



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores “Zaragoza”

**“Uso de herramientas estadísticas para el análisis de un método analítico
utilizado en la determinación de cromo hexavalente en agua subterránea
mediante CLAR de intercambio iónico usando un detector UV”**

T E S I S E X P E R I M E N T A L

Para Obtener el título de:

Químico Farmacéutico Biólogo

P R E S E N T A:

AMIR AZAHEL RIVEROS RAMÍREZ

Director: Dra. María Aurora Armienta Hernández

Asesor: Q.F.B. Víctor Hugo Becerra López

México D.F. octubre de 2012



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.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Instituto de Ciencia y Tecnología del D.F y al Instituto de Geofísica de la UNAM por su apoyo en desarrollo del presente trabajo. Principalmente a todos los integrantes del departamento de Química Analítica, de quienes aprendí y conocí durante mi estancia. Sin embargo no puedo dejar pasar esta oportunidad sin expresar mi más profundo reconocimiento a la Dra. María Aurora y al Q.F.B. Víctor Hugo que durante todo este tiempo me han ayudado en toda la forma posible con sus grandes conocimientos y excelente juicio. A mis compañeros de trabajo Omar Neri Hernández y Antonio Sosa Islas por compartir sus conocimientos e ideas, por apoyarme con sus opiniones y consejos. También agradezco a mis padres por brindarme el apoyo moral para terminar este ciclo de mi vida, y a todas las personas que me motivaron a seguir en los momentos más difíciles.

En la sombra la lluvia se diluye
y en el silencio el son de la campana,
nocturno el río de las horas fluye.

Desde su manantial, que es el mañana
eterno, y en sus negras aguas huye
aquella mi ilusión harto temprana.

Miguel de Unamuno

Tabla de contenido

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
MARCO TEÓRICO.....	4
1. Generalidades del cromo.....	4
1.1. Descubrimiento del cromo.....	4
1.2. Propiedades del cromo.....	6
1.3. El cromo en la naturaleza.....	7
1.4. Los estados de oxidación 3 ⁺ y 6 ⁺	8
1.5. Uso del cromo.....	9
2. Impacto de cromo hexavalente (Cr VI) a la salud humana.....	10
2.1. Toxicología.....	10
2.2. Ingestión.....	10
2.3. Contacto dérmico.....	11
2.4. Efectos del cáncer.....	12
3. Citotoxicidad y genotoxicidad.....	12
3.1. Efectos del cromo.....	13
3.1.1. Inhalación.....	13
3.1.2. Sistémico.....	13
3.1.3. Inmunitario.....	13
4. Cromatografía Líquida de Alta Resolución CLAR.....	14
4.1. Factores que afectan la CLAR.....	14
4.1.1. Efecto de la temperatura.....	15
4.1.2. Efecto del pH.....	15
4.2. Cromatografía iónica.....	15
4.3. Teoría del intercambio iónico.....	17
4.4. Intercambiadores iónicos.....	17
4.4.1. Intercambiadores catiónicos.....	17
4.5. Resinas poliméricas.....	18
4.5.1. Sustratos y enlace cruzado.....	18
4.5.2. Resinas microporosas.....	18
4.5.3. Resinas macroporosas.....	19
4.5.4. Resinas sulfonadas.....	20
4.6. Cromatografía iónica electrónicamente suprimida.....	20
4.7. Cromatografía iónica de una sola columna.....	22
4.8. Detector UV-Vis.....	21
4.9. Introducción de la muestra.....	22
5. Generalidades de las aguas subterráneas.....	22
5.1. Ciclo hidrológico.....	22
5.2. Características de los acuíferos.....	23
5.3. Elementos y compuestos del agua subterránea.....	24
5.4. Contaminación del agua subterránea.....	25
5.5. Regulación del Cr VI en agua subterránea.....	25
5.6. Cromo en los sistemas de agua.....	26
6. Especiación del cromo.....	28
7. Análisis estadísticos de métodos analíticos.....	28
7.1. Parámetros estadísticos.....	29
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	30

OBJETIVOS.....	31
HIPÓTESIS.....	32
DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	33
POBLACIÓN.....	33
CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	33
MATERIAL Y MÉTODO.....	34
RESULTADOS.....	38
DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	46
CONCLUSIONES.....	48
REFERENCIAS.....	49
APÉNDICE 1.....	51
APÉNDICE 2.....	54

Resumen

El objetivo principal de esta investigación es establecer un método analítico que permita la cuantificación de la concentración máxima permisible de cromo hexavalente en agua subterránea con apego a las normas vigentes (NOM-127-SSA-1994); para lo cual se utilizaron matrices de agua de diversas delegaciones del D.F, adicionadas con concentraciones conocidas de una solución de referencia de dicromato de potasio que se encuentra en los límites descritos con anterioridad, las cuales fueron analizadas mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR), empleando una fase móvil constituida de CBG y Acetonitrilo, con un flujo de 1 mL min^{-1} , a una temperatura de 40°C y una columna IC Pack Anion HR. El análisis de resultados mediante el programa estadístico (StatGraphics® Plus Versión 5.1) mostró que el método es lineal al obtener un R-cuadrada mayor que 0.98 y un índice de correlación de 0.9999, se realizó construyendo una curva con tres puntos cada uno por triplicado con un coeficiente de variación no mayor que 1.5%. En el porcentaje recuperado se agregó una concentración correspondiente al 100% por quintuplicado obteniendo un coeficiente de variación no mayor que 2% y un promedio del 100%. Para la precisión intermedia se utilizaron dos analistas que trabajaron bajo las mismas condiciones, pero en diferentes días, existiendo precisión entre los días pero no para los analistas. En conclusión, se establecieron las condiciones de trabajo para la correcta cuantificación de cromo hexavalente mediante CLAR, el método es lineal y preciso para la cuantificación de cromo hexavalente en las diversas matrices utilizadas.

Introducción

El cromo hexavalente se utiliza en muchos procesos fundamentales para el desarrollo humano, tales como: la elaboración de metales más resistentes a la oxidación, los pigmentos, las pinturas con efecto bacteriostático o bactericida, entre otros usos, sin tomar en cuenta las consecuencias que puede traer la mala disposición de los residuos en el medio ambiente y en el ser humano.

El agua es uno de los componentes esenciales de la vida, es por esto que tiene una gran importancia para la población tener acceso a agua de calidad. El agua contaminada ha sido uno de los elementos principales para la propagación de enfermedades, también es la forma principal de exposición para infecciones patógenas y contaminantes orgánicos e inorgánicos. Las aguas subterráneas son la principal fuente de agua potable para las ciudades, los factores antropogénicos han sido los principales causantes de la contaminación de este tipo de recursos sin embargo durante las últimas décadas el aumento de la población, así como la globalización no sólo han aumentado la cantidad de contaminantes sino también ha introducido nuevos contaminantes al agua (desperdicios farmacéuticos, hormonas, perturbadores endocrinos, virus, toxinas y hasta contaminantes radiactivos). Por eso la importancia de que las aguas residuales y los recursos naturales como lo son las aguas subterráneas estén reguladas por instituciones como la EPA y organismos gubernamentales de cada nación. En México existe la Norma Oficial Mexicana **NOM-127-SSA-1994 (modificación)**, “Salud Ambiental. Agua para su uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización”, la cual indica en su sección 4.3.1 el límite de cromo total permitido. Sin embargo, cabe señalar que la cantidad de cromo a la que se refiere esta norma, no aplica a las especies Cr (VI) ni Cr (III) de forma individual, ni a la diferenciación de cada una de ellas en el análisis. El cromo hexavalente en sus diversos componentes ha sido clasificado por vía de inhalación como un agente cancerígeno según la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC)¹, aunque por la vía oral no ha sido clasificado como tal, existen algunos estudios^{2,6:8:10} que establecen la posibilidad de que el consumo a largo plazo pueda provocar algún tipo de daño al material genético. En el presente trabajo se muestra el desarrollo de un método analítico mediante Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución Iónica, utilizando una columna IC Pack Anion HR, junto con un detector UV/Vis., así como una fase móvil cuya composición fue Concentrado Borato-Gluconato con Acetonitrilo, las condiciones de trabajo fueron un flujo de 1 mL/min, una temperatura de 40°C y una longitud de

onda de 365 nm que permite la cuantificación del Cr (VI). Se realizó una curva de calibración agregando una concentración de dicromato de potasio en un intervalo de concentración de 0.02 a 1.0 ppm, cuyo comportamiento fue lineal, con coeficiente de correlación mayor que 0.98, de manera simultánea se evaluó el coeficiente de variación, el cual fue menor que 1.5%. Se realizó la evaluación del sistema y del método. Ésta se llevó a cabo agregando una concentración conocida de dicromato de potasio a 10 matrices de agua subterránea, donde se evaluaron de forma estadística los parámetros de linealidad, exactitud y precisión, así como la determinación del límite de cuantificación y el porcentaje de cantidad recuperada de acuerdo a la cantidad añadida. La precisión intermedia del método fue evaluada utilizando dos analistas con las mismas condiciones, pero en diferentes días. Los resultados fueron analizados de manera estadística con un ANOVA de dos factores. El método fue lineal exacto y preciso, de esta manera el método permite la determinación del cromo hexavalente en agua subterránea, de forma que se pueda llevar a cabo la vigilancia continua de las diferentes fuentes de agua potable, haciéndola segura y que esté de acuerdo con las normas vigentes; de la misma forma puede dar paso a estudios de vigilancia de los niveles de cromo a personas que trabajan de cerca con la cromita, así como a la industria farmacéutica y a las demás industrias involucradas en el uso de este material, para el control del cromo en agua de desechos en general.

MARCO TEÓRICO

1. Generalidades del cromo

1.1. Descubrimiento del cromo

El descubrimiento del cromo tiene más de 200 años de historia, fue en 1752 en Beresof una mina de oro, cobre, plata y plomo en Siberia. En 1762, el científico alemán Johann Gottlob Lehman analizó muestras tomadas de las laderas de las montañas del Ural de un mineral rojo anaranjado al que llamó “Plomo siberiano rojo”. El análisis de la muestra mostró que tenía plomo con partículas de selenio y hierro. Desde entonces este mineral fue conocido como crocita o crocoíta, un cromato de plomo (PbCrO_4). Lehman también observó que el mineral producía un color verde esmeralda cuando se disolvía en ácido clorhídrico (HCl). En 1770, Peter Simon Pallas, también visitó las minas de Beresof, y notó que el mineral rojo de plomo no había sido encontrado en otra mina y que cuando se pulverizaba podía ser usado como pintura³.

A pesar de su rareza y dificultad de obtención de muestras de las minas de Beresof, el plomo rojo Siberiano fue extraído como un objeto de coleccionistas, por lo que fue utilizado en la industria como un pigmento para pintura. Un amarillo brillante hecho de la crocoíta rápidamente se convirtió en un color de moda para los carruajes de la nobleza en Francia e Inglaterra³.

Otro científico importante fue el naturalista, farmacéutico y químico francés Louis-Nicholas Vauquelin. En 1797, Vauquelin fue asignado como profesor de química y de análisis en la escuela de Minas en París donde recibió muestras del mineral crocoíta para determinar la composición correcta de este mineral, para esto hirvió una parte pulverizada de crocoíta con dos partes del estándar de potasio (K_2CO_3), con lo que resultó una solución de color amarillo. La solución formó un precipitado rojo con una sal de mercurio. Al agregar HCl la solución se tornó verde. En 1798, Vauquelin pudo precipitar plomo con HCl, secó el precipitado verde y después lo calentó por 0.5 h en un crisol con polvo de carbón. El carbón fue utilizado como un agente reductor. Después de enfriar, observó una masa de agujas metálicas con una masa de precipitado verde. Fue así como descubrió, a través de análisis posteriores mediante calentamiento Cr_2O_3 con carbón vegetal que la crocoíta se combinó con un óxido de un metal desconocido. Observando los colores producidos por los compuestos, Fourcroy y Abbé René-Just Haüy (1743-1822) sugirieron el nombre de cromo

proveniente de la palabra griega χρωμα (Croma) que significa color, reflejando los colores brillantes del rojo, amarillo y verdoso de sus componentes³.

Tiempo después en 1798, los químicos alemanes Louwitz y Klaproth identificaron independientemente al Cr en rocas localizadas más al norte de las minas de Beresof como un mineral negro y pesado, que después fue conocido como cromita (FeCr_2O_4). En 1799, otro químico alemán Tassaert, identificó el mismo mineral en un depósito de la región de Var del suroeste de Francia. Este mineral fue identificado como espínela de Cr-Fe y conocido como cromita. Este mineral es la única fuente de Cr utilizada comercialmente. De 1797 hasta 1827, el FeCr_2O_4 fue producido principalmente para uso químico y era obtenido de los Urales (Rusia), la fuente principal del mundo en ese tiempo. En 1827, se descubrieron yacimientos de cromita en la región de Maryland, Pennsylvania y Virginia, en los E.U. y llegó a ser el principal abastecedor³.

Isaac Tayson, Jr. (1792-1861) fue considerado uno de los mejores químicos prácticos y su principal éxito fue el establecimiento de la industria química del Cr en los Estados Unidos. Entre 1823 y 1833, estableció una planta en Baltimore, Maryland, conocida como la Compañía Química Baltimore. En 1827, obtuvo una patente para hacer caparrosa (sulfato de hierro), además de exportar FeCr_2O_4 , y manufacturar cromo amarillo y otros colores de cromo. Tras una alta competitividad en el mercado y algunas dificultades técnicas, intentó incrementar la demanda de la elaboración de $(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-})^3$.

Entre 1828 y 1850, la compañía Química Baltimore surtía la mayoría del mineral Cr consumido por el mundo, siendo el resto suministrado desde los depósitos de serpentina y el lavado de platino de los Urales en Rusia. En 1845 Tayson tuvo éxito en el desarrollo del proceso viable comercial para la manufactura de los compuestos de cromo. Él pidió a la universidad de Yale un técnico experto, y fue William Phipps Blake a quien la universidad eligió³.

Blake fue el primer químico profesional que fue empleado en la industria en los E.U., graduado de la Escuela Científica de Seffield. Blake estudió una carrera prestigiosa como geólogo e ingeniero en minas y eventualmente sirvió como el tercer geólogo de Arizona. También desarrolló una versión temprana del sistema de clasificación decimal para libros, el cual fue copiado después por la librería americana Melville Louis Kossuth Dewey (1851-1931)³.

Cuando Tyson murió en 1861, La compañía Baltimore, fue heredada a dos de sus hijos, la cual fue después adquirida por la compañía química Kalion de Filadelfia en 1902. El monopolio de la compañía de Tyson en el mundo de la industria de FeCr_2O_4 continuó hasta 1850, cuando las exportaciones comenzaron a decaer debido al descubrimiento de nuevos depósitos principalmente en Turquía, así como a la decadencia de los depósitos en Maryland³.

La primera patente para el uso del Cr en acero fue facilitada en 1865. Sin embargo, el uso del Cr a gran escala tuvo que esperar hasta el desarrollo del método de aluminotermia a principios de 1900 y cuando el horno de arco eléctrico pudiera fundir al FeCr_2O_4 en la principal aleación, Ferrocromo. La verdadera importancia vino con el desarrollo del acero inoxidable. El acero inoxidable fue desarrollado del trabajo inicial de Brearly y Sheffield en 1913. El acero inoxidable contiene 12% o mas de cromo, junto con Fe y Ni, Ti, o Mn (comúnmente con 18% Cr, 8% Ni, 74% Fe). Estos metales son extensamente utilizados en la fabricación de recipientes para fluidos corrosivos, en una amplia gama de aplicaciones industriales y domésticas³.

En el año de 1920, el proceso de electrodeposición utilizó la energía eléctrica para unir los átomos de cromo con los átomos de la superficie original, creando un enlace muy fuerte entre los metales que permanece intacto incluso cuando son sometidos a una fuerza extrema. En la década de 1940, la producción de objetos con recubrimiento de cromo duro, fue muy importante durante la guerra, este proceso le daba nueva vida a muchos componentes de los motores. Los primeros cilindros para motor fueron mejorados utilizando galvanizado duro de cromo³.

Durante los años de 1960 y 1970, los nuevos estándares federales para la emisión de motores generan mejoras para la reducción de lubricante consumido por los combustibles de diesel. Así se desarrollaron nuevas técnicas de acabado para el mejoramiento de los motores de ferrocarril, transmisión de gas e industria eléctrica³.

1.2. Propiedades del Cromo

El cromo es un metal brillante y de color plateado, así como duro y quebradizo, pertenece al grupo VI de la tabla periódica, tiene un punto de fusión de 1857.0°C y un punto de ebullición de 2672.0°C . Se disuelve completamente en ácido clorhídrico diluido y ácido sulfúrico, es insoluble en ácido nítrico, reacciona con gases halógenos como el cloro (Cl_2), el bromo (Br_2) y el yodo (I_2) a una temperatura de 400°C y presiones de 200 a 300 atm, formando compuestos brillantes y coloridos.

Los estados de oxidación conocidos van de 2^- a 6^+ , sin embargo, el estado de oxidación más estable es el 3^+ . Es muy difícil de encontrar como un metal libre en la naturaleza, debido a que reacciona rápidamente con el oxígeno atmosférico formando una capa superficial de óxido de cromo (Cr_2O_3) que protege al metal de toda reacción posterior de oxidación, debido a que este material es denso, poroso y resistente. Posee cuatro isótopos estables: ^{50}Cr (4.31%), ^{52}Cr (83.76%), ^{53}Cr (9.55%) y ^{54}Cr (2.38%). Tiene cinco isótopos de vida corta ^{48}Cr (23 h), ^{49}Cr (41.9 min), ^{51}Cr (27.8 días), ^{55}Cr (3.5 min) y ^{56}Cr (5.9 min). El ^{51}Cr es utilizado como medio de contraste en algunos estudios^{3,4,5}.

1.3. El cromo en la naturaleza

Debido a que el cromo es un metal de transición tiene la capacidad de formar aleaciones con los principales grupos metálicos. La abundancia del cromo en la tierra y en el universo es muy variable, en el universo se encuentra aproximadamente 15 partes por millón (ppm) por masa, en el sol 20 ppm y en meteoritos de carbono 3.2 partes por miles por masa³.

La cromita es también conocida como Óxido de Hierro (II) - Cromo (III) (FeCr_2O_4) es la principal fuente mineral de cromo, pertenece al grupo de las rocas gabroicas —Las rocas gabroicas están frecuentemente meteorizadas de forma que su superficie se encuentra expuesta a la intemperie, son regularmente de color pardo rojizo, herrumbroso, debido al contenido elevado de hierro.²⁹— las cuales son rocas oscuras, presentan un aspecto moteado, suelen formar agregados masivos pardos negruzcos. Los cristales carecen de exfoliación, tienen un brillante lustre metálico y dejan una traza parda oscura. Los agregados de cromita son considerablemente pesados y son fáciles de rayar. El FeCr_2O_4 es un mineral, negro marrón a blanco plateado, débilmente magnético, se produce exclusivamente en rocas máficas —Las rocas máficas están compuestas principalmente de sílice, magnesio (Mg) y hierro (Fe).²⁹—y ultramáficas —Las rocas ultramáficas son rocas ígneas con muy poco sílice (menos del 45%), generalmente contienen más del 18% de óxido de magnesio (MgO), alto en óxido de hierro II (FeO), bajo en potasio y más del 90% compuestas de materiales básicos.²⁹— como un cristal acumulado en las primeras etapas de cristalización magmática, también se ha identificado en serpentinitas, —Las serpentinitas se encuentra en masa carente de estructura o más frecuentemente en forma fibrosa, aparece en diversas tonalidades verdosas pero puede ser también amarillo parduzco o gris. Pertenece al grupo de las rocas gabroicas.²⁹— que pueden ser desarrolladas a través de la alteración hidrotermal de una peridotita. —La peridotita es una roca ultramáfica que carece de feldespato y cuyo material en abundancia es el olivino que les da un aspecto verdoso granular.

Algunas veces puede encontrarse con cromita como mineral secundario lo que le da un aspecto moteado de color negro, esparcidas por toda la roca o bien en bandas negras difusas de espesor variable. El feldespatos se refiere a los silicatos en forma de trama (tectosilicatos) ricos en aluminio, potasio, calcio y sodio.²⁹— La dureza de Mohs de la FeCr_2O_4 es de 5.5 y el peso específico es de 4.3 a 5.0 y debido a estas características físicas de FeCr_2O_4 , el mineral en ocasiones se concentra en yacimientos de aluvión³ —El aluvión, es el material suelto o sedimento de rocas que puede estar compuesta por arena, grava y arcilla, los cuales pueden ser transportados de manera permanente o transitoria por una corriente de agua²⁹.—

1.4. Los estados de oxidación 3^+ y 6^+

El cromo hexavalente es un agente oxidante fuerte debido a que siempre se encuentra unido al oxígeno, por lo que tiende menos a formar poliácidos, los iones más importantes son los cromatos ($\text{Cr}_2\text{O}_4^{2-}$) y dicromatos ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), los cuales son fáciles de reducir a (Cr^{3+}) en medio ácido⁶.

El cromo trivalente Cr (III) es el estado de oxidación más estable. Tiene una gran tendencia a formar compuestos de coordinación, complejos y quelatos. La velocidad de intercambio de ligandos de dichos compuestos es muy baja. Por lo tanto las reacciones de intercambio pueden llevarse a cabo de manera muy fácil. Algunos de los ligandos más estudiados son el agua, el amonio, la urea, etilendiamina (sin carga neta), o aniones como los haluros, sulfatos y aniones de muchos ácidos orgánicos⁶.

El cromo es un nutriente esencial requerido por el cuerpo humano para promover la acción de la insulina para la utilización de los azúcares, proteínas y grasas. El Picolinato de Cromo (CrP) ha sido utilizado como un suplemento nutricional, permite el control del azúcar en sangre en diabéticos, puede reducir el colesterol y disminuir los niveles de la presión sanguínea. El cromo aumenta la unión de la insulina a las células y el número de receptores de insulina, además activa al receptor quinasa permitiendo una mayor afinidad de insulina al receptor⁷.

El Cr (III) no es considerado un elemento tóxico en bajas concentraciones y es necesario en la dieta diaria en los adultos, en una dosis que va de los 0.5 a los 2 mg por día, esto debido a que ayuda al metabolismo de la glucosa. En su forma hexavalente Cr (VI), se han notado efectos tóxicos. La exposición al polvo contaminado con Cr (VI) provoca erupciones en la piel, úlceras y eczema. También puede provocar irritación marcada en el sistema respiratorio y ulceración y perforación del

septo nasal. La ingestión de 1.0 a 5.0 g de Cr (VI) como cromato provoca graves desórdenes gastrointestinales, diátesis y convulsiones. Puede causar la muerte después de un ataque cardiovascular³.

1.5. Uso del cromo

El cromo es utilizado en decenas de procesos industriales como se observa en el **Cuadro 1** en donde se resume la utilidad que tiene el cromo en las diversas actividades humanas, convirtiendo a este elemento en un contaminante de gran impacto al medio ambiente y la salud³.

Cuadro 1. Aplicaciones del Cromo en la Industria³

Pigmentos anti- incrustantes	Baterías resistentes a altas temperaturas
Pigmentos antidetonantes	Prótesis humanas
Producción de aleaciones	Cinta magnética
Catalizadores	Acabado de metales
Cerámicas	Partidores de metal
Inhibidores de la corrosión	Mordantes
Prótesis dentales	Recubrimiento de fosfato
Lodos de perforación	Fotosensibilización
Galvanoplastia (acabados decorativos, superficies resistentes)	Pirotecnia
Electrónicos	Refractarios
Endurecedores de emulsión	Curtido
Impresión flexible	Conservadores textiles
Fungicidas	Impresión textil y teñido
Absorbentes de gas	Partidores de lavado
Acero endurecido (blindaje, proyectiles para perforación)	Conservadores para madera

2. Impacto de Cr (VI) a la salud humana

2.1. Toxicología

Para que cualquier sustancia tenga un efecto adverso en la salud, debe haber primero una exposición a dicha sustancia y por lo tanto, entrar al cuerpo³. Las rutas comunes de exposición o formas de entrada son:

- Ingestión
- Contacto dérmico
- Inhalación

Los efectos están categorizados como carcinogénicos y no carcinogénicos incluyendo las tres diferentes duraciones de exposición que dan lugar a efectos adversos para la salud:

- Sutil (14 días o menos)
- Intermedia (15 a 364 días)
- Crónica (365 días o más)

2.2. Ingestión

Las formas comunes de ingestión son el consumo de comida, agua para beber e ingestión de suelo contaminado (principalmente por niños). Del total de cromo ingerido, solo cerca del 2 al 3% es absorbido por el intestino (sistema gastrointestinal). Los jugos gástricos rápidamente reducen Cr (VI) a Cr (III) en pequeñas cantidades. El proceso de reducción parece ser 100 % completo, de tal forma que el Cr (VI) no puede ser detectado en el sistema gastrointestinal o en la sangre después de su ingestión. Esta es la razón por la cual Cr (VI) no es considerado ser un peligro a la salud por ingestión³.

Una vez realizado el proceso de reducción el Cr (VI) se absorbe completamente por las células rojas. Esto al parecer es debido a que es un anión tetraédrico, que imita las sales de sulfato y fosfato, por lo que es introducido mediante el transporte activo. Una vez dentro de la célula se reduce a Cr (III) en presencia de agentes reductores como el ascorbato, el glutatión, el NADPH y NAD. El glutatión es el agente reductor principal que actúa en el citosol, otra porción considerable se reduce en la mitocondria donde el agente reductor principal es NADH⁸.

2.3. Contacto dérmico

La piel es impermeable para la mayoría de los compuestos químicos; para que un fármaco sea absorbido a través de la piel, primero debe atravesar capas o tejido especializado como los folículos del pelo o las glándulas sudoríparas y sebáceas. La absorción a través de la capa más externa de la piel, el estrato córneo, es un paso limitante en la absorción dérmica de los fármacos. Esta capa externa consiste de células queratinizadas empaquetadas y son comúnmente referidas como la capa muerta de la piel porque las células que componen esta capa no tienen núcleo. Las sustancias químicas pueden ser absorbidas por difusión simple a través de esta capa. Las capas profundas son la dermis y la epidermis, consisten de células porosas no selectivas que manifiestan poca oposición a la absorción por difusión pasiva. Una vez que la sustancia alcanza este nivel es rápidamente absorbida dentro de la circulación sistémica debido a la extensiva red de capilares venosos y linfáticos localizados en la dermis. La absorción de las sustancias químicas, dependen de las características de la sustancia y de la condición de la piel. Debido a que el estrato córneo es la principal barrera a la absorción, el daño de esta área por descamación de las células a consecuencia de la abrasión o quemaduras aumenta la absorción, como lo hace cualquier mecanismo que incremente el flujo sanguíneo cutáneo. La hidratación del estrato córneo también incrementa su permeabilidad y por lo tanto aumenta la absorción de las sustancias⁹.

Muchos compuestos de cromo tienen la capacidad de inducir sensibilidad y provocar alergia al cromo por contacto, sin embargo, a diferencia de otros metales, el cromo metálico (es decir en el estado cero), no provoca alergia, debido a que el óxido que se forma en la superficie del mineral es muy poco soluble para penetrar la piel³.

La mayoría de los compuestos hexavalentes de cromo son completamente solubles en agua, y pasan libremente a través de la epidermis de manera más fácil que la mayoría de los compuestos trivalentes, los cuales son insolubles. Se cree que el cromo hexavalente cuando penetra la piel es reducido mediante enzimas a la forma trivalente, con lo que se puede combinar con las proteínas. Al parecer, la capacidad para inducir y provocar alergia al cromo al contacto, depende de la concentración de la especie de cromo, el estado de oxidación y la solubilidad, siendo este último dependiente del pH. La absorción del Cr (VI) dentro del sistema sanguíneo por la piel ha sido reportada pero no investigada extensivamente. Una vez que se absorbe dentro del sistema sanguíneo hay varios antioxidantes que actúan como agentes reductores como el glutatión y el ascorbato; el

cromo rápidamente se reduce de Cr (VI) a Cr (III). El cromo es absorbido por los pulmones dentro del sistema sanguíneo, es excretado por los riñones y el hígado. El riñón parece absorber el cromo de la sangre a través de la corteza renal y lo libera en la orina. De esta forma el muestreo de cromo en la orina puede ser usado para el monitoreo biológico, para cierto tipo de humos de soldadura o compuestos de cromo que liberan Cr (VI) soluble en agua. Además, la exposición a largo tiempo al Cr (VI) puede producir necrosis tubular³.

2.4. Efectos carcinogénicos

Según evidencia reciente indica que el Cr (VI) es un agente cancerígeno sólo por inhalación. La USEPA lo ha clasificado como un cancerígeno humano definido en el Grupo A, teniendo una unidad de riesgo por inhalación de $0.012 \mu\text{g}/\text{m}^3$, equivalente a un factor de potencia de $42\text{mg}/\text{Kg de peso corporal} \times \text{día}$. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha asignado una clasificación de cáncer por inhalación en el Grupo 1 como un cancerígeno humano definido³.

3. Citotoxicidad y genotoxicidad

Aunque el Cr (VI) ha sido extensivamente estudiado por su genotoxicidad y su capacidad cancerígena y aunque el mecanismo preciso no está bien definido, una serie de estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que el Cr (VI) induce estrés oxidativo; se cree que promueve la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) provocando un gran daño en el ADN y deterioro oxidativo a proteínas y lípidos⁷ como: los enlaces cruzados en las proteínas del ADN, entrecruzamientos entre cadenas de ADN, mutaciones, ruptura de la cadena de ADN, oxidación de las bases de ADN, intercambio de cromátidas hermanas y micronúcleos¹⁰.

3.1. Efectos del cromo

Los principales efectos por la exposición continua al cromo, además del cáncer son³:

- Neurológicos
- Genotóxicos
- Sistémicos
- Inmunitario y linforeticular

El grado del efecto adverso depende de la duración de la exposición: grave (≤ 14 días), intermedio (15 a 364 días) y crónico (≥ 365 días). También es útil considerar los efectos adversos que aparecen en el daño permanente más o menos independiente del tiempo de duración de la exposición, de aquellos que desaparecen tiempo después de la exposición³.

3.1.1. Inhalación

El equilibrio estimado de la presión de vapor del Cr elemental a 25°C es 1.6×10^{-59} mmHg. El Cr elemental no es tan volátil por lo que no sucede una evaporación significativa hasta alcanzar una temperatura de 1600°C. Debido a esto es muy poco probable la exposición al gas de Cr. Sin embargo, los compuestos de cromo pueden ser fácilmente transportados por el aire como pequeñas partículas (sólidas o gotas) y estas partículas pueden ser inhaladas con posibles efectos adversos³.

3.1.2. Sistémico

El sistema respiratorio es el más afectado por la inhalación de los compuestos de Cr, lo cual puede producir asma, úlceras nasales e incluso perforaciones de este mismo. Es probable que los efectos adversos nasales agudos ni las funciones del pulmón se vean afectadas si las concentraciones de exposición de Cr (VI) son menos de 0.001 mg/m^3 . Sin embargo si las concentraciones son altas, y la inhalación por la respiración es por la boca, puede provocar úlceras gástricas³.

3.1.3. Inmunitario

Se ha observado decaimiento en algunos linfocitos en un grupo expuesto al polvo de Cr (VI) en una fábrica de plásticos. No se observaron efectos del Cr en el suero o en las inmunoglobulinas séricas IgA, IgG e IgM. La concentración de 0.36 mg/m^3 , es la concentración más baja a la cual se ha observado un efecto adverso en ratas³.

4. Cromatografía Líquida de Alta Resolución CLAR

La cromatografía líquida de alta resolución es una técnica de separación basada en diferentes tipos de interacciones químicas entre la muestra y la columna cromatográfica, donde la muestra es separada en todos sus constituyentes con el uso de una fase móvil, la cual puede ser un disolvente orgánico, un disolvente acuoso o una combinación de estos; y una fase estacionaria que pueden ser partículas porosas de sílice empaquetadas en una columna, a través de la cual la fase móvil es bombeada a alta presión. El grado de retención que tengan los componentes de la muestra depende de su naturaleza, de la composición de la fase estacionaria y de la fase móvil. Un sistema típico de CLAR se observa en la **Figura 1**. El cromatógrafo consiste de una bomba, un inyector, una columna, un detector y un dispositivo para el manejo de datos^{11,12}.

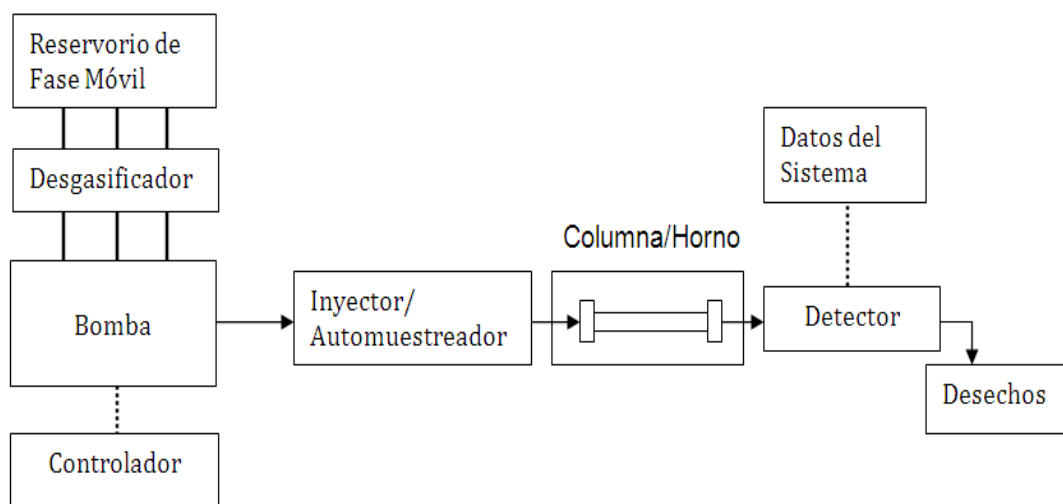


Figura 1. Esquema de un sistema CLAR con sus principales componentes.¹¹

4.1. Factores que afectan CLAR

4.1.1. Efecto de la temperatura

La temperatura influye en la separación en la CLAR, porque a altas temperaturas¹²:

- La viscosidad del disolvente disminuye, dando lugar a que el eluyente fluya más fácilmente.

- Las velocidades de difusión del soluto aumentan, originando una difusión más rápida en todas las direcciones.
- El equilibrio entre los diversos solutos y la fase estacionaria se desplaza en proporciones diferentes.

Las velocidades del equilibrio en el intercambio son generalmente más rápidas. La modificación de la temperatura hace variar el equilibrio y todos los procesos de transporte, por lo que la temperatura es una variable importante para mejorar las separaciones del soluto en la CLAR.

4.1.2. Efecto del pH

La importancia del pH se da principalmente en la CLAR de intercambio iónico, esto significa que la fase móvil puede tener un pH específico para provocar la carga correcta del ion de interés en la muestra. La selectividad se puede modificar cambiando el pH de la fase móvil, los iones contrarios y la concentración de los iones contrarios. Pueden añadirse modificadores orgánicos para reducir interacciones de la fase móvil con la muestra¹².

4.2. Cromatografía iónica

El primer uso de la cromatografía iónica fue en el siglo XIX en el campo de la agroquímica. En un principio la mayoría de las investigaciones se realizaban en las arcillas y minerales, esto dio como resultado la utilización de la zeolita como un material de intercambio iónico. En 1909, Folin y Bell desarrollaron la primera aplicación analítica del intercambio iónico en un método para la determinación de amonio en la orina. En estos primeros estudios sobre el equilibrio del intercambio iónico, los resultados obtenidos fueron considerados desde un punto de vista meramente empírico. En 1928, el modelo de Donnan fue difundido como un modelo teórico por el agroquímico sueco S. Mattsson. Sin embargo, no fue sino hasta finales de 1940 que este modelo fue aceptado por la gran mayoría de los investigadores y se convirtió en el punto de partida para los métodos que se llegaron a desarrollar en 1950. El interior de la columna de intercambio iónico se divide en ciertos componentes: la fase sólida, la fase de resina y la fase electrolítica o fase móvil. La fase sólida es la parte de la columna que el líquido no puede penetrar. La fase de resina o fase estacionaria es la parte de la columna que el líquido puede penetrar, pero es inactivo en el proceso cromatográfico. Para un material de intercambio iónico poroso esta fase se compone principalmente del volumen de poro. La fase electrolítica es la parte de la columna que está llena por electrolitos y al mismo tiempo puede estar asociada con la velocidad de flujo en un proceso cromatográfico¹³. Las cargas unidas a

la resina son las cargas fijas y son el punto de referencia para la nomenclatura de otros iones en el sistema de intercambio iónico. Los iones en la solución electrolítica, los cuales tiene un signo de carga que es contrario a las cargas unidas a la resina, son llamados contraiones. Análogamente, las cargas que tienen signo positivo son llamadas cationes^{13; 14}.

La cromatografía iónica es una técnica analítica que separa especies iónicas, combinando la teoría cromatográfica y la teoría del equilibrio químico dentro de una aplicación. Existen diferentes técnicas analíticas **Cuadro 2** que permiten el análisis de moléculas de bajo peso molecular (solubles en agua) como pueden ser: ácidos carboxílicos, (ácido fórmico, ácido acético), bases orgánicas, iones organometálicos. Los sistemas de intercambio iónico tienen una fase estacionaria por donde pasa la fase móvil que es impulsada por una bomba de alta presión. También tiene un loop de inyección colocado entre la bomba y la columna para la introducción de la muestra. Los componentes de la muestra son separados en la columna y fluyen a un detector. Los datos del detector son guardados en una computadora, donde las concentraciones del analito son calculadas y almacenadas.¹⁵

Cuadro 2. Métodos Cromatográficos que Usan Mecanismos de Intercambio Iónico¹³

Método	Grupo Funcional de la Fase Estacionaria	Fase Móvil	Analitos
Intercambio Iónico	Cationes: Ácidos Sulfónicos y Carboxílicos	Solución amortiguadora acuosa (puede contener un solvente orgánico)	Iones metálicos, oxianiones, metales de transición
Par iónico	Fase Reversa C-18 sílice Ácido Sulfónico	Solución amortiguadora con un ion reactivo en agua o ácido diluido	Ácidos débiles / Bases, iones grandes hidrófobos
Exclusión iónica	Ácido Sulfónico	Agua o ácido diluido	Compuestos orgánicos hidrófilos, ácidos débiles
Quelación	Dicarboxilatos	Ácidos fuertes	El grupo de metales principal

4.3. Teoría del intercambio iónico

El intercambio iónico es una técnica analítica en la cual los iones son separados cromatográficamente con base en su interacción con una fase estacionaria y el eluyente. La fase estacionaria puede ser de poliestireno con enlaces cruzados derivatizado con un ion fijo. Para mantener el balance de la carga, un contra ion debe estar presente. La concentración del contraion es mantenida en el eluyente. Es el contraion el que es reemplazado en el proceso de intercambio iónico por el ión del analito durante el análisis. Las resinas de intercambio iónico, cuando están cargadas negativamente se clasifican como una resina de intercambio catiónico, y es aniónica cuando está cargada positivamente^{16; 15}.

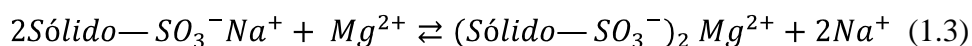
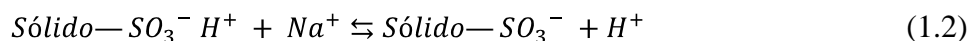
La competencia para los sitios cargados en la fase estacionaria (S) entre la fase electrolítica (contraion, H) y el ion del analito (A) puede ser expresada por un mecanismo de equilibrio simple. El equilibrio para un proceso de intercambio iónico que implica una resina de intercambio catiónico es¹⁵:



4.4. Intercambiadores iónicos

4.4.1. Intercambiadores cationicos

Un intercambiador de iones catiónico es un material sólido en partículas, con grupos funcionales cargados negativamente dispuestos para interactuar con los iones de la fase líquida circundante. El intercambiador de iones catiónico más común contiene grupos de ácido sulfónico. Los intercambiadores catiónicos basados en sílice se preparan generalmente mediante la reacción de partículas de sílice con clorosilano o metoxisilano. En ambos materiales, el grupo sulfonato está químicamente unido a la matriz sólida. Sin embargo, el H^+ es atraído electrostáticamente al $-SO_3^-$ y puede someterse a reacciones de intercambio con otros iones en solución. Por ejemplo¹⁵:



La forma física del intercambiador catiónico es tal que los iones de la solución circundante pueden atravesar fácilmente a través del sólido para entrar en contacto con el interior, así como los grupos sulfonato superficiales.

Las reacciones de intercambio (Ecuaciones 1.2 y 1.3) son reversibles y están sujetas a las leyes del intercambio químico. La mayoría de los iones metálicos monovalentes son retenidos más fuertemente que aquellos de menor carga.

4.5. Resinas poliméricas

4.5.1. Sustratos y enlace cruzado

Existe una gran variedad de sustratos que pueden ser utilizados para la síntesis de intercambiadores químicos, incluyendo polímeros de ésteres, amidas y haluros de alquilo. Pero los intercambiadores catiónicos más ampliamente usados son resinas basadas en copolímeros de estireno-divinilbenceno. La resina está hecha principalmente de poliestireno; sin embargo, pequeñas cantidades de divinilbenceno se añaden durante la polimerización para enlazar cruzadamente a la resina. Este entrecruzamiento le confiere estabilidad sobre la perla de polímero y al aumentar el peso molecular en proporción a la longitud media de la cadena polímero se reduce drásticamente la solubilidad de éste. Comúnmente, del 12 al 15% del peso total de los compuestos entrecruzados se utilizan para resinas microporosas y más del 55% para resinas macroporosas¹⁵.

4.5.2. Resinas microporosas

Los sustratos son producidos por una polimerización en suspensión en la cual el estireno y el divinilbenceno son suspendidos en agua como gotas. El uso de un surfactante junto con una agitación uniforme, rápida y continua mantiene a los monómeros en suspensión en el recipiente de reacción, la adición de un catalizador como el peróxido de benzoilo, inicia la polimerización. Las perlas resultantes son uniformes y sólidas, pero están microporosas. El tamaño de distribución de las perlas es dependiente de la velocidad de agitación, entre más rápida sea producirá pequeñas perlas. Las perlas se hinchan, pero no se disuelven cuando son colocadas en disolventes hidrocarburos. Después la resina se funcionaliza (los grupos funcionales para intercambio iónico se unen al polímero), la perla es considerablemente más polar. Dependiendo del número relativo de grupos funcionales, los solventes polares como son el agua ahora hincharán la resina de intercambio iónico. Sin embargo, los solventes no polares, deshidratarán la perla y causarán que se hunda¹⁵.

El grado de hidratación de la resina también dependerá de la forma iónica de la resina. Las perlas de resina de intercambio iónico son blandas y tienden a hundirse o hincharse excesivamente cuando pasan de un estado iónico a otro. Sin embargo la cantidad de enlaces cruzados usados en la síntesis de resinas todavía se basa en un compromiso con el despeño de la resina. Las resinas microporosas usualmente contienen 8% de divinilbenceno. Las resinas de tipo gel con muchos enlaces cruzados tienden a excluir grandes iones, y la difusión de iones de dimensiones ordinarias dentro del gel puede ser más lenta de lo que se espera. Las resinas con menos del 2% de enlaces cruzados son demasiado blandas para la mayoría de las columnas de trabajo¹⁵.

4.5.3. Resinas macroporosas

Las resinas macroporosas o a veces llamadas resinas macroreticulares son preparadas por una polimerización en suspensión especial. Otra vez, como con las resinas microporosas, la polimerización se lleva a cabo mientras los monómeros se mantienen en suspensión en un solvente polar. Sin embargo, las gotas del monómero suspendido también contienen un diluyente inerte, que es bueno para los monómeros, pero no para el material que ya está polimerizado. Por lo tanto, las perlas de resina se forman de manera que contienen piscinas de diluyente distribuidas a través de la matriz de perlas. Después de que la polimerización se completa el diluyente se lava de las perlas para formar la estructura macroporosa. El resultado es una resina de perlas esféricas, rígidas que tiene un área alta. En lugar de utilizar un disolvente inerte para precipitar el copolímero y formar los poros, la polimerización puede llevarse a cabo en presencia de un sólido finamente dividido, inerte como es el carbonato de calcio para crear huecos dentro de la perla. Más tarde, el sólido es extraído del copolímero. Ambos procesos de polimerización crean grandes (aunque probablemente diferentes) poros inertes. El diámetro promedio del poro puede variar dentro del intervalo de 20 Å a 500 Å¹⁵.

La estructura final de la resina de perla de una resina macroreticular contiene muchas microesferas intercaladas con poros y canales. Debido a que cada resina de perla está hecha de miles de pequeñas perlas, el área de superficie de las resinas macroporosas es mucho más alta que el de las microporosas.

4.5.4. Resinas sulfonadas

La mayoría de los intercambiadores catiónicos usados en la cromatografía iónica, están clasificados principalmente en dos categorías: resinas sulfonadas, que algunas veces son llamadas intercambiadores de ácidos fuertes y resinas con grupos de ácidos carboxílicos llamados intercambiadores de ácidos débiles^{15, 16}.

Las resinas intercambiadoras de cationes de baja capacidad se obtienen por sulfonación superficial de perlas de copolímero de estireno-divinilbenceno. Las perlas son tratadas con ácido sulfúrico concentrado y una superficie delgada de grupos de ácido sulfónico se forma en la superficie. La capacidad final de la resina está relacionada con el grosor de la capa, es dependiente del tipo de resina, así como del diámetro de la perla, la temperatura, y el tiempo de contacto con el ácido sulfúrico. El intervalo típico de capacidades van de 0.005 a 0.1 meq/g l¹⁵.

Se puede apreciar fácilmente que, en comparación con una resina convencional de intercambio catiónico, la longitud de la trayectoria de difusión se reduce porque el núcleo sin reaccionar, resina hidrófoba restringe cationes del analito a la superficie de la resina^{15, 16}.

Los intercambiadores están formados por el enlace químico de los grupos funcionales apropiados a un sustrato como un polímero o sílice. Los grupos funcionales principalmente usados son los sulfonatos (intercambiadores catiónicos) y amonio cuaternario (intercambiadores aniónicos). Uno de los factores importantes es la capacidad de intercambiar iones, comúnmente en el intervalo de 10 a 100 $\mu\text{eq g}^{-1}$, esto debido principalmente por su uso con detectores de conductividad, por lo que es preferible utilizar eluyente de fondo bajo de conductancia, para así aumentar la detección de los iones del analito eluido¹⁵.

4.6. Cromatografía iónica electrónicamente suprimida

Involucra dos procesos de intercambio iónico, el primero es el intercambio en la columna que separa los iones. El segundo elimina el fondo de iones de manera que se puedan medir los picos del analito por conductimetría¹².

A cada lado del flujo de corriente hay membranas que tienen unidos covalentemente iones con cargas negativas. La presencia de estas cargas hace que las membranas sólo sean permeables a los iones positivos e impermeables a los iones negativos. En el compartimiento de la parte izquierda

más alejado existe un ánodo Electroquímico que oxida el agua que fluye regenerando oxígeno y protones¹².

Los protones atraviesan la membrana incorporándose al flujo del eluyente y neutralizando los grupos hidróxido para producir agua; por otra parte estos protones aportados actúan como contra ion de los iones negativos. Al mismo tiempo, los iones sodio pasan a través de la membrana, al otro lado, a una disolución básica que se genera por reducción de agua en el cátodo. Los iones sodio se eliminan en la corriente que fluye¹².

La función del supresor es la de modificar el analito y el eluyente de tal forma que aumente la detección de los analitos por el detector. El supresor generalmente requiere de una solución que regenere, que permita que funcione por períodos largos. Los métodos que utilizan esta técnica son referidos regularmente como: cromatografía iónica suprimida o cromatografía iónica químicamente suprimida¹⁵.

Las resinas intercambiadoras aniónicas de variable pero bajas capacidades de intercambio son producidas bajo condiciones suaves y tiempos cortos de reacción en la reacción de clorometilación. Las condiciones para la aminación son escogidas para convertir la mayor cantidad posible de clorometilo a cloruro de amonio cuaternario, aunque la experiencia indica que algo de clorometilo permanece sin reaccionar¹⁵.

Un procedimiento ideado por Barron y Fritz usa ácido clorhídrico concentrado y para-formaldehído con un ácido de Lewis como catalizador para clorometilar el polímero. Es posible controlar el grado de la clorometilación ajustando la cantidad de reactivos, la temperatura de reacción y el tiempo de reacción. El clorometil metil éter no es generado *in situ*, excepto en pequeñas cantidades, por lo que la reacción es relativamente segura de usar. Dependiendo de las condiciones elegidas, el procedimiento puede dar intercambiadores aniónicos con capacidades de 0.005 a 0.16 meq/g. Este intervalo incluye las capacidades más útiles en la cromatografía iónica¹⁵.

4.7. Cromatografía iónica de una sola columna

Regularmente se utiliza una fase estacionaria con una resina de baja capacidad para el intercambio y una fase móvil con una concentración baja de iones. Como la conductividad de fondo es lo bastante pequeña, es posible controlar un cambio de conductividad cuando el analito sale de la columna.

Si los iones del soluto absorben radiación visible o ultravioleta, puede utilizarse un detector UV/Vis. Cuando los componentes de interés no absorben radiación UV/Vis pueden detectarse de forma indirecta utilizando especies que absorben el tipo de radiación anteriormente descrita contenidas en la fase móvil, midiendo una reducción en la absorbancia¹⁷.

4.8. Detector UV– Vis

Un detector espectrofotométrico UV–Vis es selectivo, sin embargo, su selectividad se puede modificar simplemente modificando la longitud de onda que es controlada por el detector. La versatilidad del detector se puede incrementar agregando reactivos que formen color, ya sea en la fase móvil o en el flujo de la columna donde se lleve a cabo la reacción de formación de color. La ley fundamental bajo la cual los detectores (UV–Vis) operan, es la ley de Lambert–Beer. La cual se establece de la siguiente manera:

$$A = \xi bC$$

A es la absorbancia de una especie de concentración C y con una capacidad de Absortividad ξ y en una longitud de celda b . La concentración está usualmente expresada en unidades de concentración molar y la longitud en cm. La ecuación de Lambert–Beer es útil para elegir las condiciones de separación y detección de los iones. La elución de los iones debe tener una absorción y la muestra de iones debe tener una absorción alta razonable¹⁵.

4.9. Introducción de la muestra

La muestra se hace utilizando un bucle de inyección, los loops de inyección son intercambiables y tienen diferentes capacidades de volumen que van de los 0.5 μL a los 2 mL. En la posición de carga el loop está separado de la fase móvil y abierta a la atmósfera, para introducirla se utiliza una jeringa de capacidad varias veces mayor a la del loop de muestreo, la muestra que sobra después de llenar el loop sale a través de una vía de desagüe. Una vez cargada la muestra, se gira el inyector hasta la posición de inyección, en esta posición la fase móvil arrastra a la muestra hacia la columna¹⁷.

5. Generalidades de las aguas subterráneas

5.1. Ciclo hidrológico

La precipitación, almacenamiento, salida y evaporación del agua de la tierra sigue una secuencia interminable conocida como el ciclo hidrológico y son la fuente de agua subterránea. Durante este ciclo, la cantidad de agua en la atmósfera y sobre la tierra permanece constante aunque su forma puede cambiar¹⁸.

El movimiento del agua dentro del ciclo hidrológico consiste de vapor del agua condensado en cristales o gotitas de agua que caen a la tierra como lluvia o nieve. Una porción se evapora y regresa a la atmósfera. Otra porción fluye por la superficie de la tierra hasta que alcanza una corriente y fluye hasta el océano. La porción restante se infiltra directamente en la tierra y otra se filtra hacia abajo. Alguna parte de esta agua puede ser transpirada por las raíces de las plantas o regresar a la superficie terrestre por capilaridad y evaporarse. El resto se filtra para unirse al cuerpo de agua subterránea¹⁹.

El agua subterránea regresa a la superficie a través de manantiales y filtraciones a la corriente donde es sometida a evaporación o es directamente evaporada de la superficie o transpirada por la vegetación¹⁹.

5.2. Características de los acuíferos

Un acuífero es una cama de agua que lleva un estrato de tierra, grava o piedra porosa. El requerimiento más importante de un acuífero es que el estrato tenga aberturas interconectadas o poros por los cuales pueda moverse el agua¹⁹.

La naturaleza de cada acuífero depende del material del cual está compuesto, su origen, la relación de los constituyentes, granos o partículas y poros asociados, su posición relativa en la superficie de la tierra, su exposición a la fuente de recarga, entre otros factores. Cuando no hay una capa impermeable sobreyaciendo a la zona saturada de la primera capa de agua subterránea se le denomina freática o acuífero libre, mientras que a la parte del suelo que se encuentra por encima de la superficie freática se le conoce como zona sub saturada¹⁸.

Esta zona actúa como un filtro natural frente a los contaminantes en su recorrido descendente hacia la zona saturada, o del acuífero libre. Pueden estar limitados por capas rocosas impermeables, denominadas acuicludos, que son resistentes a la infiltración del agua subterránea, o bien por

acuitados que son casi permeables al agua. Sin embargo, este tipo de rocas al fracturarse pueden también permitir el almacenamiento y transporte del agua y constituir acuíferos. En general los mejores acuíferos son las porciones de grano grueso, porciones de saturación del manto consolidado, sedimentos granulares que cubren las rocas consolidadas en la mayor parte de la superficie de la tierra¹⁸.

La principal fuente de recarga de las aguas subterráneas es la infiltración que se produce después de cada lluvia. Algunas veces los cursos de aguas superficiales aportan parte de su caudal a las aguas subterráneas¹⁸.

En los acuíferos, el agua circula lentamente (generalmente a menos de 10 metros por día) desde las zonas de recarga hacia las áreas de descarga, que generalmente son los ríos y el mar. En las áreas industriales y agrícolas la descarga provocada por el hombre puede ser muy importante, llegando a producir importantes descensos de los niveles de las aguas subterráneas¹⁸.

Constituyen la mayor parte del agua dulce del planeta (más del 90%), sin tomar en cuenta la acumulada en forma de hielo en los casquetes polares en los glaciares¹⁸.

Cuando el agua se infiltra en el subsuelo ocupa los poros que están conectados entre sí para formar pequeños tubos en los que se almacena y circula lentamente. A las capas rocosas porosas y permeables que pueden estar parcial o totalmente saturadas de agua subterránea se les puede denominar acuíferos. Las características fundamentales de los acuíferos son la capacidad de almacenar agua y de transportarla²⁰.

5.3. Elementos y compuestos del agua subterránea

Casi todos los elementos están presentes en el agua subterránea, y su contenido mineral varía de acuífero a acuífero y de lugar a lugar dentro de un acuífero. Los elementos y compuestos comúnmente encontrados en los acuíferos se leen en el **Cuadro 3**. Los constituyentes menos comunes que también son importantes debido a sus efectos en uso de agua son boro (B), manganeso (Mn), plomo (Pb), arsénico (As), selenio (Se), bario (Ba), cobre (Cu), zinc (Zn), sulfuro de hidrógeno (H₂S), metano (CH₄), oxígeno (O₂), dióxido de carbono (CO₂), nitrato (NO₃) y nitrito (NO₂). El contenido mineral del agua es tan variable y tiene una calidad de aceptación muy amplia para diversos usos. La mayor aplicación del agua subterránea ha sido el suministro de agua mediante pozos y galerías de infiltración¹⁹.

Cuadro 3. Constituyentes Químicos Comúnmente Encontrados en Agua Subterránea¹⁹

Cationes	Aniones
Calcio, Ca ²⁺	Bicarbonato, HCO ₃ ⁻
Magnesio, Mg ²⁺	Sulfato, SO ₄ ²⁻
Sodio, Na ⁺	Cloruro, Cl ⁻
Potasio, K ⁺	Nitrato, NO ₃
Hierro, Fe	Fluoruro, F ⁻
	Sílice SiO ₂

5.4. Contaminación del agua subterránea

La mayoría de los contaminantes se originan por la actividad humana, las principales fuentes de contaminación son el mal mantenimiento del drenaje municipal, los sistemas de descarga individuales, desechos agrícolas y ganaderos, fertilizantes, pesticidas, residuos químicos industriales, productos de petróleo, desagüe de las minas, solventes usados, etc.

Los contaminantes del agua se pueden introducir a las aguas subterráneas a través de diferentes procesos como son: el escurrimiento superficial, la infiltración al subsuelo, o la precipitación atmosférica, que se transportan dentro del ciclo del agua. Los contaminantes también sufren varias transformaciones físicas, químicas y biológicas. Los contaminantes en agua pueden causar enfermedades de transmisión hídrica después de su ingestión o exposición, Los microorganismos patógenos frecuentemente causan enfermedades gastrointestinales y los contaminantes químicos pueden dañar órganos (hígado y riñón), así como el sistema nervioso o inmune o incrementar el riesgo de padecer cáncer. (21)

5.5. Regulación del Cr (VI) en agua subterránea

Las normas internacionales para la calidad del agua potable de la OMS de 1958, propusieron el primer valor de referencia para el cromo hexavalente de 0.05mg/L, debido a sus efectos perjudiciales para la salud. Este valor se mantuvo en los años de 1963 y 1971, pero en 1984 en las Guías para la calidad del agua potable se modificó a un valor de referencia para el cromo total por

la dificultad de analizar únicamente la forma hexavalente. Como medida práctica se ha mantenido este valor de referencia provisional y dicha concentración se considera que es poco probable que implique riesgos significativos para la salud hasta que se disponga de información nueva, y el cromo pueda ser evaluado de nuevo ⁽²²⁾

En México se ha establecido una concentración máxima de cromo total de acuerdo con la norma oficial mexicana NOM-127-SSA-1994, que establece los límites permisibles de microorganismos, características físicas y organolépticas, así como características químicas con las que debe de cumplir el agua para ser potable, dicha norma indica el contenido de constituyentes químicos y establece como límite permisible para Cr VI de 0.05 mg/L . Sin embargo, en las modificaciones a esta norma del año 2000 se establecieron 0.05 mg/L de Cr Total como límite permisible. También define a la potabilización como el conjunto de operaciones y procesos físicos y/o químicos que se aplican al agua en los sistemas de abastecimiento públicos o privados, a fin de hacerla apta para su uso y consumo humano y el agua para uso y consumo humano la define como agua que no contiene contaminantes objetables, ya sean químicos o agentes infecciosos y que no causa efectos nocivos para la salud, también se define como agua potable²³.

5.6. Cromo en los sistemas de agua

La contaminación por cromo en el agua debido a recursos naturales no es común, sin embargo puede encontrarse por el desgaste de las rocas ultramáficas las cuales contienen altas concentraciones respecto a otro tipo de rocas, la precipitación húmeda, polvo radioactivo seco de la atmósfera y fugas de los sistemas terrestres⁵.

La concentración de Cr por agua de lluvia se encuentra en un intervalo de 0.2 a 1 g/L , las de Cr en el mar de forma natural de 0.04 a $0.5 \text{ } \mu\text{g/L}$, las concentraciones de Cr en la superficie de agua varían aproximadamente de 0.5 a $2 \text{ } \mu\text{g/L}$ ⁵. El incremento de Cr en el agua en áreas locales es causado principalmente por descargas de desechos industriales y el número de tipo de especies de Cr presente en los afluentes depende del tipo de proceso en el que se usa el cromo²⁴.

Los dos estados de oxidación del cromo muestran diferente comportamiento químico en el agua como se puede apreciar en la **Figura 2**. El potencial redox y el pH determinan las formas químicas en las cuales el cromo podría estar presente en el agua subterránea. El Cr (VI) es muy soluble y puede existir a bajas concentraciones principalmente como ion bicromato $[\text{HCrO}_4]^-$ y ion cromato $[(\text{CrO}_4)^{2-}]$. A concentraciones más altas de 520 mg/L toma lugar la dimerización del ion bicromato

$[\text{HCrO}_4^-]$ formando ion dicromato $[(\text{Cr}_2\text{O}_7)^{2-}]$. La hidrólisis del Cr (III) da lugar a la solubilidad de especies mononucleares $[\text{Cr}(\text{OH})^{2+}]$, $[\text{Cr}(\text{OH})_2^+]$, $[\text{Cr}(\text{OH})_3]$ y las especies polinucleares $[\text{Cr}_2(\text{OH})_2^{4+}]$ y $[\text{Cr}_3(\text{OH})_4^{5+}]$ ²⁴.

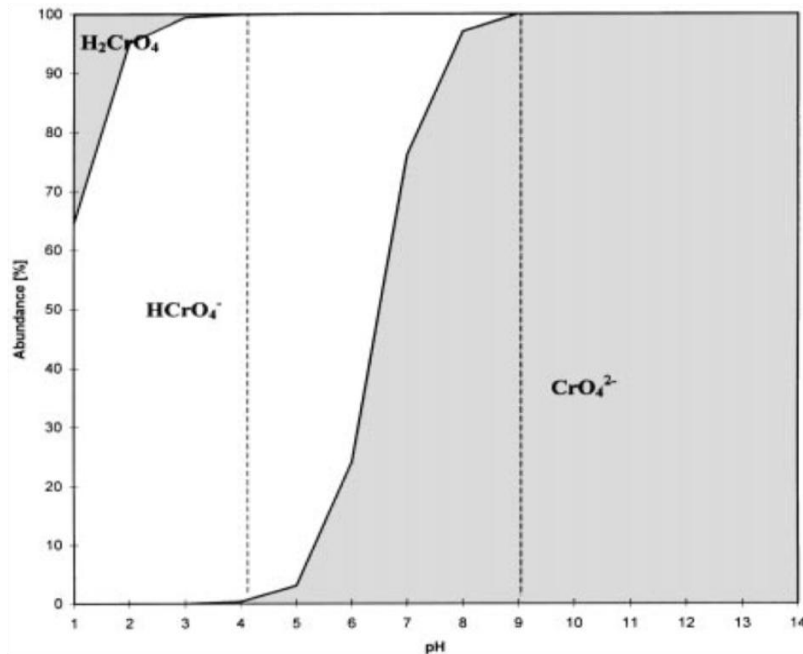


Figura 2. Diferentes especies presentes en el agua subterránea de acuerdo al pH²⁰.

El Cr (III) entre un pH de 6 y 10, precipita como $\text{Cr}(\text{OH})_3$ o $[\text{Cr}_x\text{Fe}_{1-x}(\text{OH})_2]^{4+}$. Aunque el Cr (VI) no forma compuestos insolubles en las aguas naturales, este puede reducirse y precipitar como hidróxidos de Cr (III). Además de la reducción el proceso más importante para el Cr (VI) en los acuíferos es su adsorción. Ambos iones Cr (III) y Cr (VI) pueden ser adsorbidos en las arcillas, y también en óxidos de minerales como son Fe, Mn y Al e hidróxidos que comúnmente se encuentran en el material acuífero²⁵.

Los estados de oxidación del cromo pueden cambiar a través de reacciones redox con especies químicas presentes en el agua subterránea. Por ejemplo, Fe (II), materia orgánica y especies de sulfuro reducidas pueden reducir el Cr (VI). El Oxígeno y los óxidos de manganeso pueden oxidar el Cr (III)²⁵.

A los valores de pH de seis y ocho, el Cr (III) puede llegar a estar soluble por la formación de complejos con varios ligandos orgánicos e inorgánicos comúnmente disueltos en las aguas naturales

como son fosfato, fluoruro, citrato y ácidos húmicos y fúlvicos. El Cr (VI) no forma complejos ni con ligandos orgánicos ni con inorgánicos²⁵.

6. Especiación del cromo

La especiación es el proceso analítico para la determinación de una o varias formas de un elemento presentes en una muestra. El muestreo y la conservación deben ser de tal forma que los elementos traza permanezcan intactos por los procedimientos. La filtración, acidificación y la extracción son pre-tratamientos comunes, especialmente cuando están implicadas muestras ambientales. Para la determinación del contenido total de metales, las muestras líquidas usualmente son acidificadas para disolver partículas grandes, para prevenir la hidrólisis y minimizar la pérdida de analito debido a la adsorción en las paredes del contenedor. En el caso del cromo, la acidificación no sólo afecta el tamaño de partícula, sino que también induce efectos severos a la matriz en el análisis de especiación, debido a que altera sus estados de oxidación. La acidificación reduce rápidamente al Cr (VI) a Cr (III), por lo que es mejor conservar las muestras en un pH casi neutro, bajo una atmósfera de CO₂ para garantizar una relación estable de Cr (III)-Cr (VI)²⁴.

La relación estable de Cr (III)-Cr (VI) puede realizarse también a un pH de 9, donde el potencial de oxidación del Cr (VI) es muy bajo para oxidar a la mayoría de los reductores presentes en el agua. Sin embargo, si el Cr (III) está presente, se debe quelar para prevenir su oxidación. Un método infalible que conduce a la especiación de Cr puede ser el muestreo de campo junto con la inmediata separación de Cr (III) y Cr (VI), o el congelamiento de las muestras cuando se necesita un largo periodo de conservación²⁴.

La cuantificación e identificación son realizadas en un solo paso del proceso analítico, mediante las principales técnicas de separación especiación que son: Análisis por Inyección en Flujo (AIF) y Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR), que incluye Cromatografía Iónica (CI), Cromatografía de Par Iónico (CPI) y Cromatografía Fase Reversa (CFR)²⁴.

El método colorimétrico es útil para determinar cromo hexavalente en aguas naturales o tratadas en el intervalo de 100 a 1000 $\mu\text{g}/\text{L}$. Este intervalo puede extenderse por una dilución adecuada de la muestra. El método cromatográfico con detector fotométrico es conveniente para determinar cromo hexavalente en agua para beber, subterránea y desechos industriales en las concentraciones de 0.5 a 5,000 $\mu\text{g}/\text{L}$. Para medir concentraciones menores de 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ de Cromo Total en agua y desechos

industriales es recomendable el método espectrofotométrico de absorción atómica electrotérmica, así como, la absorción atómica junto con los métodos inductivamente acoplados a masas para cuantificar concentraciones de cromo total arriba de mg por litro²⁶.

7. Análisis estadístico de métodos analíticos

La validación de un método analítico se define como la evidencia documentada que establece que cumple con las aplicaciones analíticas deseadas y estas aplicaciones son evaluadas mediante parámetros estadísticos que garantizan su funcionalidad en el uso de dicho método. La validación va a depender de las necesidades que se tengan, así por ejemplo, la validación de un método para la cuantificación de pesticida en alimentos y la de impurezas de un disolvente grado técnico requiere de unidades y procedimientos diferentes^{27; 28}.

Todos los laboratorios involucrados en el control de calidad deben garantizar que sus medidas son correctas, precisas y exactas. Para esto se deben tomar en cuenta las siguientes medidas:

- Prueba del equipo.
- Validación del método en el equipo probado.
- Sistema de pruebas de aptitud, con la participación del equipo y el método validado.

7.1. Parámetros estadísticos

Los parámetros que deben ser evaluados en un proceso de validación de un método analítico y que forman parte de la mayoría de los procesos de validación son^{27; 28}:

- Exactitud
Se define como la concordancia entre un valor encontrado y un valor aceptado como referencia.
- Reproducibilidad
Es la concordancia entre las determinaciones independientes realizadas en condiciones diferentes.
- Exactitud y Reproducibilidad al 100%
Se determina de cuando menos seis soluciones que contienen agua subterránea (en este caso) con la cantidad necesaria de la sustancia de interés (dicromato de potasio) para obtener la concentración del 100% utilizando el método propuesto. Haciendo su análisis en las mismas condiciones de operación y por el mismo analista.

- **Precisión**

Es la concordancia entre varios resultados analíticos obtenidos para una misma muestra. Se determina analizando por sextuplicado una misma solución estándar correspondiente al 100% de la muestra establecida en la curva de calibración.

- **Linealidad**

Es la respuesta obtenida en función de la concentración del analito, la cual debe de estar situada en una concentración adecuada.

- **Linealidad del Sistema**

Se determina, construyendo una curva de calibración utilizando cuando menos cinco diluciones preparadas de una misma solución patrón y su posterior análisis de cuando menos por duplicado.

- **La linealidad del método**

Corresponde al análisis de agua subterránea adicionada de cuando menos tres concentraciones diferentes, pero que estén dentro del intervalo de la linealidad del sistema, incluyendo siempre el 100 % de la sustancia de interés por triplicado.

- **Límite de Detección**

Es la cantidad mínima de analito detectado bajo las mismas condiciones de operación pero no necesariamente cuantificada.

- **Selectividad**

Es la capacidad del método analítico para obtener una respuesta del analito de interés en presencia de los demás componentes de la muestra.

- **Recuperación**

Es una medida de la eficiencia del proceso de aislamiento del analito de interés de la matriz en la que se encuentra presente.

- **Robustez**

Es la capacidad del método de no sufrir alteraciones debido a pequeñas variaciones introducidas deliberadamente en los parámetros del método.

- **Estabilidad**

Se refiere al tiempo durante el cual las soluciones estándar y muestras que contienen el analito pueden ser utilizadas sin descomposición apreciable dentro de las condiciones experimentales fijadas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El agua subterránea es la principal fuente de abastecimiento de agua potable en el país, debido a que el cromo es un contaminante presente en algunas zonas de dicha fuente, y a que las exposiciones prolongadas a este elemento pueden causar cáncer y otros problemas de salud a los organismos vivos es muy importante su correcta cuantificación. En el Laboratorio de Química Analítica del Instituto de Geofísica encargado del análisis del agua de diversas regiones de la República Mexicana y preocupados por el monitoreo del cromo hexavalente, se utilizaron herramientas estadísticas para validar un método de determinación del cromo hexavalente, en las concentraciones máximas permisibles actualmente establecidas por la NOM-127-SSA-1994.

OBJETIVOS

Establecer un método analítico sensible de manera que pueda cuantificar el cromo hexavalente en agua subterránea, de forma precisa, exacta y reproducible.

Obtener las condiciones cromatográficas óptimas.

Analizar estadísticamente los resultados obtenidos por el método analítico utilizado.

HIPÓTESIS

El método analítico que utiliza la cromatografía de alta resolución iónica con detector UV permite cuantificar el cromo hexavalente a concentraciones 0.05 mg/L .

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Es un estudio prospectivo, experimental, longitudinal y descriptivo.

POBLACIÓN

Matriz de agua subterránea adicionada con concentraciones conocidas de cromo.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Inclusión: Líquido, pH 6-7, transparente, puede o no presentar color amarillo.

Exclusión: Presencia de Contaminantes (materiales orgánicos, partículas suspendidas muy grandes)

MATERIAL Y MÉTODO

Reactivos

- Dicromato de Potasio, ($K_2Cr_2O_7$).
- Ácido Bórico, (H_3BO_3).
- Ácido Glucónico, ($C_6H_{12}O_7$).
- Hidróxido de Litio Monohidratado, ($LiOH \cdot H_2O$).
- Glicerina, ($C_3H_8O_3$).
- Acetonitrilo, (ACN).
- Agua desionizada y filtrada a través de una membrana 0.45 μm al vacío con agitación suave constante, (Agua grado HPLC).

Material de vidrio

- Vasos de precipitados.
- Matraces volumétricos.
- Vidrio de reloj.
- Probeta.
- Micropipeta.
- Puntas de plástico para micropipeta.

Equipo

- Bomba binaria Waters modelo 1525
- Detector UV/Vis Waters 2489
- Columna IC Pack Anion HR
- Sonicador.

Software

- Waters® Breeze™ 2
- StatGraphics® Plus Versión 5.1

Preparación Concentrado Boro-Gluconato (CBG)

En un matraz volumétrico de 250 mL con 50 mL de agua, se colocan 3.0 g de hidróxido de litio monohidratado y 6.4 g de ácido bórico, esperar a que se disuelva el primero antes de agregar el segundo. Se miden 3.3 mL de ácido glucónico con una pipeta graduada y se adicionan a la mezcla. Una vez disuelto todo agregar aproximadamente 22.5 ± 0.5 mL de glicerina, aforar el matraz con agua desionizada y agitar durante un minuto. Una vez terminado, el CBG se puede utilizar o almacenar en refrigeración.

Preparación de la solución 1M de LiOH·H₂O

En un vaso de precipitados de 150 mL pesar 2.1 g de LiOH·H₂O, medir con una probeta 50 mL de agua, llevarlo a una parrilla de agitación y dejar agitando hasta que no se vea turbia la solución. Esta preparación puede refrigerarse cerrando con Parafilm.

Agua grado HPLC

Antes de la preparación de la fase móvil se recomienda filtrar al vacío dos litros de agua desionizada por membrana de 0.2 o 0.45 µm.

Preparación de la Fase Móvil (FM)

En una probeta de 250 mL medir 60 mL de CGB junto con 10 mL de acetonitrilo; agregar agua hasta los 250 mL, transferir los 250 mL de fase móvil a un vaso de precipitados de 500 mL; medir el pH y ajustar a un pH de 8.5-9.0 con 1M LiOH·H₂O. Una vez ajustado el pH, filtrar a través de una membrana de 0.2 o 0.45 µm al vacío con agitación suave. Ya que la fase móvil esté filtrada, transferirla a un reservorio de vidrio, cuidando de no provocar muchas burbujas de aire en el vaciado y sónica de 5 a 10 min.

Preparación de la Solución de Referencia (SR) de Dicromato de Potasio (K₂Cr₂O₇)

En un pesa filtro colocar la cantidad de 1 g de K₂Cr₂O₇, dejar secar en una estufa a una temperatura de 100 ± 10°C por una hora. Una vez transcurrido el tiempo, dejar enfriar a temperatura ambiente para después en un vidrio de reloj pesar con exactitud 5.7 mg de K₂Cr₂O₇ y transferirlos a un matraz volumétrico de 10 mL, aforar con agua HPLC y agitar hasta disolverse. Una vez terminada la SR puede almacenarse en refrigeración o ser utilizada.

Una vez realizada la preparación de las soluciones, el equipo cromatográfico se equilibra colocando la fase móvil junto con las siguientes especificaciones: velocidad de flujo de 1 mL min⁻¹, temperatura de 40 ± 0.5°C, dejando que la presión mantenga estable por unos 10 min para proceder a la inyección de las diferentes concentraciones de los puntos establecidos de la curva, la lámpara de UV debe estar encendida por 30 min antes del análisis.

Validación del Sistema

Para la preparación de la curva del sistema se realizó una dilución de la SR a una concentración de 2 ppm, se utilizó un matraz aforado de 25 mL limpio y seco. Con la micropipeta se midieron 500 μ L se colocaron en el matraz, se aforó con agua grado HPLC y se agitó por unos 5 segundos.

Una vez preparada la dilución de la SR, se prepararon los puntos de la Curva del Sistema de la manera en que se muestra en el **Cuadro 4**. Cada una de las concentraciones se hicieron por triplicado, para el aforo se utilizó agua grado HPLC, así como matraces limpios y secos. La concentración de 0.05 ppm se realizó por quintuplicado.

Cuadro 4. Concentraciones de la Curva del Sistema.

[ppm]	Volumen /Aforo	Repeticiones
Blanco	Agua HPLC	1
0.02	500 μ L / 25 mL	3
0.03	375 μ L / 25 mL	3
0.05	250 μ L / 10 mL	5
0.08	400 μ L / 10 mL	3
0.10	500 μ L / 10 mL	3

Estableciendo todas las condiciones de trabajo como ya se ha referido anteriormente, se procedió a inyectar los puntos de la curva empezando por la concentración más pequeña, e inyectando al inicio el blanco.

Validación del Método

Para la validación del método analítico se utilizó una matriz de agua subterránea a la cual no se le hizo ningún tipo de tratamiento, se le agregó el estándar de dicromato, cuya preparación se realizó de la misma manera que para la curva del sistema, así como su dilución. Una vez que se prepararon dichas soluciones, se utilizaron las cantidades que se muestran en el **Cuadro 5** para los puntos de la curva, se agregaron las cantidades correspondientes a cada uno de los matraces y se aforaron con

agua subterránea, antes del análisis se inyectó un blanco de la matriz para observar si contenía cromo originalmente.

Una vez terminada la inyección de los puntos de la curva, se utilizaron los cromatogramas para cuantificar el área bajo la curva a través del software del equipo.

Cuadro 5. Concentraciones para Curva del Método

[ppm]	Volumen/Aforo	Número de Inyecciones
Blanco	Agua Subterránea	1
0.04	500 μ L/25m L	3
0.05	250 μ L/10mL	5
0.06	300 μ L/10mL	3

RESULTADOS

Las condiciones del método para la cuantificación de cromo hexavalente en agua subterránea fueron: una velocidad de flujo de 1 mL min.⁻¹; una temperatura de 40°C; una fase móvil cuya composición fue 60 mL de CBG con 10 mL de acetonitrilo, el volumen de cada una de las inyecciones fueron establecidas por un loop de 100 µL. Bajo estas condiciones se obtuvieron los cromatogramas, y mediante el uso del software se calcularon las áreas bajo la curva para cada una de las concentraciones utilizadas para la validación del método analítico, tal como se muestran en la **Figura 3**. Antes de las inyecciones del agua adicionada con una concentración conocida de cromo, se inyectó agua grado HPLC, como se observa en la **Figura 4**.

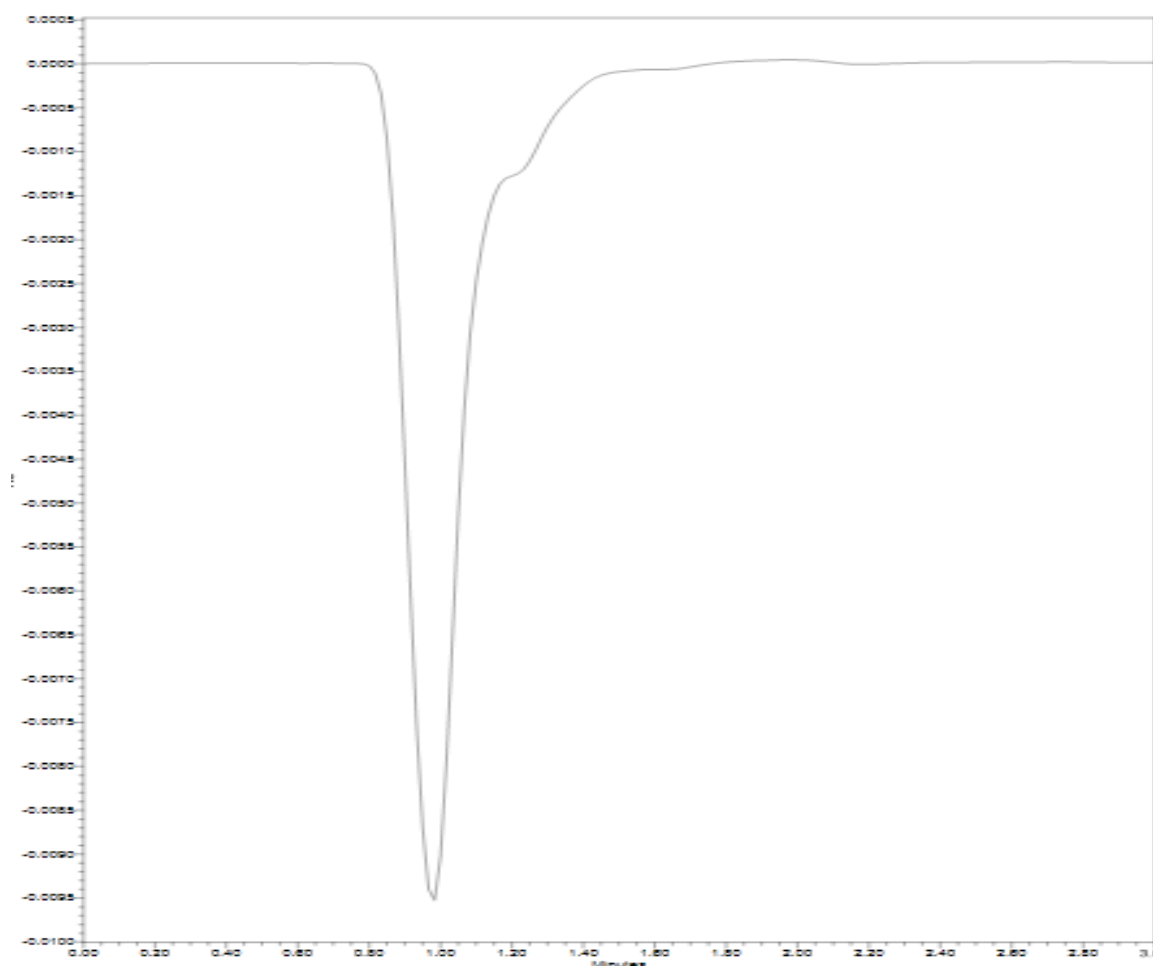


Figura 3. Cromatograma de agua grado HPLC

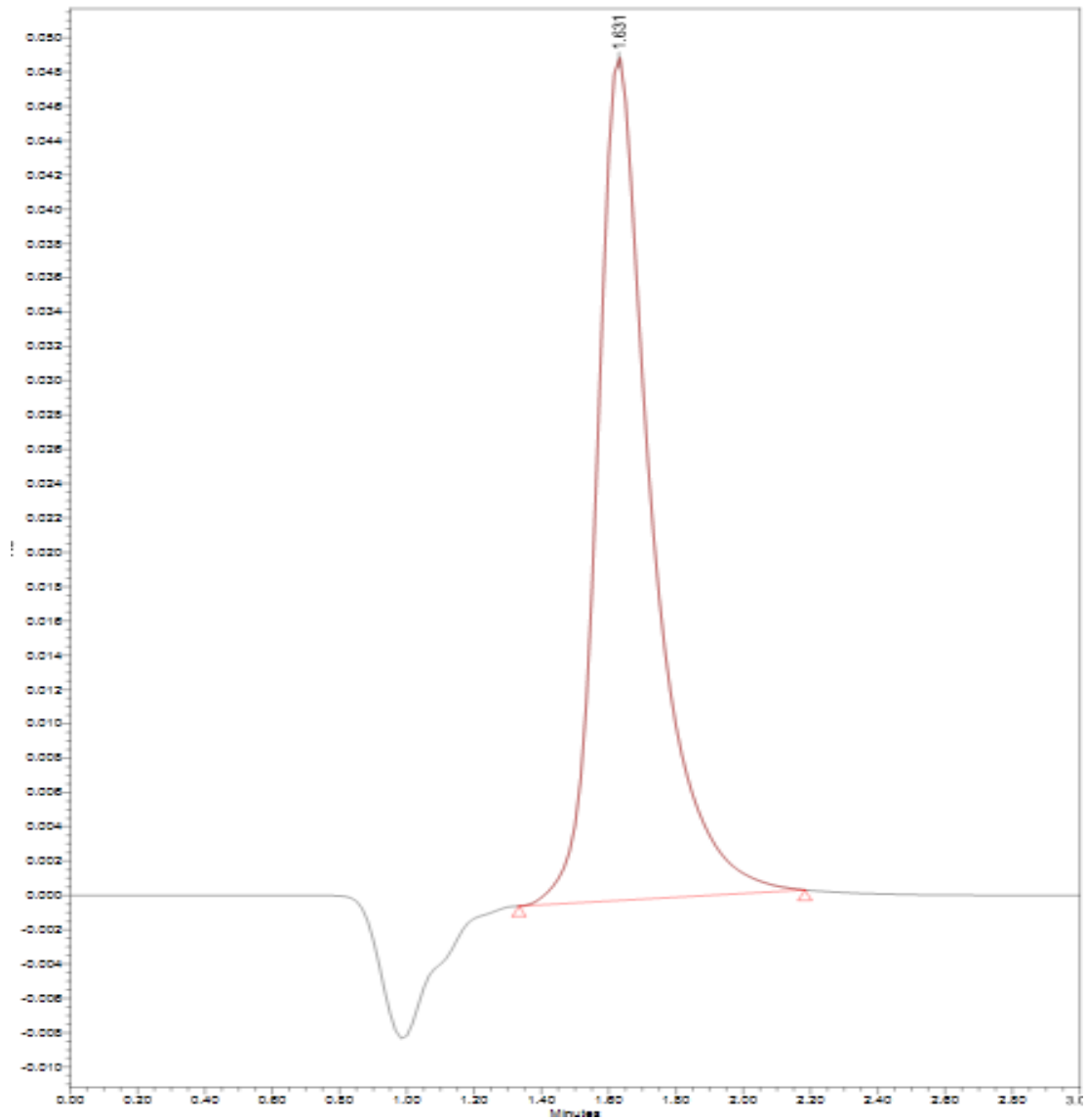


Figura 4. Cromatograma de 0.05 ppm de dicromato

Linealidad de sistema

Se construyó una curva de calibración con cinco niveles de concentración, los cuales son: 0.02, 0.03, 0.05, 0.08 y 0.10 ppm, realizando tres repeticiones por cada nivel de concentración, utilizando agua grado HPLC. En la **Figura 5** se observa la curva construida a partir de las áreas bajo la curva correspondientes a cada concentración.

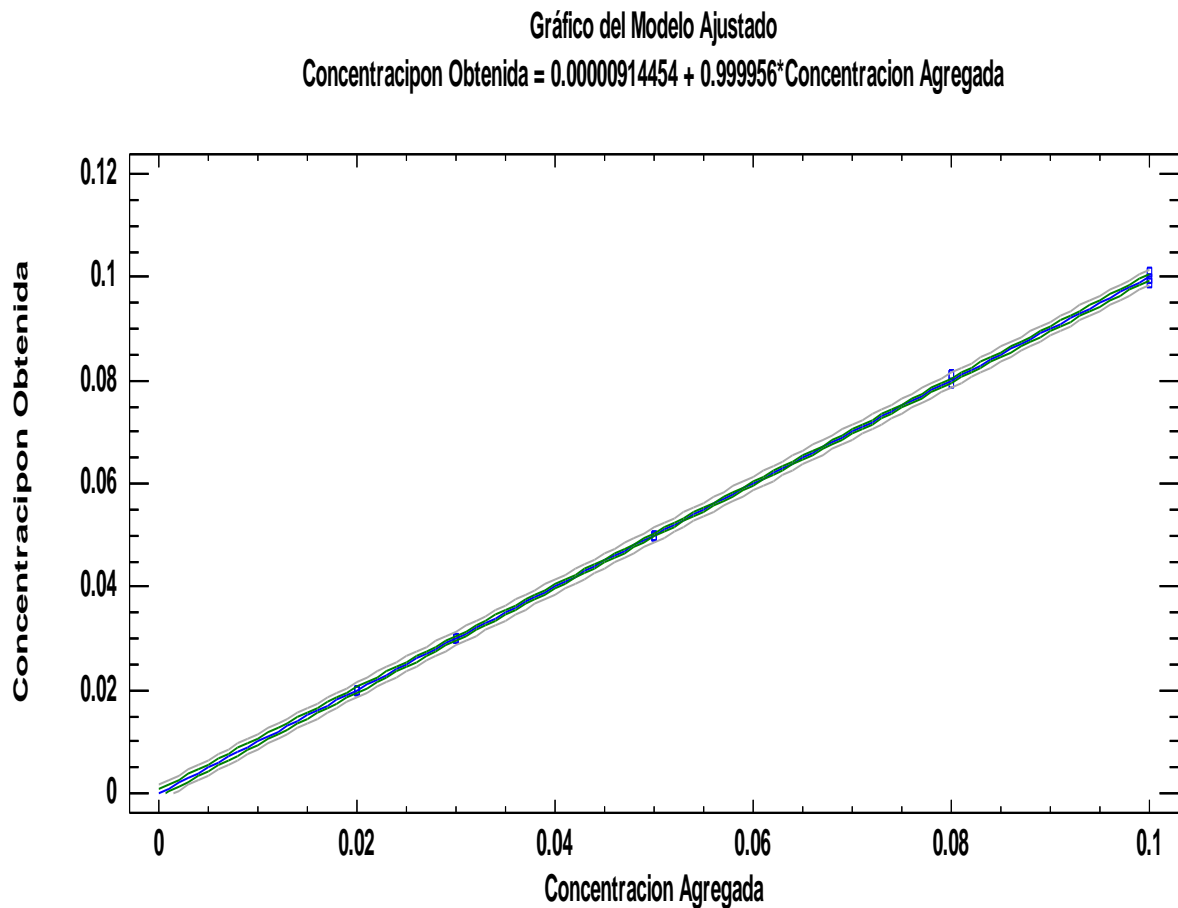


Figura 5. Curva de Linealidad del Sistema

Cuadro 6. Valores de t para m y b en la Linealidad de Sistema

<i>Parámetro</i>	<i>Mínimos Cuadrados Estimado</i>	<i>Estándar Error</i>	<i>Estadístico T</i>	<i>Valor-P</i>
Intercepto (b)	0.00000914454	0.000341522	0.0267759	0.9790
Pendiente (m)	0.999956	0.00537314	186.103	0.0000

En el **Cuadro 6** se puede observar que el valor-P para la significación de la pendiente es 0.000 menor que 0.05, cumple con la linealidad del sistema. Por otra parte, en el **Cuadro 7** se puede observar que se hace una prueba estadística para explicar el comportamiento de los datos, obteniendo una significancia menor que 0.05, corroborando de esta forma que los datos se explican de una mejor forma utilizando un modelo lineal.

Cuadro 7. Análisis de Varianza para el modelo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	0.0135588	1	0.0135588	34634.27	0.0000
Residuo	0.00000508931	13	3.91485E-7		
Total (Corr.)	0.0135639	14			

Precisión y Exactitud del Sistema

Se determinó haciendo cinco repeticiones correspondientes a 0.05 ppm, obteniendo un coeficiente de variación de 0.63% el cual es menor que 1.5% con lo que se cumple el criterio de precisión del sistema. En el **Cuadro 8**, se observan las concentraciones obtenidas de las seis repeticiones mediante la curva de calibración.

Cuadro 8. Precisión del Sistema

0.049887
0.049056
0.049786
0.049753
0.049827
0.049825
\bar{x} = 0.04969
S= 0.0003134
CV= 0.63075%

Linealidad del método

Se realizó una curva con tres niveles de concentración correspondientes a 0.04, 0.05 y 0.06 ppm de dicromato de potasio, estas cantidades fueron agregadas a 10 matrices de agua subterránea, por triplicado y fueron inyectadas a través del sistema, con las condiciones de trabajo establecidas con anterioridad; utilizando el programa estadístico se obtuvo el comportamiento de los datos que mostraron una tendencia lineal que se ilustra en la **Figura 6**. Mediante el uso del programa StatGraphics® Plus Versión 5.1 estadístico también se obtuvo el coeficiente de correlación de 0.999519 y una R-cuadrada de 0.999038, cumpliendo con los parámetros de linealidad para el método. La ecuación del modelo ajustado es $[] \text{ obtenida} = -0.00000833333 + 1.00017 * [] \text{ real}$.

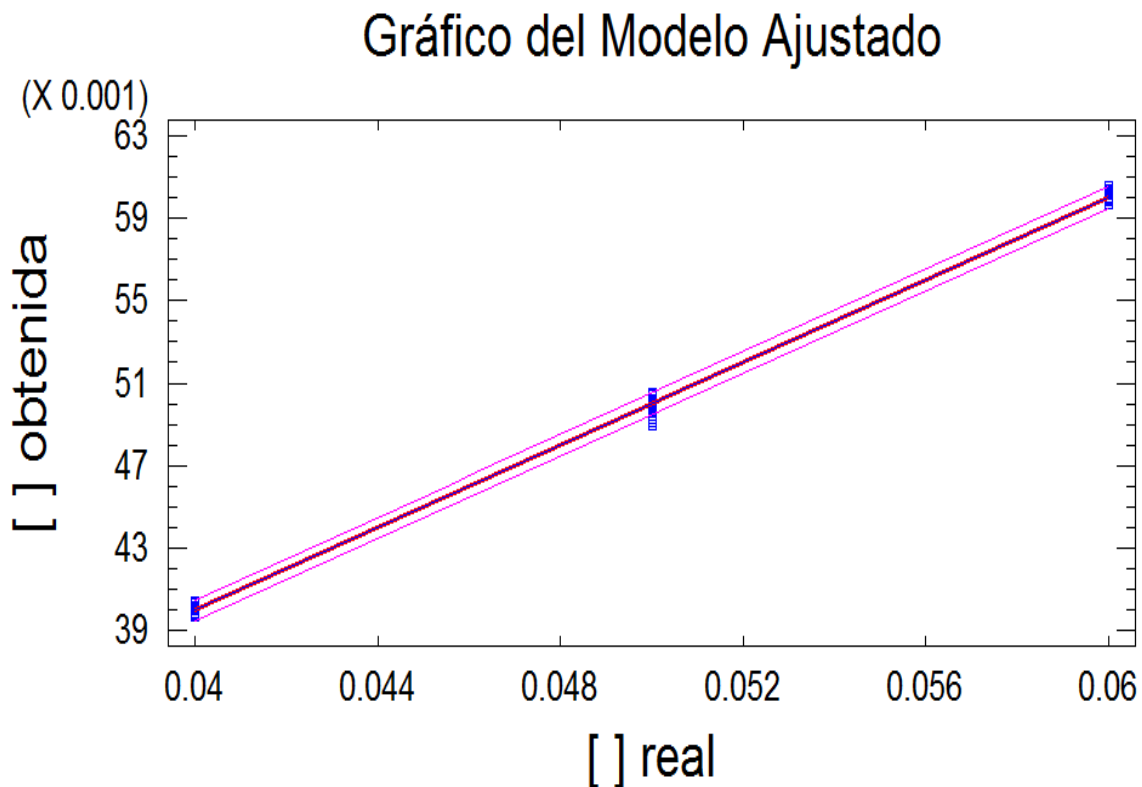


Figura 6. Linealidad del método.

Los valores para la pendiente (m), ordenada al origen (b) así como para el modelo lineal se pueden observar en los **Cuadros 9 y 10**, para pendiente se probó el grado de significancia, obteniendo un valor-P de 0.00 el cual es menor que 0.05 con lo que cumple con la linealidad del método, para el modelo lineal el valor-P es de 0.00 menor que 0.05 por lo que el modelo lineal explica mejor el comportamiento de los datos con lo que cumple con los parámetros de la linealidad.

Cuadro 9. Valores de t para b y m en la Linealidad del Método

<i>Parámetro</i>	<i>Mínimos Cuadrados Estimado</i>	<i>Estándar Error</i>	<i>Estadístico T</i>	<i>Valor-P</i>
Intercepto (b)	-8.33333E-06	0.00016762	-0.0497157	0.9605
Pendiente (m)	1.00017	0.00330857	302.295	0.0000

Cuadro 10. Análisis de Varianza para el Modelo lineal

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	0.006002	1	0.000602002	91382.57	0.0000
Residuo	0.00000577983	88	6.56799E-8		
Total (Corr.)	0.00600778	89			

Exactitud y Repetitividad al 100%

De acuerdo con la linealidad del método se obtuvo el porcentaje de recobro, en otras palabras, la cantidad que se recuperó mediante el uso del método, al agregar cada uno de los valores correspondientes a los puntos establecidos en la curva, expresada como porcentaje. Como es posible observar en los **Cuadros 11 y 12**, debido a que para métodos cromatográficos se establece un criterio para el $C.V. \leq 2.0\%$, se cumple con el criterio para las cantidades agregadas a las diferentes matrices. Otro parámetro que es evaluado es el intervalo de promedio de recobro, que va de 98 al 102%, el método también cumple con este parámetro como se observa en los **Cuadros 14 y 12**, cada una de las matrices tiene un promedio de alrededor del 100%, con lo que el método cumple para el porcentaje de recobro.

Cuadro 11. Porcentaje de recobro para cada una de las matrices analizadas.

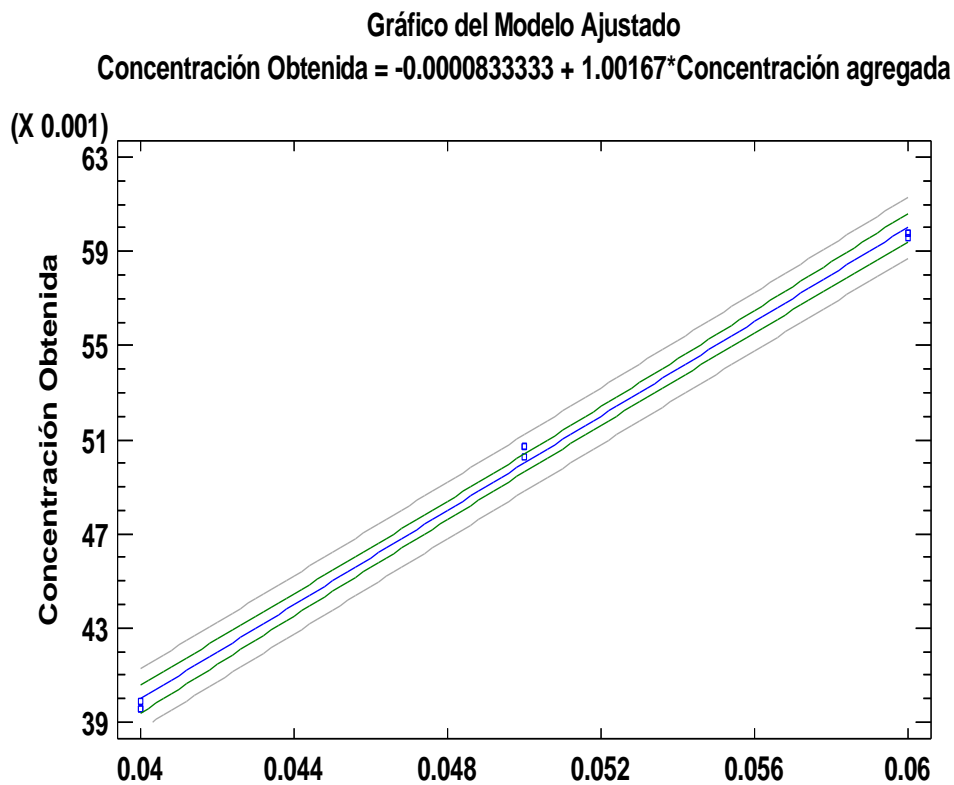
Adicionado	Xot 4 %recuperado	Viv Reloj %recuperado	Tul 10 %recuperado	Tul 1 %recuperado	Peri 4 %recuperado
0.0400	100.4065	100.2411	101.0483	100.2400	100.4637
0.0400	100.2060	100.4877	101.0771	100.1852	99.9801
0.0400	100.8258	100.1532	101.0579	99.8314	100.2991
0.0500	99.2606	100.0734	98.6116	99.8592	99.7369
0.0500	99.1294	99.1806	98.2408	99.9210	99.7451
0.0500	99.3086	99.3350	98.0545	99.8094	99.3295
0.0600	100.1564	100.2334	100.5622	100.0836	100.0325
0.0600	100.4394	100.4239	100.6839	99.9557	100.1971
0.0600	100.3630	99.9306	100.8760	100.1317	100.2657
X=	100.0107	100.0065	100.0236	100.0019	100.0055
S=	0.614482	0.457855	1.310134	0.161626	0.353356
CV=	0.614416	0.457825	1.309825	0.161623	0.353336

Cuadro 12. Porcentaje de recobro para cada una de las matrices analizadas.

Adicionado	Pedregal Imán %recuperado	Xotepingo 5 %recuperado	Educación 2 %recuperado	Carrasco %recuperado	Caracol %recuperado
0.0400	99.6757	100.0478	99.9581	99.7668	100.0976
0.0400	100.1011	99.8364	99.3215	99.7105	100.0778
0.0400	99.9304	99.5102	100.1726	99.3881	100.1124
0.0500	100.2857	100.1626	100.4512	100.1622	99.9656
0.0500	100.2983	100.4052	100.1607	100.9033	99.6144
0.0500	99.8845	100.4011	100.2645	100.7498	99.9597
0.0600	100.1199	100.0642	99.8353	99.5659	100.0371
0.0600	99.9939	99.6718	99.8605	100.0419	100.0223
0.0600	99.6911	99.8603	99.9391	99.6358	100.1325
X=	99.9978	99.9955	99.9959	99.9916	100.0021
S=	0.227473	0.306540	0.324304	0.529072	0.157762
CV=	0.227478	0.306554	0.324317	0.529117	0.157759

Reproducibilidad

Para la reproducibilidad se utilizó una matriz diferente a las analizadas, por lo que se realizó la validación del método utilizando la matriz Padierna 5, que se muestra en el Gráfico 3 obteniendo una m de 1.00167, una b de -0.000008, una R -cuadrada de 0.9966. Para la precisión intermedia se utilizaron dos analistas que trabajaron en días diferentes, bajo las mismas condiciones de trabajo, obteniendo los porcentajes de recobro para la concentración de 0.05 ppm, los resultados de análisis estadístico ANOVA para estos resultados se muestran en el **Cuadro 13** y **14**, donde se observa que existe precisión intermedia entre los días, pero no entre los analistas.



Cuadro 13. Precisión Intermedia expresado en porcentaje

Día	Analista	
	1	2
	1	99
	98	100
	99	99
2	100	101
	100	101
	100	101

Cuadro 14. ANDEVA para Precisión de Sistema

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Analista	0.0	1	0.0	0.00	1.0000
Día(Analista)	8.33333	2	4.16667	25.00	0.0004
Residuo	1.33333	8	0.166667		
Total (corregido)	9.66667	11			

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el desarrollo del método analítico se utilizó un detector UV/Vis. para aumentar la selectividad debido a que en la muestra de agua subterránea puede haber altas concentraciones de aniones inorgánicos que podrían interferir en la determinación de cromato, otro de los factores que puede influir es el pH, como se ha escrito anteriormente los cromatos son estables en el intervalo de 8.5 a 9.0, es por eso que se utilizó una solución de hidróxido de litio para ajustar el pH de la fase móvil, antes de ser utilizada, también se usó una cromatografía iónica de una sola columna o cromatografía no suprimida.

En la curva de calibración como se puede apreciar en la **Figura 5** se usó agua HPLC adicionada con dicromato de potasio, se estableció un intervalo de concentración que va de 0.02 ppm a 0.10 ppm, la curva obtuvo un coeficiente de correlación de 0.9999%, con lo que se explica que la respuesta obtenida por el equipo de acuerdo con cada concentración agregada de cromo se representa de una

manera adecuada mediante un modelo lineal, con lo que la mayoría de los datos se comportan de esta forma. Se hicieron pruebas estadísticas para la pendiente y ordenada al origen, con lo que existe evidencia suficiente para pensar que el sistema es lineal. No se detectó algún tipo de ion o interferencia en el agua HPLC. No mostró un coeficiente de variación mayor que 1.5% en cada uno de los niveles de concentración con lo que se puede enunciar que el sistema es lineal.

En la curva del método como se puede observar en la **Figura 6**, se usaron las concentraciones de 0.04, 0.05 y 0.06 ppm, de acuerdo a los resultados se obtuvo una R-cuadrada de 0.999038% que explica el 99.9% de la variabilidad en la concentración obtenida con respecto a la línea recta. El coeficiente de correlación indica que la concentración obtenida y la concentración agregada tienen una respuesta lineal. También como se puede observar en el **Cuadro 9 y 10** se realizaron pruebas de hipótesis para la pendiente, ordenada al origen y el modelo lineal, mostrando con esto que el método es lineal para la determinación de cromo.

Para la precisión intermedia que se observa en el **Cuadro 12** se realizó un ANDEVA para determinar si existía precisión intermedia entre los días y entre los analistas. Al parecer existe precisión intermedia entre los días pero no entre los analistas, esto fue debido a que no se mantuvo un control en cuanto a los reactivos, también a que la parte del pipeteo del método la cual requiere cuidado. También pudo ser debido al pesar el estándar, y/o al tiempo de secado del estándar. Algunas interferencias que afectan la exacta determinación del Cr(VI) pueden ser resultado de varias fuentes, por ejemplo: Se pueden encontrar en pequeñas trazas de Cr(VI) en las sales de grado reactivo. También puede ser debido a una limpieza inapropiada del material de vidrio o contacto con reactivos cáusticos o ácidos. En el caso de muestras que se tenga la sospecha de que estén contaminadas por cromo puede ocurrir la oxidación del Cr(III) al Cr(VI) en un medio alcalino en la presencia de oxidantes como Fe(III) y manganeso oxidado o como resultado de la aeración que ocurre en los procesos de extracción. La reducción del Cr(VI) a Cr(III) puede ocurrir en la presencia de especies reductoras en un medio ácido. Al pH de 6.5 o más ácido, sin embargo el HCrO_4 se convierte a CrO_4^{2-} el cual es menos reactivo que el HCrO_4 .

CONCLUSIONES

Se estableció un método analítico lineal, preciso, exacto y reproducible que permite la cuantificación de cromo hexavalente en una matriz de agua subterránea mediante la cromatografía de intercambio iónico utilizando un detector UV, el método resulto adecuado para el monitoreo de agua potable que sea susceptible a contaminación por cromo.

Las condiciones instrumentales establecidas para el método analítico: flujo de la fase móvil, temperatura, columna de intercambio iónico, así como el pH de la fase móvil a una longitud de onda de 365 nm, resultaron óptimas por estar acorde con los criterios de aceptación estadísticos.

La aplicación del método desarrollado para cuantificar Cr(VI) en agua de pozos del suroeste del D.F., demostró que la concentración no fue mayor que los límites establecidos por la norma oficial mexicana. De esta manera se puede tener bajo vigilancia continua los yacimientos de agua potable y asegurar su calidad.

REFERENCIAS

1. World Health Organization. Chromium (VI) Compounds. IARC.
2. Grevatt CP. Toxicological Review of Hexavalent Chromium. Washington, DC; EPA: 1998.
3. Independent Environmental Technical Evaluation Group. Chromium (VI) Handbook. Guerth J, Jacobs A J, Avakian P C, editores. USA: CPC press; 2005.
4. Spelling M, Townshend A, Poole C. Chromium. Encyclopedia of Analytical Science. 2005; 113-15.
5. World Health Organization. Guidelines for Drinking-water Quality. 4ta ed. 2011.
6. Mertz W. Chromium Occurrence and Function in Biological Systems. *Physiol. Rev.* 1969; 49; 165-68.
7. Shrivastava R, Upreti RK, Seth PK, Chaturvedi UC. Effects of Chromium on the Immune System. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2002; 34; 1-7.
8. Bagchi D, Stohs JS, Downs BW, Bagchi M, Preuss HG. Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium. *Toxicology.* 2002; 180; 5-22
9. Jenkins JA. Pharmacokinetics: Basic concepts and Models. En: Karch SB, editor. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Abused Drugs.* USA: CRC Press Taylor & Francis group, 2008. p. 2-14
10. Stern AH. A quantitative assessment of the carcinogenicity of hexavalent chromium by the oral route and its relevance to human exposure. *Environ. Res.* 2010; 110(8): 798-807.
11. Dong MW. *Modern HPLC for Practicing Scientists.* Wareham: Wiley-Interscience; 2006.
12. Rubinson KA, Rubinson J F. Análisis Instrumental. Capella I, editor. Madrid: PEARSON EDUCACIÓN S.A.; 2001.
13. Weiss J. *Ion Chromatography.* 2da ed. Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo: VCH; 1995.
14. Grafova I, Wilson ID, Townshend A, Poole C. Ion Exchange Historical Development. *Encyclopedia of Analytical Science.* 2005; 1577-84.
15. Fritz SJ, Gjerde TD. *Ion chromatography.* 4ta ed. República Federal de Alemania: Wiley-VCH; 2009.
16. Yashin, YI, Yashin AY, Townshend A, Poole A, Woalton HF. Ion Exchange Ion Chromatography Instrumentation. *Encyclopedia of Analytical Science.* 2005; 453-60.
17. Harvey, D. *Química Analítica Moderna.* Madrid, México: McGraw-Hill Interamericana de España, 2004
18. Pasquali RC. *Química Ambiental.* Argentina: Universitas, 2004.
19. Radojevic M, Bashking VN. *Practical environmental analysis.* 2da ed. Cambridge UK: Royal Society of Chemistry, 2006.
20. Perk MD. *Soil and water contamination: from molecular to catchment scale.* London: Taylor and Francis group, 2006.

21. Xagorarakis I, Kuo D, Heggenhougen K, editor. Water pollution: Emerging Contaminants Associated with Drinking water. *International Encyclopedia of Public Health*, 2008; 539-50.
22. World Health Organization. Chemical fact sheets. *Guidelines for Drinking Water Quality*. 4ta ed. Ginebra: 2011.
23. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA-1-1994, Salud ambiental, agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. *Diario Oficial de la Federación*, 20 de junio de 2000.
24. Kotás J, Stasicka Z. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. *Environm Pollut*: 2000;107; 263-83.
25. Armienta, MA y Rodríguez, R Hydrogeochemical Behavior of Chromium in the Unsaturated Zone and in the Aquifer of León Valley, México. *Water, Air Soil. Poll*: 1994;84;11-29.
26. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. *Standard Methods for Examination of Water & Wastewater*. 21ra ed. Washington DC: Centennial; 2005.
27. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos. *Validación de Métodos Analíticos*. 1-72.
28. Lanças FM. *Validação de Métodos Cromatográficos de análise*. Vol.6. São Carlos: RiMa; 2004.

Apéndice 1



Figura 7. Equipo cromatográfico Waters



Figura 8. Bomba de Equipo Waters



Figura 9. Columna IC Pack Anion HR

Apéndice 2

6 RECOLECCIÓN, PRESERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

- 6.1 Se debe tomar un mínimo de 300 mL de muestra en frascos de vidrio.
- 6.2 Para determinar el Cr (VI) disuelto, es necesario filtrar la muestra con papel filtro de poro fino. Después de la filtración se debe acidificar con ácido nítrico concentrado (HNO_3) hasta un $\text{pH} < 2$.
- 6.3 Todas las muestras deben refrigerarse a una temperatura de 4°C hasta su análisis.
- 6.4 Cuando se sospecha la presencia de hipobromito, persulfato o cloruros, las muestras deben ser analizadas inmediatamente.
- 6.5 El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de 24 h.