.98	3.87	98.0	96.7
1	3	0.090	1.008	3.002	0.97	3.02	96.2	100.6
1	4	0.102	1.008	4.002	1.05	4.11	104.2	102.7
1	5	0.113	1.008	5.002	1.01	5.24	100.2	104.8

Tabla 3.5. Resultados de la determinación de la concentración de arsenatos y arsenitos. La determinación de la concentración de arsenitos se realizó empleando una curva de adiciones de un estándar de As(V). La pendiente reportada contiene la información para determinar la concentración de As(III) además de la concentración de As(V) en la mezcla original. La dilución final de las mezclas originales para hacer las disoluciones de las curvas fue de 1.11.

Se concluye que es posible determinar la concentración de arsenitos en mezclas de proporciones menores de 5 As(III): 1As(V) utilizando el método de adiciones estándar. Sin olvidar que la concentración de As(III) debe ser mayor a 2 mg/L.

3.4.3 MEZCLAS TERNARIAS

A partir de las disoluciones madre correspondientes se prepararon las disoluciones que contenían los tres iones. La determinación se realizó como se indica en la sección 2.2.5.6 y el cálculo de las concentraciones como se indica en la sección 2.3.3.

Proporción P(V):As(V):As(III)	Concentración teórica [mg/L]			Resultados experimentales [mg/L]			% recuperación		
	P(V)	As(V)	As(III)	P(V)	As(V)	As(III)	P(V)	As(V)	As(III)
1:1:1.5	1.98	2.02	3.002	2.1	2.09	2.74	106.1	103.5	91.3
1:1:5	0.99	1.01	5.002	1.06	1.15	4.98	107.1	113.9	99.6
2:2:5	1.98	2.02	5.002	1.93	2.19	4.82	97.5	108.4	96.4

Tabla 3.6. Resultados de la determinación de fosfatos, arsenatos y arsenitos en mezclas ternarias.

Para seleccionar las concentraciones empleadas en esta determinación, se tuvo que considerar los resultados de la resolución de mezclas binarias. Se optó por hacer mezclas con una proporción igual de P:As(V) la cual a su vez fue menor que la de As(III). Esto considerando que en mezclas binarias de arsenatos y arsenitos no es posible determinar eficientemente arsenitos cuando la proporción de estos es menor a la de arsenatos. Se eligió trabajar con concentraciones pequeñas de fosfatos y arsenatos para evitar señales que salieran del intervalo lineal de las curvas de calibración.

Los resultados se muestran en la Tabla 3.6, se observa que en general hay una buena recuperación en las cuantificaciones, con valores desde 91.3 a 113.9, por lo que se concluye que la metodología propuesta es aceptable. Se observa que es posible determinar la concentración de arsenitos aun en proporciones menores de 5:1 con respecto a las concentraciones de As(V) y fosfatos sin necesidad de realizar curvas de adiciones estándar.

3.5 EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN DEL MÉTODO

Para evaluar la metodología se realizó la determinación de reproducibilidad y repetibilidad llevando a cabo una prueba de siete días de la forma indicada en la sección 2.4.2. Se hizo este análisis para las curvas de calibración de fosfatos a temperatura ambiente (I), arsenatos a 55 °C (II) y fosfatos a 55 °C (IV).

Las disoluciones fueron preparadas cada día a partir de los estándares certificados que se mencionan en la sección 2.4.

Se seleccionaron dos concentraciones para cada curva, una de 2 mg/L para verificar la reproducibilidad y repetibilidad en la parte baja de cada curva, y otra de 6 mg/L para analizar la parte media. Los resultados se muestran en la tabla 3.7 y se reportaron como desviación estándar relativa. Estos resultados indican que el método propuesto para la determinación de arsenatos y fosfatos con estas curvas de calibración es preciso, ya que los valores de repetibilidad y reproducibilidad son menores al 5% en todos los casos.

Curva	Especie	Concentración [mg/L]	Precisión	
			Repetibilidad % (DER)	Reproducibilidad % (DER)
I	P(V)	2	2.22	4.43
		6	3.32	3.86
II	As(V)	2	2.76	3.52
		6	2.00	1.71
IV	P(V)	2	3.90	4.76
		6	0.69	1.41

Tabla 3.7. Resultados de la evaluación de la precisión de las curvas de calibración I, II y IV empleando la prueba de los 7 días.

En general se puede observar que la reproducibilidad tiene un valor mayor que la repetibilidad, esto se debe a que en la primera se están considerando todas las variaciones que pueden existir: tanto las que se presentan al trabajar en un día como las que se generan al trabajar en días diferentes, esta variaciones comprenden desde los materiales usados o la diferencia en la preparación de

disoluciones, hasta las condiciones ambientales en las que se trabaja o las variaciones en la corriente que alimenta el equipo empleado para la detección.

En el caso de la repetibilidad, los resultados obtenidos son los esperados. En general es común que el valor de ésta sea menor que la reproducibilidad ya que sólo considera las variaciones que se generan en un mismo día de trabajo.

También se realizó este análisis con mezclas binarias de P(V) y As(V), se eligió emplear las proporciones 3:1 y 1:3, las concentraciones en estas mezclas fueron 4.5 mg/L de P(V) y 1.5 mg/L de As(V) para la primera y para la segunda 1.5 mg/L de P(V) y 4.5 mg/L de As(V). Los resultados se muestran en la tabla 3.8. Las determinaciones se realizaron de la forma indicada en la sección 2.2.5.4.

Mezcla	Especie	Concentración [mg/L]	Precisión	
			Repetibilidad % (DER)	Reproducibilidad % (DER)
1P: 3AsV	P(V)	1.5	1.87	5.04
	As(V)	4.5	1.64	2.44
3P: 1AsV	P(V)	4.5	1.34	1.68
	As(V)	1.5	4.03	5.30

Tabla 3.8. Precisión al determinar fosfatos y arsenatos en mezclas binarias empleando el método propuesto.

Se observa que las variaciones más grandes se tienen al determinar la concentración del analito que se encuentra en proporción menor, esto se debe a que las concentraciones seleccionadas se encuentran en la parte baja de las curvas de calibración. A pesar de esto se considera que en general los resultados son buenos ya que la reproducibilidad en todos los casos es menor a 5.5% (DER) que es un valor excelente considerando que además de las variaciones comunes al realizar una cuantificación experimentalmente, se tiene la variación provocada al calcular la concentración de arsenatos de forma indirecta empleando los cálculos propuestos en la sección 2.3.1.

3.6 EXACTITUD

Empleando los resultados obtenidos en el experimento de los siete días, se determinó la exactitud de la cuantificación. Esto se hizo considerando como resultado experimental el promedio de las determinaciones realizadas en los siete días. A continuación se muestran los resultados obtenidos en la tablas 3.9 y 3.10.

Especie	Concentración teórica [mg/L]	Resultados experimentales [mg/L]	Exactitud [%]
P(V)	2.0001	2.03	101.4
	6.0001	6.12	102.0
As(V)	2.0001	2.12	106.2
	6.0001	6.08	101.35

Tabla 3.9. Evaluación de exactitud. Los resultados experimentales son los promedios de todas las concentraciones determinadas en la prueba de siete días.

Mezcla	Especie	Concentración teórica [mg/L]	Resultados experimentales [mg/L]	Exactitud [%]
1P: 3AsV	P(V)	1.5	1.57	104.6
	As(V)	4.5	4.57	101.5
3P: 1AsV	P(V)	4.5	4.52	100.4
	As(V)	1.5	1.53	102.07

Tabla 3.10. Evaluación de exactitud en mezclas binarias de fosfatos y arsenatos, los resultados experimentales son el promedio de las cuantificaciones realizadas en la prueba de siete días.

Los resultados obtenidos son muy buenos ya que en todas las determinaciones analizadas, la exactitud se encuentra alrededor de 100.4 y 106.2 %, valores que demuestran que la técnica es confiable, ya que las mediciones realizadas aún en diferentes días, dan resultados cercanos al valor real.

3.7 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE MUESTRAS

Con el fin de comprobar la aplicabilidad del método en muestras reales se realizó la determinación de arsenatos y fosfatos en muestras de jales mineros y un mineral llamado arsenopirita.

3.7.1 Determinación de fosfatos y arsenatos solubles en jales mineros

Se realizó el análisis a 5 muestras de jales mineros de tres zonas del país. A cada muestra se le realizó la extracción de compuestos solubles (sección 2.5.1.1) por duplicado, también se realizó una adición de 1 mg/L de estándar certificado de As(V) en un extracto de cada muestra para verificar la interferencia de la matriz de las muestras en la detección.

De la zona norte del país solo se analizó una muestra etiquetada como N1. De la zona centro se analizaron dos muestras, C1 y C2. De la zona sur también se analizaron dos muestras, S1 y S2. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 3.11.

Los resultados obtenidos indican la presencia de As(V) en las muestras de la zona sur del país.

La proporción peso/ volumen utilizado para realizar la extracción, es igual que la proporción de sólido/extractante que se utiliza para determinar metales en residuos posiblemente peligrosos para el ambiente, según la NOM-053-SEMARNAT-1993. Esta norma indica que si el extracto contiene 5mg/L (dato establecido en la NOM-052-SEMARNAT-1994) de arsénico o más, el material analizado es clasificado como “residuo peligroso por su toxicidad al ambiente”. Considerando estas normas, el residuo minero S2 sería considerado como residuo peligroso.

La recuperación de la adición del estándar certificado es muy buena en la mayoría de las muestras, solo la muestra N1 presenta una recuperación menor a la esperada, esto puede deberse a la naturaleza de la matriz, aún así la recuperación cercana al 80% se considera aceptable.

La recuperación de la adición estándar de As(V) indica que, además de que el método es eficiente, la medición de arsenatos es confiable así, se descarta la posibilidad de que la especie determinada sea otra o que la matriz de la muestra interfiera con la detección.

Muestra	Duplicado	Concentración [mg/L]		Concentración [mg/Kg]		Recuperación de estándar certificado [%]
		P(V)	As(V)	P(V)	As(V)	
N1	A	0.58	N. D.	11.6	N. D.	78.6
	B	0.46	N. D.	9.2	N. D.	
C1	A	1.02	N. D.	20.4	N. D.	100.6
	B	0.96	N. D.	19.2	N. D.	
C2	A	0.71	N. D.	14.2	N. D.	100.0
	B	0.59	N. D.	11.8	N. D.	
S1	A	0.97	2.29	19.4	45.8	105.9
	B	0.96	2.09	19.2	41.8	
S2	A	1.91	7.46	38.2	149.2	99.1
	B	1.99	6.98	39.8	139.6	

Tabla 3.11. Resultados experimentales de la determinación de fosfatos y arsenatos en muestras de jales mineros. N.D. significa no detectado, la concentración del analito es menor a la del límite de detección de las curvas de calibración. La concentración del extracto se muestra en mg/L, la concentración en el sólido se da en mg/Kg.

3.7.2 Determinación de As(V) en arsenopirita

La arsenopirita es un mineral de fórmula FeAsS , el porcentaje en peso de arsénico en la arsenopirita pura es de 46.01%.

La muestra analizada estaba pulverizada, presenta un color gris oscuro, después de la digestión ácida (ver sección 1.4.2) quedaron residuos color blanco, considerando que el tratamiento fue muy agresivo, se cree que estos residuos eran sílice. Para descartar la interferencia debida a fosfatos, se analizó el extracto con la secuencia A y la configuración I y se obtuvo una señal igual a la del blanco en estas condiciones.

Los resultados del análisis realizado según la sección mencionada anteriormente indicó que la concentración de As(V) en la disolución final de extracto es de 2.85 mg/L, considerando la cantidad inicial de muestra (0.1 g) y la dilución, se tiene que el porcentaje en peso de As en la arsenopirita es de 28.5 %.

Para verificar que la matriz de la muestra no interfiriera en la medición de arsenatos, se realizó una adición de 1 mg/L del estándar certificado de arsenatos en la disolución final del extracto, la recuperación de la adición fue del 104.98 % por lo que se concluyó que la medición de As(V) en extractos de arsenopirita es eficiente.

CONCLUSIONES

- Se logró optimizar un método automático de análisis por inyección secuencial (SIA) para diferenciar y cuantificar arsenatos, arsenitos y fosfatos.
- Las diferentes metodologías son aplicables en un intervalo de concentraciones de 0.5 a 10 mg/L para cada uno de los analitos en disoluciones simples, o como la suma de éstos en mezclas.
- La determinación de fosfatos y arsenatos con las metodologías propuestas son eficientes ya que se obtuvieron valores de precisión entre 4.7 y 0.7 % para determinaciones en disoluciones simples; y valores entre 1.3 y 5.3% en mezclas binarias. Y la exactitud tanto en disoluciones simples como en mezclas se encuentra entre 100.4 y 106.2 %.
- Fue posible la cuantificación de arsenitos en disoluciones sin arsenatos y fosfatos con una precisión del 6%.
- La determinación simultánea de arsenatos y arsenitos se pudo realizar de forma sencilla cuando la concentración de arsenitos es mayor de 5 veces la concentración de arsenatos con una exactitud superior al 95%.
- La cuantificación de arsenitos en mezclas binarias donde la concentración de éstos es de 2-5 veces la de arsenatos es posible realizando curvas de adición estándar de arsenatos con una exactitud mayor al 96% cuando la concentración de arsenitos es mayor a 2mg/L.
- La técnica es aplicable al análisis de muestras complejas, como jales y minerales.

PERSPECTIVAS

- Este proyecto se puede ampliar realizando un estudio para eliminar las interferencias debidas a los silicatos, con esto se puede aplicar la metodología propuesta a muestras que contienen estos iones.
- Desarrollando una metodología para preconcentrar los analitos de interés se puede aplicar esta metodología en gran variedad de muestras.
- El uso de columnas de intercambio iónico puede ayudar a preconcentrar el As(III) para realizar su cuantificación en mezclas con As(V) sin necesidad de realizar curvas de adición estándar.
- Utilizando un software para controlar los equipos se puede reducir el tiempo de análisis hasta aproximadamente 1 min 30 s. por determinación.
- Se podría lograr la cuantificación simultánea de fosfatos, arsenatos, arsenitos y silicatos.

REFERENCIAS

- [1]. H.G. Sieler, H. Sigel, Handbook of Toxicity of Inorganic Compounds. Marcel Dekker Inc. USA, 1988, pp 79.
- [2]. D.Q. Hung, O. Nekrassova, R.G. Compton, Talanta 64 (2004) 269.
- [3]. B.K. Mandal, K.T. Suzuki, Talanta 58 (2002) 201
- [4]. Organización Mundial de la Salud (1995). Guías para la calidad del agua potable. Vol 1, 2ª. edición. Ginebra pp 37 – 43.
- [5]. Landeros Albores, Marta Patricia. Estudio de arsénico y selenio en aguas subterráneas. UNAM. Mex. 2001 pp 9.
- [6]. Pope, M. T. Heteropoly and Isopoly Oxometalates. Springer-Verlag, Berlín 1983.
- [7]. P. Linares, M.D. Luque de Castro, M. Valcarcel, Anal. Chem. 58 (1986) 120.
- [8]. D. G. Themelis, A. Economou, A. Tsiomlektsis. Analytical Biochemistry (2004)
- [9]. J. Z. Zhang, C. J. Fischer, P. B. Ortner, Talanta 49 (1999) 293.
- [10]. C. X. Gallardo, J.C. Masini, Anal. Chim. Acta 417 (2000) 191.
- [11]. D. Skoog, J. Holler, T. Nieman. Principios de análisis instrumental. 5a. edición, (2001).
- [12]. J. Ruzicka, G.D.Marshall. Anal. Chim. Acta, 237 (1990) 329-343.
- [13]. C. E. Lenehan, N. W. Barnett, S. W. Lewis, Analyst, 127 (2002) 997.
- [14]. C. M. Schultz, J. Ruzicka, Analyst, 127 (2002) 1293.
- [15]. M.Valcarce, I Análisis por inyección en flujo. 1984, capítulo 2 pp.47.
- [16]. W. Holak, Anal Chem. 41 (1969) 1712.

- [17]. N. V. Semenova, F. M. Bauzá, R. Corteza, V. Cerdá. *Anal. Chim. Acta* (2000) 169 – 175.
- [18]. S. Karthiheyam, S. Hirata, *Anal. Lett.* 36 (2003) 2355.
- [19]. D. Q. Hung, O. Nekrassova, R. G. Compton, *Talanta* 64 (2004) 269.
- [20]. B. Welz, M. Sukmanova, *Analyst* 118 (1993) 1417
- [21]. B. Welz, M. Sukmanova, *Analyst* 118 (1993) 1425
- [22]. American Society for Testing Materials (ASTM) D 3919 – 99. Standard Practice for: Measuring trace Elements in mater by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry.
- [23]. Norma mexicana NMX-AA-051-1981 Análisis de agua determinación de metales, método espectrofotométrico de absorción atómica.
- [24]. P. Thomas, K. Sniatecki. *J. Anal. At Spectrom.* 10 (1995) 615
- [25]. J. L. Gómez-Ariza, D. Sánchez-Rodas, I. Giradles, E. Morales, *Talanta* 51 (2000) 257.
- [26]. American Society for Testing Materials (ASTM) D 2972-03. Standard Test Methods for Arsenic in Water.
- [27]. F. Pérez Moreno, F. Prieto García, E. Barrado Esteban, A. Rojas Hernández, M. A. Méndez Marzo, *Revista de la Sociedad Química de México*, 46 2(2002) 175.
- [28]. J. M. Estela, V. Cerdá, *Talanta* 66 (2005) 307.
- [29]. G. D. Marshall, J. F. Staden. *Process Control and Quality*, 3 (1992) 251–261.
- [30]. T. Gübeli, G. D. Christian, J. Ruzicka. *Anal. Chem.* 63 (1991) 2407–2413.
- [31]. J. N. Miller, J. C. Miller. *Estadística y quimiometría para química analítica*. 4ª edición (2002).

[32]. S. Xiao-Quan, N. Zhe-Ming, Z. Li. *Analytica Chimica Acta*, 151 (1983) 179.

[33]. E. O. Reyes-Salas, M. A. Dosal-Gómez, M. H. Barcelo-Quintanal, J. A. Manzanilla-Cano, *Anal. Lett.* 35 (2002) 123.

[34]. P. Sharma, *Anal Sci.* 11(1993)261

[35]. D. Johnson, *Environmental Science & Technology* 5 (1971) 411