



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

PRECONCENTRACIÓN EN LÍNEA DE As (V) Y As (III) UTILIZANDO UN  
SISTEMA DE ANÁLISIS POR INYECCIÓN SECUENCIAL

**TESIS**

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q. GUADALUPE GARCÍA GONZÁLEZ

DRA. MARÍA DEL PILAR CAÑIZARES MACÍAS  
FACULTAD DE QUÍMICA

MÉXICO, D.F., FEBRERO 2016



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **Jurado asignado**

Presidente: Dra. María Guadalupe Albarrán Sánchez

Vocal: Dra. María Aurora Armienta Hernández

Vocal: Dra. Martha Patricia García Camacho

Vocal: Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez

Secretario: Dr. Julio César Aguilar Cordero

## **Lugar donde se desarrolló la tesis**

Laboratorio 211, Edificio F, Facultad de Química, UNAM

## **Tutor de tesis**

-----

Dra. María del Pilar Cañizares Macías

Este trabajo se presentó en el XXVIII Congreso Nacional de Química Analítica 2015 bajo la modalidad oral y en el evento denominado QuimiUNAM 2015 bajo la modalidad de cartel.

### AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por la formación que me brindó y lo mucho que logré aprender.

A la Facultad de Química que me dio la oportunidad de profundizar en mi formación.

A la Coordinación del Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas.

A la Dra. María del Pilar Cañizares Macías, por darme la oportunidad de trabajar con ella y por todas sus enseñanzas y apoyo en el desarrollo del proyecto.

A la Dra. María Guadalupe Albarrán Sánchez, a la Dra. María Aurora Armienta Hernández, a la Dra. Martha Patricia García Camacho, a la Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez y al Dr. Julio César Aguilar Cordero, por el tiempo brindado a la revisión de mi trabajo y las observaciones que realizaron para mejorarlo.

A mis amigos y compañeros del laboratorio 211 del edificio F por compartir tanto tiempo juntos y aprender de ustedes.

Al CONACYT por la beca otorgada para realizar mis estudios de maestría con número de CVU 555051 y número de becario 295796.

A la Facultad de Química por el apoyo económico dentro del programa PAIP 5000-9029.

## DEDICATORIAS

A las personas que más amo en esta vida, a mi familia.

A mi madre por el inmenso amor y apoyo que me han brindado durante toda mi vida. A mi padre por siempre luchar para darnos lo mejor y porque siempre vas a estar en mi corazón.

A mis hermanos Sandy, Héctor y Paco por compartir su vida conmigo. A Salva Hernández por permitirme ser parte de su vida.

A todos mis amigos por su amor y apoyo.

ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	vi
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	ix
<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	3
<b>OBJETIVOS</b>	
Objetivo general.....	5
Objetivos particulares .....	5
<b>HIPÓTESIS</b> .....	5
<b>CAPÍTULO I. FUNDAMENTO TEÓRICO</b>	
1.1 Procedencia del arsénico.....	6
1.1.1 Niveles ambientales de arsénico .....	6
1.2 Importancia de la especiación de arsénico.....	8
1.3 Detección de arsénico .....	9
1.3.1 Métodos colorimétricos .....	10
1.3.1.1 Espectroscopía de absorción molecular UV/visible.....	10
1.3.1.2 Instrumentación para espectroscopía utilizando métodos en flujo .	11
1.3.1.2.1 Fuente de radiación.....	11
1.3.1.2.2 Selector de longitud de onda .....	11
1.3.1.2.3 Celda de flujo (recipiente para la muestra).....	12
1.3.1.2.4 Detector .....	12
1.3.1.2.5 Fibra óptica: propagación de la radiación.....	14
1.3.1.3 Reacción de formación del azul de molibdeno .....	15
1.3.1.4 Otras reacciones colorimétricas.....	17
1.3.2 Métodos basados en luminiscencia.....	17

1.3.2.1 Fluorescencia .....	17
1.3.2.2 Quimioluminiscencia.....	19
1.3.3 Métodos electroquímicos.....	20
1.3.3.1 Voltamperometría .....	20
1.3.3.1.1 Electrodo de trabajo para la cuantificación de arsénico .	21
1.3.3.2 Amperometría .....	22
1.3.4 Métodos basados en espectrometrías atómicas .....	23
1.3.4.1 Espectroscopía de absorción atómica (AAS) y espectroscopía de fluorescencia atómica (AFS).....	23
1.3.4.2 Espectroscopía de absorción atómica-horno de grafito (GF-AAS)	23
1.3.4.3 Espectroscopía de absorción atómica-generador de hidruros (HG-AAS).....	24
1.3.4.4 Espectroscopía de emisión atómica- Plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) y Espectrometría de masas plasma de argón de acoplamiento inductivo (ICP-MS) .....	25
1.3.5 Biosensores .....	26
1.4 Métodos de especiación y/o preconcentración.....	27
1.4.1 Extracción en fase sólida (SPE por sus siglas en inglés).....	27
1.4.1.1 Intercambiadores iónicos.....	29
1.4.1.2 Aplicación de la extracción en fase sólida (SPE).....	30
1.4.2 Cromatografía de líquidos y de gases .....	33
1.5 Oxidación de arsenitos .....	33
1.6 Análisis por inyección secuencial .....	34
1.6.1 Componentes de un sistema de Análisis por inyección secuencial.....	35
1.6.2 Ventajas del análisis por inyección secuencial.....	36
1.6.3 Características del análisis por inyección secuencial .....	37

1.6.4 Respuesta para el análisis por inyección secuencial (Siagrama).....	38
1.5.5 Dispersión.....	39
1.5.6 Solapamiento de zonas .....	41
<b>CAPÍTULO II. METODOLOGÍA</b>	
2.1 Materiales y reactivos .....	43
2.1.1 Instrumentación .....	43
2.1.2 Reactivos .....	43
2.1.3 Preparación de disoluciones.....	44
2.2 Desarrollo experimental.....	45
2.2.1 Estudio para As(V).....	46
2.2.1.1 Configuración SIA para As(V).....	44
2.2.2 Método de preconcentración de As(V) .....	47
2.2.2.1 Preconcentración en línea de As(V) utilizando una resina de intercambio aniónico fuerte (QAE Sephadex A.-25).....	47
2.2.2.1.1 Diseño experimental para la optimización de la preconcentración de As(V) .....	48
2.2.3 Estudio para As(III) .....	49
2.2.3.1 Oxidación de As(III) a As(V) en línea.....	49
2.2.3.1.1 Diseño experimental para la optimización de la oxidación de As(III) a As(V) .....	50
2.2.4 Métodos de preconcentración para As(III).....	51
2.2.4.1 Método de preconcentración de As(III) como As(V) utilizando una resina de intercambio aniónico fuerte (QAE Sephadex A.-25) .....	51
2.2.4.2 Preconcentración de As(III) en medio alcalino utilizando una resina de intercambio aniónico fuerte (QAE Sephadex A.-25).....	51
2.3 Cálculos .....	51



2.3.1 Cálculo de factor de preconcentración .....	51
2.3.2 Cálculos de los límites de detección y cuantificación de las curvas de calibración.....	52
2.4 Evaluación de los métodos .....	54
2.4.1 Repetibilidad .....	54
<b>CAPÍTULO III. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS</b>	
3.1 Determinación de As(V).....	56
3.1.1 Implementación de la configuración de análisis por inyección secuencial (SIA) para arsenatos.....	56
3.1.1.1 Estudio de los parámetros químicos.....	58
3.1.1.1.1 Evaluación de disolución de molibdato de amonio en medio ácido .....	58
3.1.1.2 Estudio de los parámetros físicos e hidrodinámicos.....	59
3.1.1.2.1 Evaluación del diámetro interno del reactor .....	60
3.1.1.2.2 Estudio del caudal .....	61
3.1.1.2.3 Estudio de volúmenes de reactivos y muestra .....	61
3.1.1.3 Curva de calibración para As(V).....	61
3.1.1.4 Evaluación de la precisión del método .....	63
3.2 Preconcentración de As(V).....	64
3.2.1 Evaluación de la preconcentración en línea de arsenatos .....	64
3.2.1.1 Estudio del eluyente .....	65
3.2.1.2 Estudio de los parámetros hidrodinámicos.....	65
3.2.1.2.1 Evaluación del volumen y caudal de carga de As(V).....	67
3.2.1.2.2 Evaluación del volumen y caudal de elución de As(V).....	68

3.2.1.2.3 Evaluación del pH de la disolución de As(V) .....	68
3.2.1.2.4 Evaluación del largo de la columna .....	69
3.2.1.3 Evaluación del factor de preconcentración para As(V).....	70
3.2.1.4 Curva de calibración para As(V) preconcentrado .....	71
3.3 Determinación de As(III) .....	73
3.3.1 Estudio de la oxidación en línea de As(III) a As(V) con MnO <sub>2</sub> .....	73
3.3.1.1 Evaluación de los parámetros hidrodinámicos en la oxidación de As(III) .....	73
3.3.1.1.1 Evaluación del caudal de oxidación.....	74
3.3.1.1.2 Estudio del largo de la columna.....	75
3.3.1.1.3 Evaluación del pH de la disolución de As(III) .....	76
3.3.1.1.4 Evaluación del volumen de muestra.....	77
3.3.1.2 Curva de calibración para As(III) .....	78
3.3.1.3 Evaluación de la precisión del método .....	79
3.4 Preconcentración de As(III) .....	80
3.4.1 Evaluación de la preconcentración en línea de As(III) una vez que ha sido oxidado a As(V) .....	80
3.4.1.1 Curva de calibración de la preconcentración de As(III) una vez oxidado como As(V) .....	81
3.4.2 Preconcentración de As(III) en medio alcalino empleando la resina de intercambio aniónico fuerte (QAE Sephadex A-25).....	82
3.4.2.1 Curva de calibración de la preconcentración de As(III) .....	83
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>86</b>
<b>PERSPECTIVAS</b> .....	<b>88</b>
<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>89</b>

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1.1	Estructura química de los compuestos más comunes de arsénico	9
1.2	Celda de flujo	12
1.3	Representación esquemática de un detector de acoplamiento de carga. a) Vista de una sección transversal, donde se ve la generación de carga, y su almacenamiento en cada pixel. b) Vista desde arriba, donde se aprecia la naturaleza bidimensional de una estructura concreta	13
1.4	Construcción de una fibra óptica	15
1.5	a) Reacción para formación del heteropolíacido de molibdeno. b) Estructura de $\alpha$ Keggin para el azul de molibdeno	16
1.6	a) Esquema simplificado de las transiciones electrónicas durante la fluorescencia. Niveles energéticos vibracionales no se muestran. b) Esquema simplificado de las transiciones electrónicas durante la fluorescencia. La diferencia en emisión llega de la diferencia en los niveles	18
1.7	Procedimiento para la extracción en fase sólida	28
1.8	Diagrama de distribución de especies, a) As(III) y b) As(V)	31
1.9	Representación de zonas de reactivo y muestra. a) Apilados en el bucle de espera b) En el reactor después de revertir el flujo. R: zona de reactivo, M: zona de muestra y ZT: Zona de traslape	35
1.10	Esquema de un sistema básico SIA	35
1.11	Potencial del sistema SIA para el pre-tratamiento de muestras	37
1.12	Representación de un siagrama. a) curva de calibración, la altura del pico va aumentando al aumentar la concentración de los estándares inyectados. b) ampliación de un pico, A: Área de pico, H: Altura, W: Ancho	38
1.13	a) Transporte convectivo. b) Transporte difusional	39

1.14	Una zona de muestra homogénea (arriba a la izquierda), la cual es dispersada debido al movimiento a través de un reactor tubular (arriba al centro) así cambia de un perfil original cuadrado (abajo a la izquierda) de una concentración original $C^{\circ}$ a un gradiente de concentración continuo con una concentración máxima $C^{\max}$ en la cima del pico	40
1.15	a) Efecto de la dispersión por el volumen de muestra, el volumen en $\mu\text{L}$ . b) Efecto de la longitud del reactor, L: longitud en cm	40
1.16	Descripción de la zona de traslape. R: zona de reactivo, M: zona de muestra y $I_D$ es el punto de isodispersión y $W_r$ , $W_o$ y $W_m$ son los anchos de las zonas de reactivo, traslape y muestra respectivamente	41
2.1	Diagrama de metodologías desarrolladas en este trabajo	45
2.2	Configuración I. Esquema general de la configuración SIA para determinar As(V). Ácido ascórbico (6%), molibdato de amonio (0.6% en ácido sulfúrico 0.3 mol/L). Portador: Agua desionizada	46
2.3	Configuración II. Esquema general para la preconcentración de As(V) empleando la minicolumna de resina de intercambio aniónico fuerte (QAE Sephadex A-25)	47
2.4	Configuración III. Esquema general para oxidación de As(III)	49
3.1	a) Efecto de la concentración de ácido sulfúrico en la reacción de azul de molibdeno y b) Señal del blanco con respecto a la concentración de ácido sulfúrico	59
3.2	Representación gráfica de las señales obtenidas en función del tiempo para los arsenatos	62
3.3	Curva de calibración de As(V). Intervalo lineal de 6.7-93.5 $\mu\text{mol/L}$ (0.5 a 7 mg/L)	63
3.4	Estructura de QAE Sephadex A-25	64
3.5	Diagrama de Pareto para optimización de preconcentración de As(V)	66
3.6	Diagrama de Pareto para la preconcentración de As(V)	67

3.7	Superficie de respuesta para la evaluación del volumen de carga y pH en la preconcentración de As(V)	68
3.8	Factor de preconcentración de As(V)	70
3.9	Curva de calibración de As (V) después de la preconcentración empleando una columna empacada con una resina de intercambio aniónico (QAE Sephadex A-25)	72
3.10	Gráfica de efectos principales para la oxidación de As(III)	74
3.11	Porcentaje de conversión de As(III) a As(V) a diferentes caudales, utilizando 500 $\mu$ L de una disolución de As(III) de 7 mg/L a un valor de pH 1.5 y una minicolumna de MnO <sub>2</sub> de 5 cm	75
3.12	Porcentaje de conversión de As(III) a As(V) a diferentes longitudes de columna de MnO <sub>2</sub> , utilizando 500 $\mu$ L de una disolución de As(III) de 7 mg/L a un valor de pH 1.5 y un caudal de 0.26 mL/min	76
3.13	Relación de la concentración de As(III) y la absorbancia, al llevar a cabo la oxidación a distintos valores de pH. Se utilizaron 500 $\mu$ L de una disolución de As(III) de 7 mg/L a diferentes valores de pH, un caudal de 0.26 mL/min y una minicolumna de MnO <sub>2</sub> de 7 cm	77
3.14	Porcentaje de conversión de As(III) a As(V) a diferentes volúmenes de disolución de As(III), utilizando una disolución de As(III) de 7 mg/L a un pH igual a 1.5, un caudal de 0.26 mL/min y una minicolumna de MnO <sub>2</sub> de 7 cm	78
3.15	Curva de calibración de As(III) después de la oxidación a As(V) a un pH=1.5. Intervalo línea 6.7-93.5 $\mu$ mol/L (0.5 a 7 mg/L) de As(III)	79
3.16	Preconcentración de As(III) como As(V)	82
3.17	Curva de calibración de preconcentración de As(III) después de la preconcentración en medio básico empleando una columna empacada con una resina de intercambio aniónico (QAE Sephadex A-25) y la oxidación a As(V) a pH 1.5	83

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Descripción	Página
1.1	Electrodos voltamperométricos para la cuantificación de arsénico	21
2.1	Secuencia de inyección para arsenatos	47
2.2	Secuencia de preconcentración de As(V)	48
2.3	Diseño experimental para la preconcentración de As(V)	49
2.4	Secuencia de inyección para oxidación de arsenitos	50
2.5	Diseño experimental para la oxidación de As(III)	50
3.1	Comparativo de las condiciones utilizadas para la determinación de As(V) empleando una configuración SIA	57
3.2	Ecuación de la curva de calibración de As(V)	63
3.3	Condiciones preliminares para la preconcentración de As(V)	65
3.4	Diseño experimental para la preconcentración de As(V)	66
3.5	Ecuación de la curva de calibración de la preconcentración de As(V)	72
3.6	Diseño experimental para la oxidación de arsenitos	73
3.7	Ecuación de la curva de calibración de As(III)	79
3.8	Ecuación de la curva de calibración de preconcentración As(III)	84

## RESUMEN

En el presente trabajo se desarrolló una metodología para la determinación de As(V) y As(III) empleando un sistema de análisis por inyección secuencial (SIA), la determinación se realizó mediante detección espectrofotométrica basada en la formación del complejo arsenomolibdato a 850 nm.

Se ha determinado que altas concentraciones de arsénico en agua potable pueden provocar daños a la salud; la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 indica como límite permisible de arsénico total en agua potable de 0.33  $\mu\text{mol/L}$  (0.025 mg/L), por lo que se desarrolló una metodología para la preconcentración de arsénico utilizando una minicolumna empacada con una resina de intercambio aniónico fuerte (QAE Sephadex A-25). Para la preconcentración de As(V) se obtuvieron factores de preconcentración de 118 veces, con un intervalo lineal de 0.07 a 0.67  $\mu\text{mol/L}$  (0.005 a 0.05 mg/L) y un límite de detección y cuantificación de 0.05  $\mu\text{mol/L}$  (3.9  $\mu\text{g/L}$ ) y 0.17  $\mu\text{mol/L}$  (12.9  $\mu\text{g/L}$ ) respectivamente.

La preconcentración de As(III) se llevó a cabo empleando dos metodologías: A) la primera requirió la oxidación del As(III) para posteriormente ser preconcentrado como As(V) con la resina QAE Sephadex A-25 y B) la segunda metodología implicó la retención de As(III) en medio básico utilizando la misma resina QAE Sephadex A-25; después de la elución con KCl 0.5 mol/L se ajustó a un valor de pH 1.5 y se llevó a cabo la oxidación del As(III) para su determinación como As(V) por SIA. En la primera metodología empleada no se logró establecer un intervalo lineal, debido a que no existía una relación entre la absorbancia y la concentración inicial de As(III), mientras que para la segunda se obtuvo un intervalo lineal de 0.05 a 0.27  $\mu\text{mol/L}$  (0.004 a 0.02 mg/L), un límite de detección de 0.02  $\mu\text{mol/L}$  (1.7  $\mu\text{g/L}$ ) y un límite de cuantificación de 0.08  $\mu\text{mol/L}$  (5.8  $\mu\text{g/L}$ ).

La oxidación de As(III) se llevó a cabo previamente utilizando una minicolumna empacada con óxido de manganeso(IV). Los resultados mostraron que se logró una oxidación de As(III) de forma rápida y eficiente (80 %).



### INTRODUCCIÓN

El arsénico es un elemento natural en la corteza terrestre y es el vigésimo elemento más abundante. Generalmente se encuentra en pequeñas cantidades en rocas, suelo, agua y aire. En aguas naturales, el arsénico está comúnmente presente como arsénico inorgánico.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido un valor guía provisional de  $0.13 \mu\text{mol/L}$  ( $0.01 \text{ mg/L}$ ) para el arsénico en el agua potable como límite práctico de cuantificación, es decir que se reconoce que aun este límite no puede ser enteramente libre de riesgos.

Los compuestos de arsénico también han sido evaluados por la Agencia Internacional de Investigación sobre Cáncer (IARC). La evaluación general fue que los compuestos de arsénico son cancerígenos para los humanos, esta evaluación se aplica al grupo de productos químicos en su conjunto (compuestos orgánicos e inorgánicos de arsénico) y no necesariamente a todos los productos químicos individuales dentro del grupo.

La modificación del 2000 a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 indica que el límite permisible de arsénico en agua potable es de  $0.33 \mu\text{mol/L}$ , lo cual corresponde a  $0.025 \text{ mg/L}$ , en la modificación se señaló que esta concentración de arsénico total en agua se ajustaría anualmente pasando de  $0.05$  a  $0.025 \text{ mg/L}$ , el ajuste gradual fue debido a las posibles dificultades técnicas para cuantificar dichas concentraciones.

El análisis de arsénico se realiza normalmente utilizando espectroscopías atómicas tales como espectroscopía de absorción atómica-Generador de hidruros (HG-AAS), espectroscopía de absorción atómica-horno de grafito (GF-AAS), espectroscopía de emisión atómica-Plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES) y espectrometría de masas-Plasma de argón de acoplamiento inductivo (ICP-MS). Otros métodos menos empleados son los métodos colorimétricos, basados en luminiscencia, electroquímicos y biosensores.

La Norma Mexicana NMX-AA-051-SCFI-2001 corresponde al método de prueba para la determinación de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas, dicho método utiliza HG-AAS y GF-AAS. Los métodos propuestos por la Norma Mexicana para la determinación de arsénico poseen alta sensibilidad, amplio intervalo lineal y buena selectividad aunque requieren de equipos costosos, instalaciones especiales, gases costosos y el gasto y desecho de reactivos suele ser mayor que el de los métodos en flujo.

La técnica de análisis por inyección secuencial, (SIA por sus siglas en inglés) forma parte de las técnicas analíticas de flujo continuo, las cuales han logrado la automatización de muchos procesos analíticos, miniaturizando las determinaciones con la ventaja de disminuir el gasto y desechos de reactivos y muestras. Se ha reportado el empleo de configuraciones SIA para la determinación de arsénico, Semenova y colaboradores (2000) desarrollaron una configuración SIA para la generador de hidruros y utilizaron como sistema de detección espectroscopía de fluorescencia atómica, Cañizares y Ramírez (2009) desarrollaron un método SIA emplearon la reacción de azul de molibdeno y por su parte Boonjob y colaboradores (2013) reportaron un trabajo donde se propuso un método SIA utilizando la reacción de decoloración del permanganato de potasio.

En este proyecto se optimizó la preconcentración de As(III) y As(V) utilizando una resina de intercambio aniónico fuerte y la posterior determinación utilizando un sistema de análisis por inyección secuencial y detección espectrofotométrica basada en la formación del complejo arsenomolibdato. Debido a que la formación del complejo sólo se lleva a cabo con As(V), dentro del sistema de flujo se incluyó un paso de oxidación.

El método desarrollado tiene como finalidad aplicarse en el análisis de muestras de agua potable (agua embotellada, agua de la llave y agua de río) así como su evaluación en agua subterránea.

### OBJETIVOS

#### Objetivo general.

Utilizando la técnica analítica de Análisis por Inyección Secuencial (SIA) proponer diferentes metodologías para determinar As(III) y As(V) a concentraciones menores a  $0.33 \mu\text{mol/L}$  ( $0.025 \text{ mg/L}$ ), cuya concentración corresponde al límite permisible de arsénico total en agua potable según establece la modificación del año 2000 a la NOM-127-SSA-1994.

#### Objetivos particulares.

- Determinar las condiciones óptimas de los parámetros químicos e hidrodinámicos de la reacción de formación del complejo arsenomolibdato con As(V) por SIA.
- Evaluar los parámetros hidrodinámicos para el proceso de oxidación de As(III) en línea empleando una minicolumna empacada con óxido de manganeso (IV).
- Determinar los parámetros químicos e hidrodinámicos óptimos para el proceso de preconcentración en línea de As(III) y As(V) empleando una columna de intercambio aniónico fuerte (QAE Sephadex A-25).
- Elaborar las curvas de calibración para la determinación de As(V) y As(III), y las curvas de preconcentración para ambos analitos.
- Determinar el límite de detección, el límite de cuantificación y la precisión para las metodologías desarrolladas.

### HIPÓTESIS

Al emplear una minicolumna empacada con óxido de manganeso(IV) será posible llevar a cabo la oxidación de As(III) a As(V) para su posterior preconcentración utilizando una resina de intercambio aniónico fuerte a un pH neutro.

## CAPÍTULO I. FUNDAMENTO TEÓRICO

### 1.1 PROCEDENCIA DEL ARSÉNICO

El arsénico es el vigésimo elemento más abundante en la corteza terrestre. El arsénico ha llegado a ser cada vez más importante por sus efectos en la salud humana, sus efectos toxicológicos y ambientales, así como en la geoquímica (Ma et al., 2014).

El arsénico es un elemento encontrado en la atmósfera, suelo, roca, aguas naturales y organismos. Este puede ser movilizado a través de una combinación de procesos naturales como son efectos de la erosión, la actividad biológica y las emisiones volcánicas así como a través de diferentes actividades antropogénicas como: la actividad minera, la combustión de combustibles fósiles, preservación de madera y antiguamente el uso de pesticidas compuestos por arsénico (Hung et al., 2004).

Se ha reportado la aparición natural de arsénico en aguas subterráneas en muchos países como son Bangladesh, India, Chile, Argentina, Hungría, Filipinas, China, México, Polonia, Japón y Estados Unidos (Hao et al., 2015), los niveles de arsénico son significativamente más altos que los recomendados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) que corresponde a  $0.13 \mu\text{M}$  ( $0.01 \text{ mg/L}$ ).

Se ha determinado que la disolución de arsénico presente en sedimentos en áreas no mineras puede lograrse en ambientes reductores caracterizados por un bajo potencial redox, baja disolución de oxígeno, altas concentraciones de Fe, Mn y  $\text{NH}_4^+$ , baja concentración de sulfatos, alta alcalinidad y posiblemente alta cantidad de materia orgánica disuelta ( $> 10 \text{ mg/L}$ ) (Smedley y Kinniburg, 2002).

#### 1.1.1 NIVELES AMBIENTALES DE ARSÉNICO

El arsénico y sus compuestos han sido clasificados en el grupo I carcinógenos (IARC, 1987). La contaminación con arsénico puede tener efectos no

cancerígenos y cancerígenos. Los padecimientos no cancerígenos corresponden a hipertensión, enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, diabetes mellitus, queratosis y neurotoxicidad, y los padecimientos cancerígenos como cáncer de piel, pulmón, vejiga e hígado (Ng et al., 2003).

Los niveles de arsénico presentes en alimentos se encuentran normalmente por debajo de 0.25 mg/kg (Jelinek y Corneliussen, 1977), mientras que las concentraciones de arsénico en organismos marinos y algas marinas, son en general considerablemente más altas que en otros alimentos. Muchas especies de pescado contienen entre 1 y 10 mg/kg, mientras que los crustáceos y algas pueden contener más de 100 mg/kg (Lunde, 1973).

El arsénico está ampliamente distribuido en aguas superficiales, subterráneas y potables. El agua de mar generalmente contiene concentraciones de 0.01 a 0.07  $\mu\text{mol/L}$  (0.001-0.005 mg/L) (Ferguson y Gavis, 1972). La concentración de arsénico en los ríos y lagos varía considerablemente de 0.13 a 1.34  $\mu\text{mol/L}$  (0.01-1 mg/L) (Andreae, 1978).

En agua potable, según lo recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) la máxima concentración permisible (MPC) de arsénico total es de 0.13  $\mu\text{mol/L}$  (0.01 mg/L), mientras que los valores límite de las especies de arsénico no están establecidas. Japón y la unión europea establece el mismo límite que la OMS (EPA 2001, Flanagan, et al., 2012). En México, la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, ajustada en 2000, establece el límite permisible de 0.33  $\mu\text{mol/L}$  (0.025 mg/L) y existe un proyecto para la NOM-250-SSA1-2014 la cual propone un límite permisible de 0.13  $\mu\text{mol/L}$  (0.01 mg/L).

Finalmente el arsénico en el aire es usualmente una mezcla de partículas de arsenito y arsenato (EPA, 2012). Niveles medidos en aire ambiental en Estados Unidos han sido reportados en un intervalo de <1-30  $\text{ng/m}^3$  en áreas remotas y de 10-20  $\text{ng/m}^3$  en áreas urbanas.

## 1.2 IMPORTANCIA DE LA ESPECIACIÓN DE ARSÉNICO

En aguas naturales, el arsénico es comúnmente encontrado como arsénico inorgánico, mientras que las especies orgánicas de arsénico pueden encontrarse en muestras marinas y biológicas. Las especies inorgánicas del arsénico son más tóxicas que su contraparte orgánica. Las especies inorgánicas son encontradas en el agua en forma de As(V) y As(III) como ácidos (ácido arsénico y ácido arsónico). Las formas de As(III) son más tóxicas que las formas de As(V) (Sarkar et al., 2008). Por lo tanto, la determinación de ambas especies de arsénico es de vital importancia para analizar la calidad del agua. En aguas naturales el As(III) se encuentra en concentraciones menores comparados con As(V), lo que hace difícil la detección directa y los pasos de preconcentración son necesarios. (Smedley y Kinniburgh, 2002).

La arsenobetaina (AsB) ha sido la especie de arsénico más encontrada en la fauna marina, mientras que en las algas las especies de arsénico más frecuentemente encontradas son las arsenoazúcares, comúnmente llamados glicerol, fosfato, sulfonato y sulfato azúcares. Otras especies orgánicas de arsénico normalmente encontradas son: el ácido monometilarsónico (MMA), el ácido dimetilarsínico (DMA), el óxido de trimetilarsina (TMAO), el ion trimetilarsonio (TETRA) y la arsenocolina (AsC). En la figura 1.1 se presentan las estructuras correspondientes.

Estudios de toxicidad han mostrado que diferentes formas exhiben diferentes toxicidades. Por lo cual los valores de dosis letal ( $LD_{50}$ ) de arsenito, arsenato, ácido monometilarsónico (MMA), ácido dimetilarsínico (DMA) son 14, 20, 700-1800 y 700-2600 mg/kg respectivamente (Cao et al., 2009).



### 1.3.1. MÉTODOS COLORIMÉTRICOS

#### 1.3.1.1 Espectroscopía de absorción molecular UV/visible

La espectroscopía de absorción se basa en la absorción neta de la radiación electromagnética de una especie química a una frecuencia característica, la cual corresponde a la energía de transición entre diferentes niveles de energía vibracional o electrónica.

La absorbancia ( $A$ ), se define como el cologaritmo de la transmitancia ( $T$ ), la cual es la respuesta que se mide con un espectrofotómetro UV-Vis de absorbancia, y se define en la ecuación 1.1.

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = -\log T \quad \text{Ecuación 1.1}$$

donde  $I_0$  es la intensidad incidente del haz de luz e  $I$  es la intensidad medida después de que ha pasado a través de la muestra en disolución, es decir, después de que parte de este haz ha sido absorbido por dicha muestra. Al cociente de estas intensidades se le conoce como transmitancia.

Se ha demostrado que la absorbancia varía con el paso óptico  $l$  y la concentración de la muestra  $C$ . A esta relación se le conoce como la ley de Lambert-Beer (Ecuación 1.2)

$$A = \varepsilon Cl \quad \text{Ecuación 1.2}$$

Donde  $\varepsilon$  es el coeficiente de absorción molar. Los valores de  $\varepsilon$  varían enormemente, según la intensidad de la transición. La proporción entre la absorbancia y la concentración permite medir propiedades que dependen de ésta.

La ley de Lambert-Beer es válida para disoluciones diluidas ( $<0.01$  mol/L) y se aplica a la radiación monocromática. Si la disolución está concentrada, las interacciones entre las moléculas del soluto no son despreciables, lo cual ocasiona cambios en sus propiedades (como la absorción molar), y esto lleva al incumplimiento de dicha ley (Harris, 2001).



### **1.3.1.2 Instrumentación para espectroscopía utilizando métodos en flujo**

Los instrumentos para medir la absorción de la radiación ultravioleta y visible constan de los siguientes componentes: a) fuente de radiación, b) selector de longitud de onda, c) celda de flujo (recipiente para la muestra), d) detector de la radiación. A continuación se detallarán cada uno y se hablará en específico de los componentes utilizados en un sistema miniaturizado empleando fibras ópticas.

#### **1.3.1.2.1 Fuente de radiación**

Puede hacerse uso de lámparas convencionales, tales como láseres, lámparas de xenón, de neón, de halógenos, de wolframio.

En el presente trabajo se utilizó una lámpara de wolframio y deuterio. Una lámpara de wolframio es una excelente fuente de radiación continua visible y de radiación infrarroja próxima. Un filamento típico de wolframio trabaja a una temperatura de aproximadamente 3000 K, produce radiación útil en el intervalo de 320 a 2500 nm. Este intervalo cubre toda la región visible y también parte de la región UV e IR. La espectroscopía UV normalmente utiliza una lámpara de arco de deuterio, en la que una descarga eléctrica (una chispa) disocia  $D_2$  y emite radiación UV desde 200 a 400 nm (Harris, 2012).

#### **1.3.1.2.2 Selector de longitud de onda**

La discriminación de la radiación es de suma importancia en el caso de utilización de fibras ópticas en las que a su vez viajan tanto la luz procedente de la fuente como la que procede de la muestra.

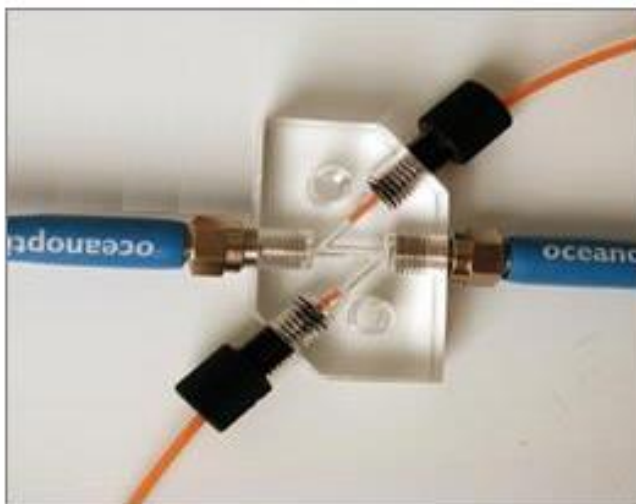
Un monocromador dispersa la luz separando las longitudes de onda que la componen, y selecciona una banda estrecha de longitudes de onda, que es la que atraviesa la muestra y llega al detector.

Una red de difracción es un componente óptico que trabaja por reflexión o transmisión, y que consta de una serie de rayas grabadas muy próximas entre sí, cuando se refleja o transmite la luz de una red, cada raya se comportara como una

fuerza independiente de radiación. El cambio de dirección de los rayos de luz de una red se llama difracción (Harris, 2012).

#### **1.3.1.2.3 Celda de flujo (recipiente para la muestra)**

La muestra se encuentra en una celda de flujo (figura 1.2), la cual permite que la disolución circule continuamente. Las celdas de flujo se construyen de diversos materiales como son teflón, plexiglás, Poliéter étercetona (PEEK) o acero inoxidable de alto grado. El volumen de las celdas de flujo va de 2 a 260  $\mu\text{L}$  y pueden tener un paso óptico que va de 2.5 a 100 mm.

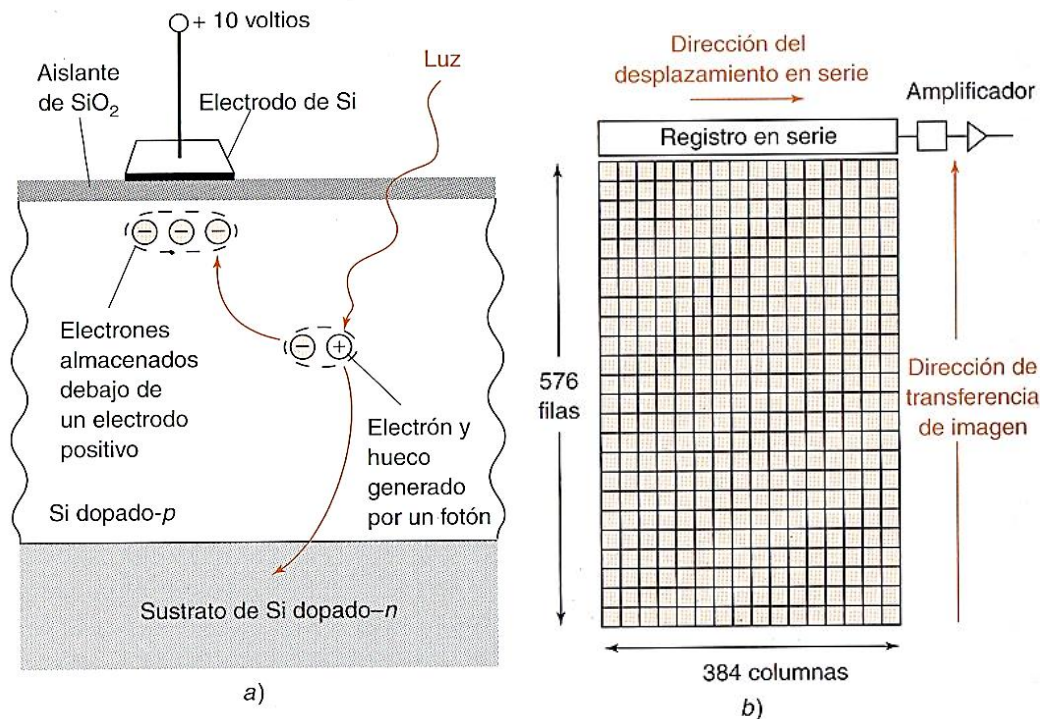


**Figura 1.2. Celda de flujo (FIALab, 2015)**

#### **1.3.1.2.4 Detector**

En el presente trabajo se utilizó un detector de acoplamiento de carga (CCD), el cual es un detector muy sensible que almacena cargas fotogeneradas en una estructura bidimensional. El detector, tal como se muestra en la figura 1.3a consta de Si dopado-*p* sobre un sustrato dopado-*n*. Esta estructura se cubre con una capa aislante de  $\text{SiO}_2$ , encima de la cual se coloca un panel de electrodos conductores de Si. Cuando la región dopada-*p* absorbe luz, pasa un electrón a la banda de conducción, dejando un hueco en la banda de valencia. El electrón es traído a la región que se encuentra debajo del electrodo positivo, donde se

almacena. El hueco migra al sustrato dopado- $n$ , donde se combina con un electrón. Cada electrodo puede acumular  $10^5$  electrones, antes que los electrones se desborden hacia elementos adyacentes.



**Figura 1.3 Representación esquemática de un detector de acoplamiento de carga. a) Vista de una sección transversal, donde se ve la generación de carga, y su almacenamiento en cada pixel. b) Vista desde arriba, donde se aprecia la naturaleza bidimensional de una estructura concreta. (Harris, 2012)**

El detector de acoplamiento de carga es una estructura bidimensional, como se muestra en la figura 1.3b. Después de un tiempo de observación deseado, los electrones acumulados en cada *pixel* (elemento de imagen) de la última fila, pasan al registro en serie de la parte superior, y a continuación cada pixel se va trasladando sucesivamente a la derecha, donde se lee la carga almacenada. A continuación sube la fila y también se lee, repitiéndose la secuencia hasta que se lea toda la estructura. La transferencia de cargas almacenadas se realiza mediante un entramado de electrones, considerablemente más complejo que el que se indica en la figura 1.3a. La transferencia de carga de un pixel al siguiente

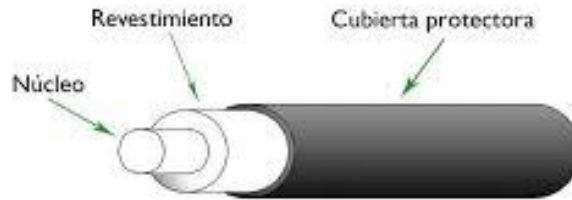
es muy eficiente, con una pérdida de aproximadamente 5 electrones por cada millón de electrones (Harris, 2012).

#### **1.3.1.2.5 Fibra óptica: propagación de la radiación**

La fibra óptica es capaz de transportar la radiación electromagnética a grandes distancias con pérdidas muy pequeñas en su intensidad. La radiación procedente de la fuente debe acoplarse ópticamente a la fibra óptica así como la radiación emitida por la muestra debe acoplarse al detector.

La utilización de haces de fibra produce pérdidas adicionales porque las fibras de detección no recogen toda la radiación producida por la muestra. Dichas pérdidas aumentan con la distancia cuando las fibras tienen un menor ángulo de solapamiento. La mayor eficiencia de acoplamiento es cuando la muestra es grande en relación al campo de vista del haz de detección. El tamaño del haz de las fibras ópticas afecta la cantidad de luz que llega a la muestra, así como la cantidad de luz recolectada (Barrero, 1994).

La sección transversal de una fibra óptica se encuentra representada en la figura 1.4. En ella se observa que está formada por tres partes: un núcleo, el revestimiento de materiales transparentes a la radiación empleada y una funda protectora, El núcleo constituye el soporte físico de la radiación que se conduce y el revestimiento ayuda al confinamiento de dicha radiación. La fibra suele recubrirse por una funda externa, generalmente plástica que proporciona protección mecánica y térmica a la fibra.



**Figura 1.4. Construcción de una fibra óptica**

El principio por el cual la fibra “conduce” la radiación por el camino deseado se basa en la reflexión total que tiene lugar en un material de alto índice de refracción  $n_1$  a llegar a la interfase con un material (revestimiento) de menor índice de refracción  $n_2$ , siempre que la radiación penetre en la fibra con un ángulo menor que el ángulo de aceptación o crítico. La relación entre el ángulo de incidencia y el de refracción viene dada por la ley de Snell que se presenta en la ecuación 1.3. (Barrero, 1994)

$$n_1 \text{ sen } \theta_1 = n_2 \text{ sen } \theta_2 \quad \text{Ecuación 1.3}$$

### 1.3.1.3 Reacción de formación del azul de molibdeno

El método propuesto está basado en la reacción de iones arsenato con molibdato en medio ácido para formar los heteropoliácidos de molibdeno correspondientes. Estos compuestos son de color amarillo, tienen una estructura tipo jaula que tiene la capacidad de reducirse y oxidarse sin apenas modificar su estructura (Pope, 1983)

Cuando son tratados con un reductor como el ácido ascórbico o estaño (II) se logra reducir el estado de oxidación del molibdeno de VI a V en un equivalente de diez de los doce átomos de la jaula, así el compuesto resultante es el heteropoliácido conocido como azul de molibdeno (Themelis, 2004) cuyo máximo de absorbancia en el espectro electromagnético se encuentra alrededor de los 850 nm. Se presenta la reacción y la estructura del azul de molibdeno en la figura 1.5.

Es importante mencionar que los arsenitos no reaccionan con el molibdato y es necesario transformar a arsenatos mediante un proceso de oxidación. La reacción también es positiva con silicatos y fosfatos.

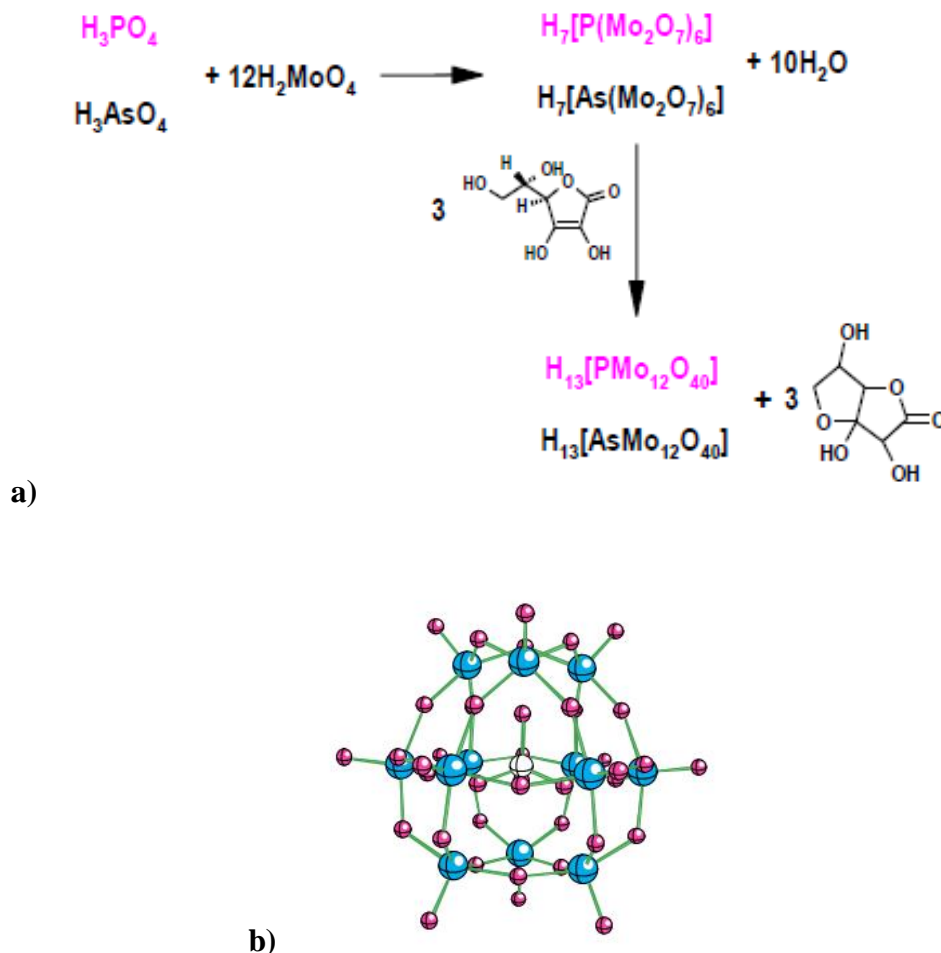


Figura 1.5. a) Reacción para formación del heteropoliácido de molibdeno. b) Estructura de  $\alpha$  Keggin para el azul de molibdeno (Silva, 2007)

Entre las ventajas que posee el empleo de la reacción de azul de molibdeno con detección espectrofotométrica para la determinación de arsénico es que tiene buena precisión, la adquisición de datos es fácil, muy bajo costo de operación y las desventajas son la interferencia de fosfatos y silicatos y que se requieren procesos de preconcentración para la cuantificación de bajas concentraciones (Niedzielski et al., 2003).

Se han reportado diversos trabajos empleando la reacción de azul de molibdeno, Hanrahan y colaboradores (2009) diseñaron y desarrollaron un instrumento de inyección automática para la determinación de arsenitos [As(III)] y arsenatos [As(V)] en aguas naturales. Para determinar el As(III) como As(V) se realizó un proceso de oxidación empleando una mezcla de KI/KIO<sub>3</sub>. El límite de detección encontrado fue de 0.79 y 0.98 μmol/L (0.059 y 0.073 mg/L) para As(III) y As(V) y el intervalo lineal de 1-50 μmo/L (0.075-3.7 ppm).

#### 1.3.1.4 Otras reacciones colorimétricas

El método de dietilditiocarbamato de plata, se utiliza para determinar directamente el As(III), para el As(V) y los compuestos orgánicos del arsénico deben tratarse primero para transformarlos en As(III). El As(III) se transforma a arsina usando una disolución de zinc y ácido clorhídrico, el gas se hace pasar por un filtro de algodón impregnado con acetato de plomo para posteriormente llegar a un contenedor que tiene una disolución de dietilditiocarbamato de plata en piridina. La arsina forma un compuesto color rojo que tiene un máximo de absorbancia a 540 nm cuyo valor es proporcional a la concentración (ASTM 2972-03).

El método de decoloración del permanganato de potasio, se emplea para la determinación de As(III). El As(III) se transforma en arsina empleando una disolución de ácido clorhídrico y borohidruro de sodio, el gas se hace pasar a través de una celda de pervaporación y posteriormente se hace reaccionar con una disolución de permanganato de potasio. Se mide la disminución en la absorbancia de la disolución del permanganato de potasio, a 528 nm (Rupasinghe et al., 2004).

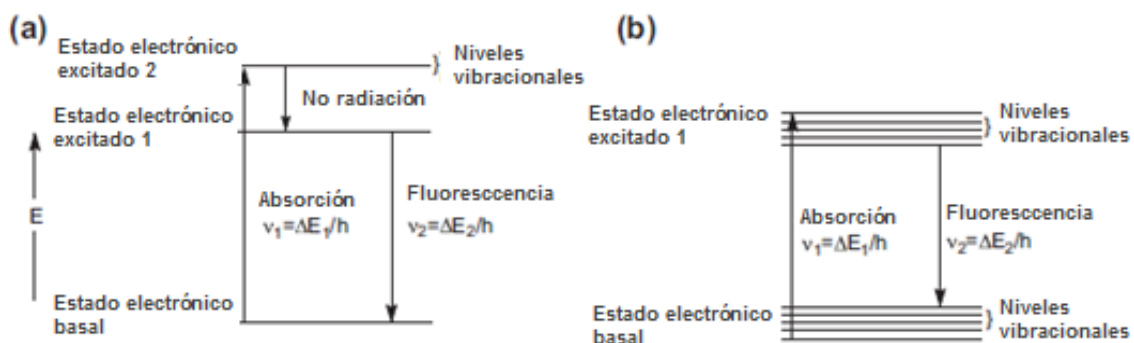
### 1.3.2 MÉTODOS BASADOS EN LUMINISCENCIA

#### 1.3.2.1 Fluorescencia

La fluorescencia es un proceso de emisión de luz por una molécula después de absorber una radiación inicial (luz de excitación). Una molécula *M* pasa de un

estado de energía más bajo (comúnmente llamado estado basal) a un estado excitado  $M^*$  por absorción de energía.

El proceso de emisión puede llevarse a cabo cuando la molécula regresa al estado inicial sin cambiar la longitud de onda de la luz absorbida. Sin embargo, es posible que parte de la energía de la molécula excitada  $M^*$  se pierda por procesos de no radiación como coaliciones con otras moléculas. En este caso, el electrón puede ir a otro estado electrónico excitado con más baja energía y entonces emitiendo un fotón, para alcanza el estado basal. También es posible que no existan estados electrónicos intermedios, pero las moléculas adquieren un nivel energético vibracional más bajo y regresan a estados basales emitiendo un fotón como se observa en la figura 1.6 (Moldoveanu y David, 2013).



**Figura 1.6. a) Esquema simplificado de las transiciones electrónicas durante la fluorescencia. Niveles energéticos vibracionales no se muestran. b) Esquema simplificado de las transiciones electrónicas durante la fluorescencia. La diferencia en emisión llega de la diferencia en los niveles (Moldoveanu y David, 2013)**

El empleo de este sistema de detección involucra alta selectividad en las determinaciones y la sensibilidad es igualmente más elevada que en procedimientos espectrofotométricos porque las interferencias de la matriz son menores, sin embargo la desventaja es que las aplicaciones son limitadas. (Pimenta et al., 2006)

Hosseini y Nazemi (2013) desarrollaron un método para la especiación de arsénico por combinación de la preconcentración de As(V) empleando una resina



de intercambio aniónico fuerte y determinación espectrofluométrica. El As(V) extraído de la columna de intercambio iónico fue tratado con nanopartículas de CdS cubiertas con L-cisteína (QDs, quantum dots) y la medición de la fluorescencia de los QDs debida a la reducción de As(V) por L-cisteína fue considerada como una señal correspondiente a la concentración de As(V). El As(III) fue también determinado, se realizó la oxidación del As(III) a As(V) con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y fue determinado el As total. El límite de detección fue de 0.01 μmol/L (0.75 μg/L) y se analizaron muestras de agua de río, de la llave y de manantial, con recobros del 94 al 106 %.

### 1.3.2.2 Quimioluminiscencia

La quimioluminiscencia es la emisión de luz como un resultado de una reacción química. Ciertos compuestos logran estados de energía excitado en reacciones químicas específicas y emisión de luz siguiendo de una transición a un estado basal. Al igual que la fluorescencia posee alta selectividad y sensibilidad pero sus aplicaciones son limitadas.

Lomonte y colaboradores (2007) reportaron un trabajo sobre la determinación de As(III) en muestras acuosas, utilizando una configuración de Análisis por inyección en flujo (FIA) el As(III) es convertido en arsina. La arsina generada pasa a través de una celda de difusión de gases y reacciona con el ozono y es medida la quimioluminiscencia. El método posee un intervalo lineal de 0.008 a 334 μmol/L (0.6 μg/L a 25 mg/L) y un límite de detección de 0.008 μmol/L (0.6 μg/L) y fue posible evaluar 300 muestras por hora.

Rehman y Yaqoob (2008) desarrollaron un método rápido y simple para la determinación As(V) empleando análisis por inyección en flujo, el método basado en una detección de quimioluminiscencia con luminol. El heteropoliácido molibdoarsénico en presencia de vanadato de amonio en condiciones ácidas genera emisión quimioluminiscente vía la oxidación de luminol. El límite de detección fue de 0.002 μmol/L (0.15 μg/L).

### 1.3.3 MÉTODOS ELECTROQUÍMICOS

Los métodos electroquímicos son adecuados para la determinación de arsénico debido a sus características tales como sensibilidad, selectividad controlable, buena precisión y exactitud, simplicidad y fácil manejo de la señal (Pimenta et al., 2006).

#### 1.3.3.1 Voltamperometría

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

En el análisis ASV se deposita As elemental en el microelectrodo y subsecuentemente se hace un barrido anódico para obtener la señal de la formación de  $\text{As}^{3+}$  (Ramírez, 2007).

El análisis CSV de arsénico se realiza por polarografía, primero se preconcentra la muestra en un medio fuertemente ácido y después se hace un barrido de potencial en dirección catódica donde se obtiene un pico debido a la formación de arsina. Para lograr la deposición de arsénico con estado de oxidación III se coloca otro metal en el medio (Como Cu), así se logra la deposición de  $\text{Cu}_3\text{As}_2$ .

Otras técnicas voltamperométricas utilizadas para determinar arsénico son la voltamperometría lineal de barrido (LSV), voltamperometría cíclica (CV) y voltamperometría por diferencial de pulsos (DPV).

El análisis por LSV es una técnica en la que se impone un potencial inicial  $E_i$ , y se realiza un barrido de potencial hasta un valor final  $E_{\lambda 1}$ . A esto se le llama

comúnmente barrido de inicio o de ida. La voltamperometría cíclica (CV) es una extensión de la técnica de barrido lineal, en la que se adiciona un barrido de regreso hasta un valor de potencial  $E_{\lambda,2}$  que puede ser o no igual al potencial de inicio  $E_i$ . La voltametría de pulso diferencial (VPD) consiste en una serie de pulsos a manera de escalera, donde el potencial de base aumenta gradualmente en pequeños intervalos entre 10 y 100 mV. La amplitud de pulso se mantiene constante con respecto al potencial de base (García, 2015).

### **1.3.3.1.1 Electrodo de trabajo para la cuantificación de arsénico**

Los electrodos de trabajo más utilizados son muy costosos y tóxicos (Au y Hg), estos muestran bajos límites de detección, por ello tienen un amplio uso en las determinaciones de arsénico a pesar del transcurso de los años.

Con el objetivo de minimizar costos, se han desarrollado metodologías que utilizan electrodos de trabajo más económicos, aunque alcanzan límites de detección un poco mayores a los obtenidos por electrodos convencionales. Los electrodos de trabajo de carbono donde en su superficie se depositan nanopartículas de Au, Pt, Co y Bi, representan metodologías más rentables para su uso (López, 2013).

**Tabla 1.1. Electrodo voltamperométricos para la cuantificación de arsénico (López, 2013)**

<b>Método analítico</b>	<b>Electrodo de trabajo</b>	<b>Límite de detección, <math>\mu\text{g/L}</math></b>
<b>ASV</b>	Au	0.015
<b>ASV</b>	Au/Óxido de indio-estaño	5.000
<b>ASV</b>	Au/Grafito	0.400
<b>CSV</b>	Hg	0.300
<b>CSV</b>	Au	0.037
<b>CSV</b>	Dietiditiocarbamato de sodio/Hg	0.004
<b>LSV</b>	Au	0.040
<b>LSV</b>	Au/Óxido de indio-estaño	5.000

Tabla 1.1 continuación. Electrodo voltamperométricos para la cuantificación de arsénico  
(López, 2013)

Método analítico	Electrodo de trabajo	Límite de detección, µg/L
CV	Ir/Diamante dopado con boro	1.500
CV	Pt/Carbón vítreo	2.100
CV	Co/Carbón vítreo	0.820
CV	Diamante dopado con boro	270.0
DPV	Chitosán/Carbón vítreo	50.00
DPV	3-mercapto-1-propensulfonato de sodio/Au	34.00

### 1.3.3.2 Amperometría

La amperometría es propiamente la medición de la corriente eléctrica generada por un proceso de excitación respuesta, esta respuesta (i) está en función de la concentración de la disolución estándar, para llevar a cabo esta determinación es necesario aplicar un potencia fijo (E). La amperometría es muy sensible y puede emplearse para detectar respuestas a concentraciones de  $10^{-5}$  mol/L o menores.

Se han reportado el empleo de la detección amperométrica utilizando un sistema inyección en flujo y una celda de pervaporación. El sistema se basó en la generación de la arsina para la separación del As(III) de la matriz de la muestra y reducir las interefencias de la matriz. Los resultados obtenidos con el método propuesto no mostraron diferencias estadísticamente significativas con la espectroscopía de absorción atómica-generación de hidruros (Rupasinghe et al., 2009).

### **1.3.4 MÉTODOS BASADOS EN ESPECTROSCOPIAS ATÓMICAS**

#### **1.3.4.1 Espectroscopía de absorción atómica (AAS) y Espectroscopía de fluorescencia atómica (AFS)**

En la espectroscopía de absorción atómica (AAS) la muestra es aspirada hasta una llama que se puede encontrar a una temperatura de 2000-3000 K. El líquido se evapora y las partículas sólidas resultantes se atomizan (se descomponen en átomos) en la llama. El camino óptico de la llama suele ser de 10 cm. La lámpara de cátodo hueco, tiene un cátodo del elemento a analizar. Cuando se bombardea el cátodo con iones de  $\text{Ne}^+$  o  $\text{Ar}^+$  energizados, los átomos excitados del elemento se vaporizan y emiten luz de las mismas frecuencias que las que absorben los átomos del elemento de interés, posteriormente hay un detector convencional que mide la cantidad de luz que pasa por la llama.

En la técnica de fluorescencia atómica se irradian los átomos formados en la llama con un láser, que los eleva a un estado excitado, que pueden emitir fluorescencia al volver al estado fundamental. (Harris, 2012).

El empleo de AAS en la determinación de arsénico posee como ventajas un bajo costo de operación, fácil uso, rápido, sin embargo las desventajas con las que cuenta es la pobre sensibilidad, una señal de fondo alta, alto consumo de muestra, empleo de gases peligrosos. En cuanto a AFS posee como ventajas una alta sensibilidad, intervalo lineal más amplio que AAS, bajo costo de inversión y la desventaja es la aplicación a elementos que generan hidruros (Pardo, 2010).

#### **1.3.4.2 Espectroscopía de absorción atómica-Horno de grafito (GF-AAS).**

También conocida como espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica (ET-AAS). La función del sistema de atomización por horno de grafito es generar una población de átomos libres en estado basal de manera que la energía luminosa del haz puede ser absorbida y medida. En ET-AAS la llama se sustituye por una corriente eléctrica alta que al ser aplicada a un tubo de grafito y este al ser un material no conductor eleve su temperatura. El

procedimiento de atomización consta de tres etapas principales, la primera es el secado, en la cual se lleva a cabo la remoción del disolvente presente en la muestra, seguida de la calcinación donde la materia orgánica e inorgánica es eliminada y por último la atomización donde se encuentran los átomos en estado basal (Nonato, 1998).

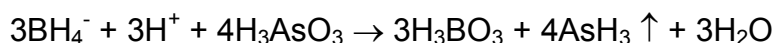
Se ha determinado que hay interferencias cuando en la muestra hay presencia de cobre, plomo, zirconio, bario y estaño principalmente (Gallardo y Masini, 2000).

La técnica de GF-AAS tiene como ventajas bajos límites de detección y el empleo de volúmenes de muestra pequeños (5-50  $\mu\text{L}$ ), el equipo es compacto y el costo de inversión es moderado y las desventajas que posee son la baja frecuencia de análisis, así como la baja precisión (Lajunen et al., 2004).

Husáková y colaboradores (2007) desarrollaron un método para la determinación directa de arsénico en cerveza utilizando GF-AAS, empleando como modificador químico Pd. Se obtuvo un intervalo lineal de 0.07 a 1.34  $\mu\text{mol/L}$  (5-100  $\mu\text{g/L}$ ) y un límite de detección de 0.02  $\mu\text{mol/L}$  (1.3  $\mu\text{g/L}$ ). Se analizaron 6 muestras de cerveza con concentraciones que iban de 0.4 a 0.51  $\mu\text{mol/L}$  (30-38  $\mu\text{g/L}$ ).

#### **1.3.4.3 Espectroscopía de absorción atómica -Generador de hidruros (HG-AAS)**

La técnica de generación de hidruros proporciona un método para introducir muestras que contienen arsénico, antimonio, estaño, selenio, bismuto, mercurio y plomo en un atomizador en forma de gas. Generalmente se pueden generar rápidamente hidruros volátiles adicionando una disolución acuosa acidificada de la muestra a una disolución de borohidruro de sodio, tal como se representa en la reacción:



El hidruro volátil, en este caso la arsina, es arrastrado a la cámara de atomización por un gas inerte. La cámara generalmente es un tubo de sílice calentado a varios cientos de grados centígrados en un horno o en una llama, donde se descompone el hidruro originándose los átomos del analito. La concentración del mismo se determina por la medida de la absorción o de la emisión (Skoog, 2008).

HG-AFS ha sido reportada por ser similar al ICP-MS respecto a sensibilidad e intervalo de calibración lineal, aunque tiene algunas ventajas para el análisis de especiación como son simplicidad y costos de corrida (Lindberg, et al., 2007). Otras ventajas con las que cuenta es la automatización en sistemas de análisis por inyección en flujo, alta frecuencia de análisis, bajos límites de detección, con las desventajas de tener intervalos lineales limitados y la optimización de numerosos parámetros químicos e instrumentales (Pardo, 2010).

Sun y colaboradores (2013) desarrollaron un nuevo método para el análisis de especies inorgánicas de arsénico presentes en carbón. Para realizar la especiación se utilizó cromatografía de líquidos de alta resolución y la detección se logró empleando generador de hidruros de espectroscopía de fluorescencia atómica 8, la extracción del arsénico presente en las muestras de carbón se logró por extracción asistida por microondas. La extracción efectiva de As(III) y As(V) en las muestras de carbón se logró utilizando la mezcla de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  1.0 M y ácido ascórbico 0.10 M. Dentro de las condiciones óptimas, el límite de detección para As(V) fue de 0.13  $\mu\text{mol/L}$  (0.01  $\mu\text{g/L}$ ) y para As(III) de 0.27  $\mu\text{mol/L}$  (0.02  $\mu\text{g/L}$ ) (Sun et al, 2013).

#### **1.3.4.4 Espectroscopía de emisión atómica-Plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES) y Espectrometría de masas-Plasma de argón de acoplamiento inductivo (ICP-MS).**

Las técnicas de ICP utilizan el plasma para ionizar los componentes cuando la muestra es acidificada y nebulizada hacia un plasma, la alta temperatura de éste atomiza y ioniza todas las formas de arsénico presentes (Ramírez, 2007). El ICP

es utilizado acoplado a otras técnicas analíticas como la espectrometría de masas (MS) y la emisión atómica (AES).

El ICP-MS es uno de las técnicas más eficiente y robusta para la determinación específica de elementos, debido a su alta sensibilidad, amplio intervalo lineal, capacidad multi-elemental y la posibilidad de llevar a cabo mediciones isotópicas. Sin embargo las desventajas que muestra son las interferencias espectrales (interferencia de  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$  con el  $^{75}\text{As}$  es severa en cuadrupolo) y alto costo de operación (Zheng y Hu, 2009).

Juskelis y colaboradores (2013) reportaron un procedimiento para la determinación de especies de arsénico inorgánicos y orgánicos presentes en 31 muestras de cereal a base de arroz para niños que se comercializaban en supermercados de E.U., la determinación de arsénico total se llevó a cabo mediante ICP-MS, y debido a las diferentes toxicidades de las formas químicas del arsénico, el ICP-MS acoplado a HPLC fue usado para llevar a cabo la especiación. El arsénico inorgánico total [As(III) y As(V)] se encontró entre  $55.5 \pm 1.3$  y  $158.0 \pm 6$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ . No se observan diferencias significativas entre cereales de arroz convencionales y orgánicos. La especie organoarsenical mayormente detectada fue ácido dimetilarsínico, el ácido monometilarsónico no fue detectado o sólo a nivel trazas. Los límites de detección para las especies de arsénico fueron de 0.9 a 1.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y los límites de cuantificación de 7 a 14  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

### 1.3.5. BIOSENSORES

Un biosensor es un dispositivo analítico que presenta una combinación entre biotecnología y microelectrónicos. Los biosensores están integrados por tres componentes principales: un biocomponente (enzima, una célula completa, anticuerpo o ADN), un transductor (electroquímico, óptico o térmico) y una unidad de amplificación (Saleem, 2013). En un biosensor el analito interactúa con el biocomponente ya sea por inhibición de alguna actividad metabólica (crecimiento o actividad enzimática) o por distorsión de la conformación original de cierta biomolécula vital (ADN). Ambas estrategias de trabajo con el objetivo fundamental



de obtener una señal bioquímica, la cual es reconocida por el componente de biorreconocimiento y es convertida en una señal comprensible para el transductor (Kaur et al., 2015).

Las ventajas que poseen los biosensores son la posibilidad de hacer un gran número de mediciones con el mismo biosensor, las determinaciones son rápidas, y el dispositivo es pequeño y de fácil manejo, la desventaja que posee son la inestabilidad de los compuestos biológicos (enzimas, anticuerpos).

Male (2007) desarrolló un biosensor para As(III) usando la oxidasa arsenito, una enzima que contiene molibdeno preparada a partir del quimiolitioautótrofo NT-26 que oxida arsenito a arsenato. La enzima fue galvanostáticamente depositada en una superficie activa de un electrodo de carbón vítreo modificado con nanotubos de carbono multipared. El electrodo fue utilizado para determinar arsenitos en agua de la llave, agua de río y agua mineral comercial.

## **1.4 MÉTODOS DE ESPECIACIÓN O PRECONCENTRACIÓN**

Las técnicas de separación para la especiación de arsénico se clasifican como métodos cromatográficos y no cromatográficos.

### **1.4.1 EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE POR SUS SIGLAS EN INGLÉS)**

El uso de un adsorbente sólido para extraer analitos fue utilizado por primera vez en 1949, en la extracción de contaminantes orgánicos en agua superficial (Płotka-Wasyłka et al., 2015). La extracción en fase sólida es una técnica de extracción que se basa en la retención sobre un adsorbente sólido de los compuestos de interés disueltos en una muestra líquida. La adición de un eluyente permite eliminar los componentes de la matriz que interfieren, para después eluir y concentrar los analitos de interés (Fidalgo et al., 2007).

Los pasos que comprenden la extracción en fase sólida, se ejemplifican en la figura 1.7.

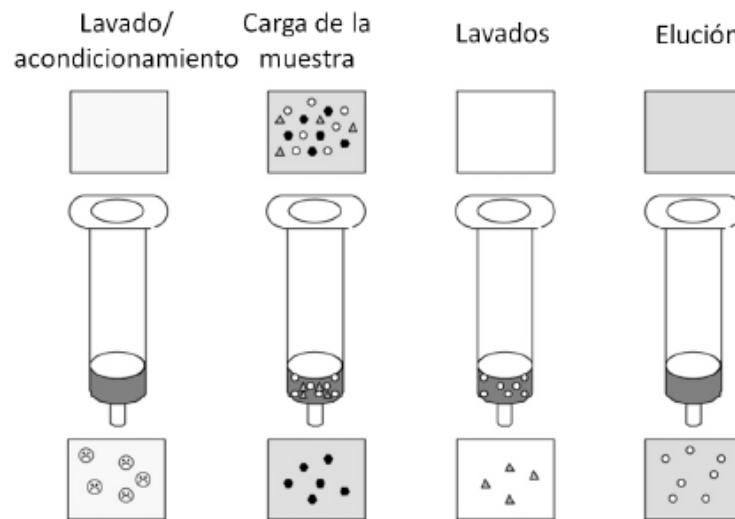


Figura 1.7. Procedimiento para la extracción en fase sólida (Díaz, 2012)

A continuación se describe que ocurre en cada paso de la extracción en fase sólida:

**Lavado/acondicionamiento:** consiste en que el adsorbente debe ser activado y acondicionado usando un disolvente apropiado, seguido del disolvente en el que se encuentra la muestra que se aplicará. Este paso es crucial ya que permite mojar el material, la solvatación de los grupos funcionales, remueve las impurezas que se puedan encontrar en el adsorbente.

**Carga de la muestra:** es la aplicación de la muestra líquida a través de una columna, un cartucho, un tubo o un disco que contiene un adsorbente que retiene a los analitos. La muestra puede pasar por la columna ayudada solo por la gravedad, vacío o por un sistema de bombeo automático. En este paso los analitos son concentrados en el adsorbente. Algunos componentes de la matriz pueden ser retenidos durante este paso, mientras otros pasan sin ser retenidos, esto debido a las diferencias en la afinidad hacia la fase estacionaria y la fase móvil.

**Lavado:** después de que toda la muestra ha pasado a través del adsorbente, se pueden llevar a cabo una serie de pasos de limpieza sobre el mismo adsorbente.

Elución: utilizando un disolvente adecuado se logra recuperar el analito de interés (Díaz, 2012)

En general los adsorbentes más empleados son los fase reversa (adsorbente no polar) y fase normal (adsorbente polar), pero existen otros adsorbentes como son los adsorbentes de intercambio iónico, adsorbentes modificados con surfactantes, nanotubos de carbono, adsorbentes inmunoselectivos y polímero molecularmente impresos, los cuales se elegirán dependiendo de las características del analito de interés.

Las ventajas que posee la técnica son la eficiencia en la preconcentración, bajo costo y reducción en el consumo de reactivos. Se puede utilizar en línea o fuera de línea.

#### **1.4.1.1 Intercambiadores iónicos**

Las resinas son partículas amorfas de material orgánico. Las resinas de poliestireno usadas como materiales estructurales en intercambiadores iónicos se obtienen por copolimerización de estireno y divinibenceno. El contenido de divinilbenceno varía de 1 a 6 % aumentando así el grado de entrecruzamiento del hidrocarburo polimérico insoluble. Los anillos de benceno pueden ser modificados produciendo una resina de intercambio catiónico, si contienen grupos sulfonato ( $-\text{SO}_3^-$ ), o una resina de intercambio aniónico, si contiene grupos amonio ( $-\text{NR}_3^+$ ).

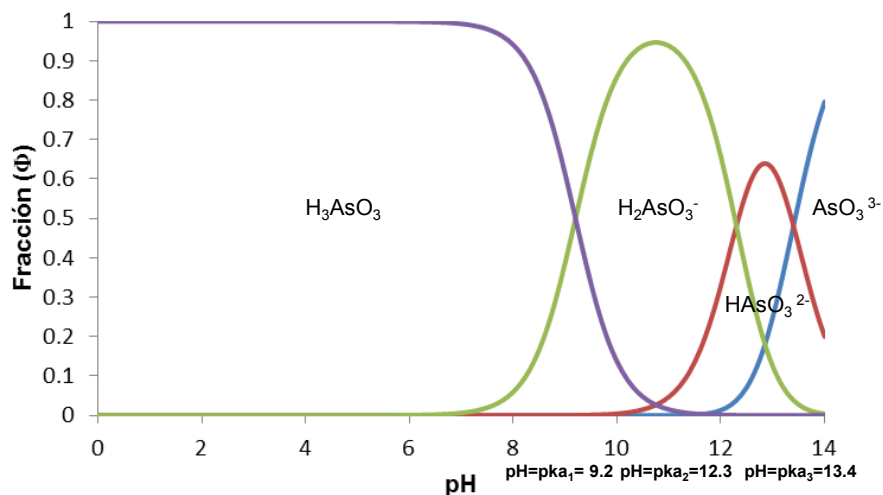
Los intercambiadores iónicos se clasifican en catiónicos o aniónicos, fuertes o débiles. Los grupos sulfonato ( $-\text{SO}_3^-$ ) de resinas catiónicas fuertes siguen ionizadas incluso en disoluciones muy ácidas. Los grupos carboxilato ( $-\text{CO}_2^-$ ) de las resinas catiónicas débiles se protonan a un pH próximo a 4, y pierden su capacidad de intercambio catiónico por debajo de ese pH. Los grupos de amonio cuaternario ( $-\text{CH}_2\text{NR}_3^+$ ) siguen siendo catiónicos a cualquier valor de pH. Los intercambiadores aniónico débiles de amonio cuaternario ( $-\text{CH}_2\text{NHR}_2^+$ ) se desprotonan en disoluciones moderadamente básicas y pierden su capacidad de unirse a aniones por encima de ese pH.

Los intercambiadores iónicos de celulosa y dextrano, poseen tamaños de poro más grandes y menores densidades de carga. Sirven para intercambio iónico de moléculas como proteínas. Los intercambiadores iónicos constituidos por dextrano y sus análogos (como el intercambiador iónico empleado en el presente trabajo cuyo nombre comercial es QAE Sephadex A-25) se llaman geles porque son mucho más blandos que las resinas de poliestireno.

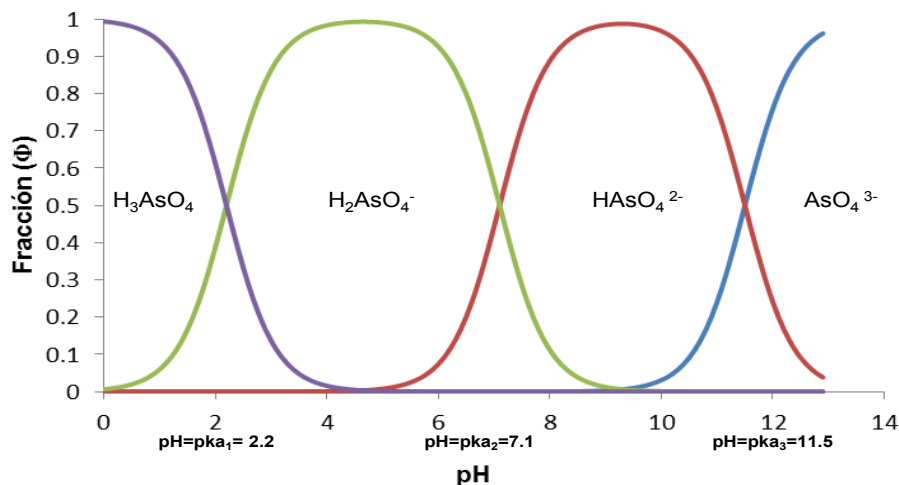
El proceso empleado para la elución de un analito de un intercambiador iónico se basa en el equilibrio Donnan, el cual describe que cuando un intercambiador iónico se introduce dentro de una disolución de electrolito, la concentración del electrolito es mayor fuera que dentro de la resina, por lo tanto se establece un equilibrio entre los iones de la disolución y los iones dentro de la resina (Harris, 2012).

#### **1.4.1.2 Aplicación de la extracción en fase sólida (SPE)**

En vista de la aplicación de los intercambiadores aniónicos para la extracción de especies de arsénico, es importante notar que los valores sucesivos de pKa del ácido arsénico [As(V)] son 2.2, 7.1 y 11.5, mientras que para el ácido arsenoso [As(III)] son 9.2, 12.3 y 13.4. Por lo tanto a pH neutro, las especies de As(V) están completamente en formas iónicas ( $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$  y  $\text{HAsO}_4^{2-}$ ) mientras que el As(III) está en forma molecular ( $\text{H}_3\text{AsO}_3$  o  $\text{HAsO}_2$ ). Esta importante diferencia puede ser usada en un sistema simple de SPE para la especiación de arsénico (Issa et al., 2010), tal como se muestra en la figura 1.8.



a)



b)

Figura 1.8. Diagrama de distribución de especies, a) As(III) y b) As(V) (Issa et al., 2010)

En el trabajo reportado por Narcise y colaboradores (2005) para determinar los niveles de As(III) y As(V) en muestras de agua, se utilizó un sistema de inyección en flujo para llevar a cabo la especiación y preconcentración empleando una resina de intercambio aniónico en forma cloruro. La detección se llevó a cabo mediante espectroscopía de absorción atómica-generador de hidruros (HG-AAS). El pH para la retención de As(V) fue de 7 y para As(III) de 12, la elución se realizó con HCl 1 mol/L. El límite de detección de As(V) y As (III+V) fue de  $0.0027 \mu\text{mol/L}$  ( $0.2 \mu\text{g/L}$ ) y un intervalo lineal para As(V) de  $0.004$  a  $0.07 \mu\text{mol/L}$  ( $0.3$ - $5 \mu\text{g/L}$ ) y

para As (III+V) 0.0027 a 0.011  $\mu\text{mol/L}$  (0.2-8  $\mu\text{g/L}$ ). El método desarrollado fue aplicado a muestras de agua de la llave y agua mineral, y se obtuvieron recobros que fueron del 90-102 %.

En años recientes varios materiales han sido adoptados para la extracción/preconcentración de especies de arsénico en muestras ambientales y biológicas, con un aumento en la selectividad y factores de preconcentración (Chen et al., 2014) tal como se presenta a continuación:

Chen y colaboradores (2009) emplearon una microcolumna empacada con nanofibras de carbono (CNFs) para la especiación y preconcentración de As(III) y As(V) previo a la determinación por ICP-MS. El As(III) fue selectivamente absorbido en la microcolumna empacada con CNFs (los cuales fueron previamente tratado con ácido nítrico concentrado) en un intervalo de pH de 1.0 a 3.0 en la presencia de pirrolidin ditiocarbamato de amonio (APDC), mientras As(V) pasa a través de la microcolumna sin ser retenida. La elución del As(III) se llevó a cabo con amoníaco 0.5 mol/L. Se obtuvo un factor de enriquecimiento de 33 para el As(III). El límite de detección de As(V) fue de 0.003  $\mu\text{mol/L}$  (0.24  $\mu\text{g/L}$ ) y para As(III) 0.06 pmol/L (0.0045  $\mu\text{g/L}$ ). El método desarrollado fue aplicado con eficiencia a muestras de agua subterránea y de lago, con recobros del 92-106 %.

Se ha reportado una metodología semejante a la anterior empleando para la retención del As(III)-Pirrolidin ditiocarbamato de amonio (APDC) en una punta de micropipeta empacada con miniesferas de poli(hidroxietil metacrilato); el As(III) adsorbido fue eluído con amoníaco 0.25 mol/L, la determinación se llevó a cabo mediante espectroscopía de absorción atómica-horno de grafito (GF-AAS), y se observa un factor de enriquecimiento de 86 para el As(III). El límite de detección de As(III) fue de 0.13 pmol/L (10 ng/L) (Doker et al., 2013).

Zhang y colaboradores (2012) desarrollaron una metodología utilizando una microcolumna empacada con poliarilétercetona que contienen grupos carboxilo para el proceso de preconcentración previo a la determinación por espectroscopía

de emisión atómica por plasma de microondas (MP-EAS), para la determinación de As y Sb. El límite de detección para arsénico fue de 3.7 pmol/L (0.27 µg/L).

#### 1.4.2 CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS Y GASES

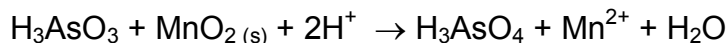
Se ha reportado un método para la especiación de arsénico en algas comestibles, la extracción de arsénico se realizó mediante microondas, la especiación por cromatografía de líquidos de alta resolución y para la detección se utilizó un sistema generador de hidruros acoplado con espectroscopía de fluorescencia atómica (HG-AFS). Se determinaron especies orgánicas e inorgánicas de arsénico, sin embargo la destrucción de la parte orgánica fue necesaria para determinarse por HG-AFS, debido a que no se generan hidruros volátiles o la eficiencia de la generación es demasiado baja. La foto-oxidación convierte a esas especies orgánicas en inorgánicas, este proceso se lleva a cabo después de la separación cromatográfica y se utiliza un oxidante fuerte ( $K_2S_2O_8$ ) en medio básico y radiación ultravioleta. El límite de detección para As(III), As(V) y el ácido monometilarsónico fue de 0.019, 0.028 y 0.007 µg g<sup>-1</sup> respectivamente (García-Salgado et al., 2012).

Richter y su equipo de trabajo (2012) reportaron una metodología para determinar As(V), As(III), MMA y DMA realizando una derivatización con tioglicolatos o ditioles y realizando la separación mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas. Se evaluaron como agentes derivatizantes metilglicolato, etiltioglicolato, 1,3-propanoditiol y 1,5-pentanoditiol. Obteniendo una conversión más eficiente de DMA y MMA utilizando etiltioglicolato como agente derivatizante. Las especies inorgánicas no fueron detectadas con la misma sensibilidad que DMA y MMA. El límite de detección para DMA y MMA fue de 0.08 y 0.019 µmol/L (6 y 14 µg/L) respectivamente.

#### 1.5 OXIDACIÓN DE ARSEMITOS ( $H_3AsO_3$ )

Se ha reportado la oxidación de arsenitos, empleando diferentes agentes oxidantes, tales como  $H_2O_2$ , NaClO,  $FeCl_3$ ,  $KMnO_4$  y  $MnO_2$  (Lenoble et al., 2003).

En el presente proyecto se utilizó como agente oxidante una minicolumna empacada con óxido de manganeso (IV). La reacción que ocurre a pH 1.5 es la siguiente:



El mecanismo de reacción que se sigue es un tema bastante debatido, encontrando evidencia experimental para el mecanismo de un paso (por transferencia de 2 electrones) y para el mecanismo de dos pasos (transferencia de un electrón) (Escobar, 2012).

## 1.6 ANÁLISIS POR INYECCIÓN SECUENCIAL

En la década de los setentas apareció por primera vez el término de análisis por inyección en flujo (FIA por sus siglas en inglés) como un nuevo concepto que tuvo un fuerte impacto entre los métodos de análisis químico automáticos. Esta técnica de análisis de flujo continuo fue iniciada casi simultáneamente por Ruzicka y Hanse en 1975 en Dinamarca y por Stewart, Beecher y Hare en 1975 en Estados Unidos (Ruzicka y Hansen, 1975 y Stewart et al., 1976).

En los noventas, Ruzicka y Marshall proponen una importante metodología innovadora en el área de análisis de flujo continuo que mantiene las ventajas asociadas con el análisis por inyección en flujo pero reduce los inconvenientes que obstaculizaban su utilización como una herramienta de rutina (Ruzicka y Marshall, 1990).

Esta nueva metodología fue llamada Análisis por Inyección Secuencial (SIA por sus siglas en inglés). Aunque los sistemas de aspiración y propulsión en SIA son diferentes a los usados en FIA, los principios básicos y fundamentales son en gran medida similares.

En la inyección secuencial zonas bien definidas de muestra y reactivos son aspiradas y posteriormente dispensadas. Las zonas se dispersan y penetran mutuamente, permitiendo una zona de traslape reproducible. Consecuentemente,



los productos de reacción se forman en áreas bien definidas de gradientes de concentración y las señales transitorias generadas proporcionan resultados analíticos reproducibles. Se muestra en la figura 1.9.

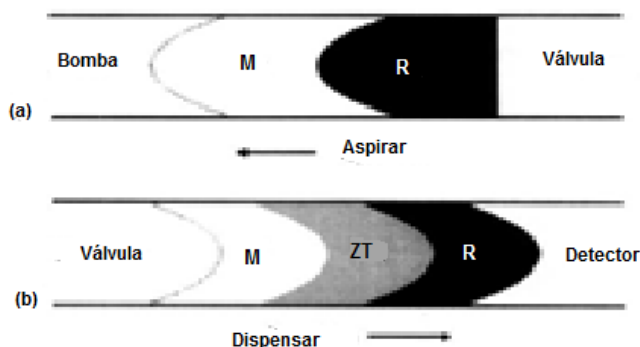


Figura 1.9. Representación de zonas de reactivo y muestra. a) Apilados en el bucle de espera b) En el reactor después de revertir el flujo. R: zona de reactivo, M: zona de muestra y ZT: Zona de traslape (Pérez-Olmos et al., 2005)

### 1.6.1 COMPONENTES DE UN SISTEMA DE ANÁLISIS POR INYECCIÓN SECUENCIAL

Los elementos principales con los que cuenta una configuración de análisis por inyección secuencial se muestran en la figura 1.10.

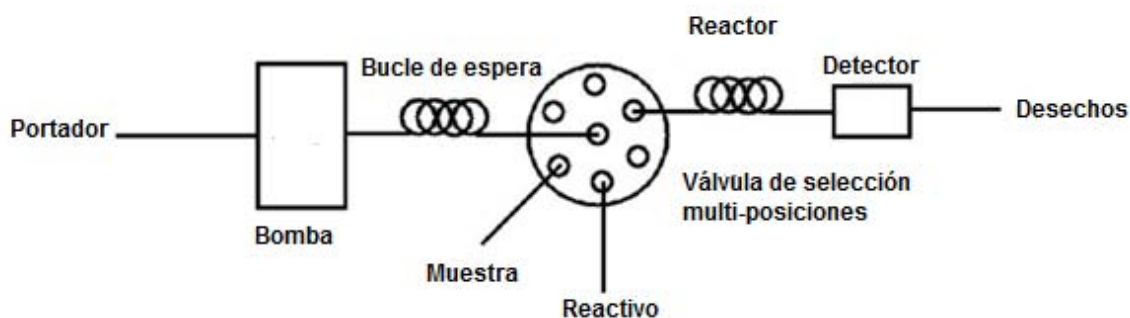


Figura 1.10. Esquema de un sistema básico SIA (Economou, 2005)

a) Válvula de selección multi-posiciones que permite aspirar los diferentes reactivos y la muestra en el orden adecuado.

b) Unidad de propulsión que establece un caudal controlado. Puede ser una bomba peristáltica, bomba de jeringa o un sistema de pistones.

c) Bucle de espera, necesario para contener las zonas de reactivos y muestra evitando que entren al contenedor del acarreador. Se controla el tamaño y forma de éste con el fin de evitar la contaminación del acarreador e iniciar la dispersión de zonas que favorecen el traslape de las mismas y el inicio de la reacción de interés.

d) Reactor, este consiste en tubería de teflón que se coloca en la configuración con el objetivo de favorecer el traslape de las zonas para obtener el producto de reacción detectable. Puede variar la geometría, la longitud y temperatura de acuerdo al método.

e) Celda de flujo, para realizar la detección continua de la propiedad a medir (absorbancia, fluorescencia, potencial, etc).

f) Detección, debe tener un programa que permita observar y almacenar el esquema y datos de la señal transitoria durante el análisis (Silva, 2013).

### **1.6.2 VENTAJAS DEL ANÁLISIS POR INYECCIÓN SECUENCIAL**

- En SIA, la bomba peristáltica multi-canal comunmente usada en FIA puede ser remplazada por una bomba de jeringa que es mas robusta y precisa.
- En SIA, el consumo de muestra y reactivos se reduce drásticamente.
- La operación de un sólo canal en SIA permite el uso de la misma configuración e implementar un amplio intervalo de ensayos, tal como aparece en la figura 1.11.
- En SIA, el manejo de zonas de muestra y de reactivo puede realizarse en forma automática, mediante un programa computacional (Economou, 2005).

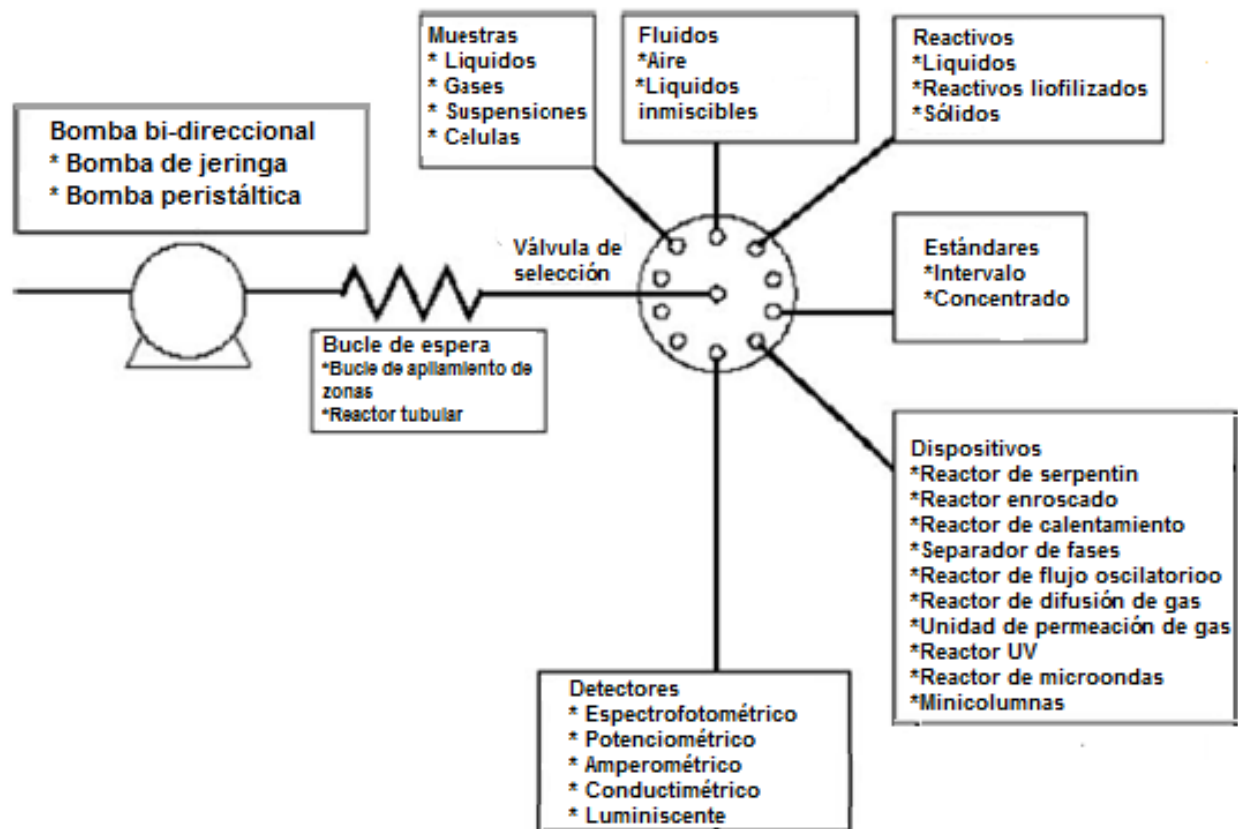


Figura 1.11. Potencial del sistema SIA para el pre-tratamiento de muestras (Marshall et. al., 2003)

### 1.6.3 CARACTERÍSTICAS DEL ANÁLISIS POR INYECCIÓN SECUENCIAL

- El flujo es continuo y está programado.
- Las muestras y los reactivos son inyectados (aspirados) en un orden y con volúmenes determinados. Es posible debido al uso de una válvula de selección. Inicialmente se aspiran zonas de reactivos y muestra hacia el bucle de espera y posteriormente el bolo es enviado al detector para cuantificar el producto de interés.
- Dispersión controlada de la muestra y reactivos. Se produce una mezcla incompleta pero reproducible que da lugar a un gradiente de concentración variable a lo largo del sistema. La manipulación de la dispersión se realiza

mediante el control de las características geométricas e hidrodinámicas del sistema.

- Coordinación reproducible. La reproducibilidad de las medidas se logra al alcanzar la repetibilidad de todos los eventos de un ciclo de mediciones, incluyendo la secuencia de aspiración de muestra y reactivos, así como la dispensación del bolo hacia el reactor y detector, la longitud de reactor o tiempo de flujo detenido en su caso.
- En el momento de la detección de la señal no se alcanza el equilibrio físico ni químico (Silva, 2013).

#### 1.6.4 RESPUESTA PARA EL ANÁLISIS POR INYECCIÓN SECUENCIAL (SIAGRAMA)

La respuesta de la unidad de detección de un sistema SIA es una señal transitoria. Se trata de una representación de la señal analítica (absorbancia, fluorescencia, potencial, etc) en función del tiempo como se muestra en la figura 1.12.

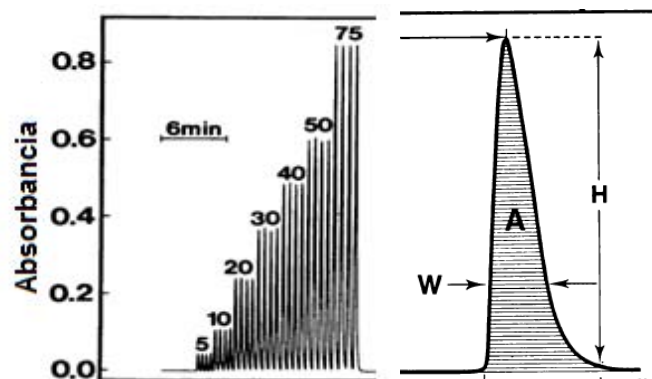


Figura 1.12 Representación de un siagrama. a) curva de calibración, la altura del pico va aumentando al aumentar la concentración de los estándares inyectados. b) ampliación de un pico, A: Área de pico, H: Altura, W: Ancho (Ruzicka y Hansen, 1988)

La característica más importante es que la altura del pico obtenido se relaciona con la concentración del componente que se determina en la muestra inyectada (Silva, 2013).

### 1.6.5 DISPERSIÓN

Es fundamental en las técnicas basadas en flujo continuo el diseño de los canales, debido a que es el lugar donde la muestra y los reactivos son mezclados, y ocurren los procesos de dispersión mientras la reacción química se lleva a cabo. La aplicación en tiempo real es la combinación de los procesos de convección y difusión que se llevan a cabo entre los reactantes, es un proceso que se logra de forma rápida, fácil y clara, y el mezclado es el objetivo principal.

Los sistemas basados en flujo son más complejos que los sistemas al equilibrio, debido a que el mezclado ha sido considerado en las tres dimensiones, logrando la dispersión en dos direcciones: radial o perpendicular a la dirección del flujo y axial o longitudinal al flujo. Se ha demostrado que la difusión axial en un tubo estrecho no es significativa mientras que la difusión radial siempre es importante (Kolev y Mckelvine, 2008). En la figura 1.13 se presentan los procesos de transporte.

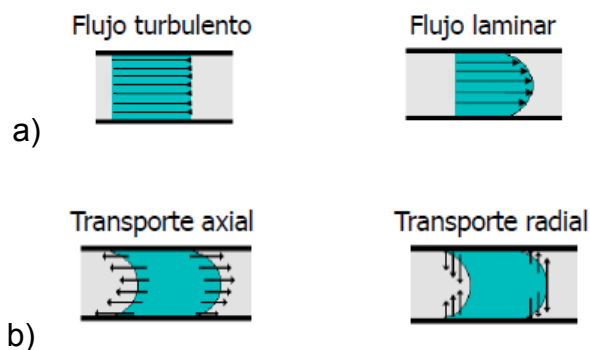


Figura 1.13. a) Transporte convectivo. b) Transporte difusional (Cañizares, 2013)

En SIA la inyección se realiza en varios pasos. Un paso muy importante que favorece la dispersión de las zonas es el cambio de dirección del flujo, para enviar el paquete de reactivos y muestra desde el bucle de espera hacia el detector.

El coeficiente de dispersión ( $D$ ) se define con la ecuación 1.4

$$D = C^2 / C \quad \text{Ecuación 1.4}$$

en la que  $C^{\circ}$  es la concentración del analito en la muestra inyectada y  $C$  es la concentración correspondiente a la obtenida en el detector. En la figura 1.14 se observan diferentes valores de coeficiente de dispersión.

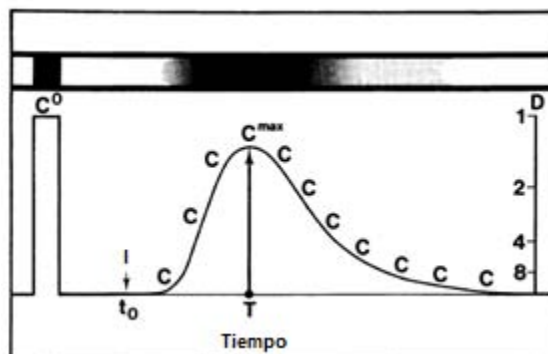


Figura 1.14. Una zona de muestra homogénea (arriba a la izquierda), la cual es dispersada debido al movimiento a través de un reactor tubular (arriba al centro) así cambia de un perfil original cuadrado (abajo a la izquierda) de una concentración original  $C^{\circ}$  a un gradiente de concentración continuo con una concentración máxima  $C^{\max}$  en la cima del pico (Ruzicka y Hansen, 1988)

En la dispersión intervienen tres variables interrelacionadas y controlables: el volumen de la muestra, la longitud del reactor y la velocidad del caudal como se observa en la figura 1.15.

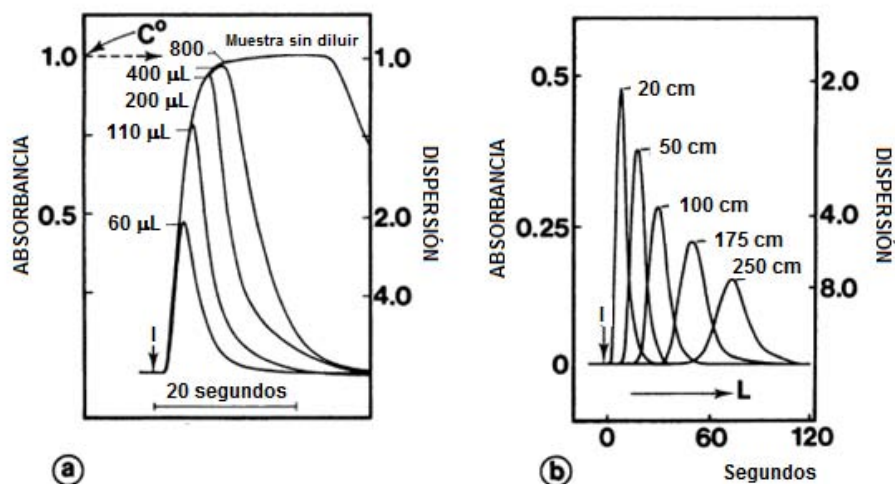
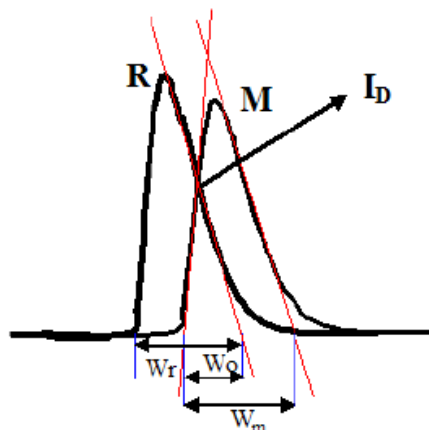


Figura 1.15 a) Efecto de la dispersión por el volumen de muestra, el volumen en  $\mu\text{L}$ . b) Efecto de la longitud del reactor,  $L$ : longitud en  $\text{cm}$  (Ruzicka y Hansen, 1988)

### 1.6.6 SOLAPAMIENTO DE ZONAS

Un parámetro de gran importancia es el solapamiento de las zonas. Éste depende de los volúmenes relativos, del diámetro interno y longitud de la tubería y de la geometría del reactor. Se observa el solapamiento en la figura 1.16.



**Figura 1.16.** Descripción de la zona de traslape. R: zona de reactivo, M: zona de muestra y  $I_D$  es el punto de isodispersión y  $W_r$ ,  $W_o$  y  $W_m$  son los anchos de las zonas de reactivo, traslape y muestra respectivamente (Silva, 2007)

Se ha medido el grado de solapamiento de las zonas y se define para ayudar a comprender la dispersión de las zonas. El grado de solapamiento y la dispersión determinan la señal relativa que se obtendrá. Se puede definir el solapamiento de zonas ( $P$ ) como se presenta en la ecuación 1.5.

$$P = 2W_o (W_m + W_r) \quad \text{Ecuación 1.5}$$

donde  $W_o$  es el ancho de la base de la zona de superposición y  $W_m$  y  $W_r$  son los anchos de línea base de la muestra y del reactivo, respectivamente. Cuando  $W_m + W_r = 2W_o$ , hay una superposición completa, con un solapamiento con valor de uno. El grado de solapamiento se encuentra entre 0 y 1, es decir hay solapamiento parcial.

El grado de solapamiento depende del volumen de muestra y reactivos, una zona de volumen pequeña resulta en el incremento del solapamiento pero la dispersión

es relativamente grande, incrementando el volumen decrece el solapamiento pero la dispersión del punto de isodispersión (punto máximo de solapamiento) es menor y con volúmenes grandes se requieren tiempos de análisis mayores. Normalmente el volumen inyectado de la muestra debe ser menor al volumen llamado  $S_{1/2}$ , que corresponde al volumen necesario para alcanzar una dispersión de 2 (dilución 1:1). El volumen de reactivo debe ser al menos dos veces el volumen de la muestra (Christian, 1994).



## CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

### 2.1 MATERIALES Y REACTIVOS

#### 2.1.1 INSTRUMENTACIÓN

Para construir la configuración de análisis por inyección secuencial se usó: una bomba peristáltica de 4 canales (Gilson Minipuls-3), una válvula de inyección de seis canales (Rheodyne), tubería de tygon de 0.32 mm y tubería de teflón de 0.5, 0.8 y 1.57 mm de diámetro interno. Se utilizó una celda de flujo de 1 cm de paso óptico, fibras ópticas de 400  $\mu\text{m}$  (Ocean Optics) y un espectrofotómetro UV-Visible (Ocean Optics), el cual se controló con el programa Spectra Suite. Se utilizó un baño termostático (Lab-line) para controlar la temperatura de la reacción de azul de molibdeno, la cual se midió empleando un termómetro de mercurio. Se utilizó un sonicador (2510 Branson) para eliminar el aire disuelto en las disoluciones.

Para pesar las sustancias se utilizó una balanza marca Ohaus con una precisión de 0.1 mg.

Se utilizó material de vidrio común, el cual fue previamente lavado con detergente libre de fosfatos y fue enjuagado minuciosamente con agua corriente y posteriormente con agua destilada.

#### 2.1.2 REACTIVOS

Se emplearon los siguientes reactivos grado analítico:  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Sigma-Aldrich),  $\text{NaAsO}_2$  (Sigma-Aldrich), ácido ascórbico  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$  (Sigma-Aldrich),  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (Sigma-Aldrich),  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (J.T. Baker),  $\text{MnO}_2$  (Sigma-Aldrich, malla 60-230), NaOH (Fermont), KCl (Reasol). Se utilizó la resina de intercambio aniónico fuerte, QAE Sephadex A-25 (Sigma-Aldrich, 2.6-3.4 meq/g).

### 2.1.3 PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES

Para llevar a cabo el desarrollo experimental se prepararon las siguientes disoluciones:

1.-Disolución madre de 500 mg/L de As(V). Se preparó a partir de  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Se pesaron 210 mg del compuesto que se disolvieron en agua desionizada para llevar a un aforo de 100 mL. La vida útil de la disolución en refrigeración fue de 2 meses y la medición de la disminución de la concentración de arsénico se realizó utilizando la reacción de azul de molibdeno empleando el sistema SIA.

2.- Disolución madre de 500 mg/L de As(III). Se preparó a partir de  $\text{NaAsO}_2$ . Se pesaron 87 mg del compuesto que se disolvieron en agua desionizada y se llevó a un aforo de 100 mL. La vida útil de la disolución en refrigeración fue de 2 meses y la medición de la disminución de la concentración de arsénico se realizó utilizando la reacción de azul de molibdeno empleando el sistema SIA, para lo cual fue necesario un paso de oxidación del arsenito.

3.-Ácido ascórbico 6%. Se pesaron 0.3 g de ácido ascórbico que se disolvieron en agua desionizada y se llevó a un aforo de 5 mL. Esta disolución se preparó diariamente.

4.-Ácido sulfúrico 3 mol/L. Se midieron 0.8 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado y se agregaron a 2 mL de agua desionizada y se llevó a un aforo de 5 mL. Esta disolución se preparó diariamente.

5.- Molibdato de amonio 0.6% en medio ácido. Se preparó pesando 60 mg de  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  que se disolvió en aproximadamente 5 mL de agua desionizada, se agregó 1 mL de la disolución de ácido sulfúrico 3 mol/L y se aforó a 10 mL. Esta disolución se preparó diariamente.

6.-Cloruro de potasio 0.5 mol/L. Se preparó pesando 0.3728 g de KCl que se disolvió en aproximadamente 5 mL de agua desionizada y se aforó a 10 mL.

7.- Hidróxido de sodio 1 mol/L. Se preparó pesando 0.20 g de NaOH que se disolvió en aproximadamente 15 mL de agua desionizada hervida y se aforó a 50 mL.

8.- Ácido clorhídrico 1 mol/L. Se midieron 4.2 mL de HCl concentrado y se agregaron a 10 mL de agua desionizada y se llevó a un aforo de 50 mL.

Las disoluciones y el portador (agua desionizada) fueron sonicados por 20 minutos, para poder ser utilizados en los métodos en flujo.

## 2.2 DESARROLLO EXPERIMENTAL

En la figura 2.1 se presenta un diagrama en donde se ejemplifican las metodologías desarrolladas para determinar arsénico, ya sea en forma de arsenato o arsenito. De la sección 2.2.1 a 2.2.4 (en verde) se presentan a detalle las condiciones en las que se llevaron a cabo: en lila, se presenta la configuración SIA utilizada para As(V) y las condiciones empleadas, así como los diseños experimentales realizados (cuando aplica).

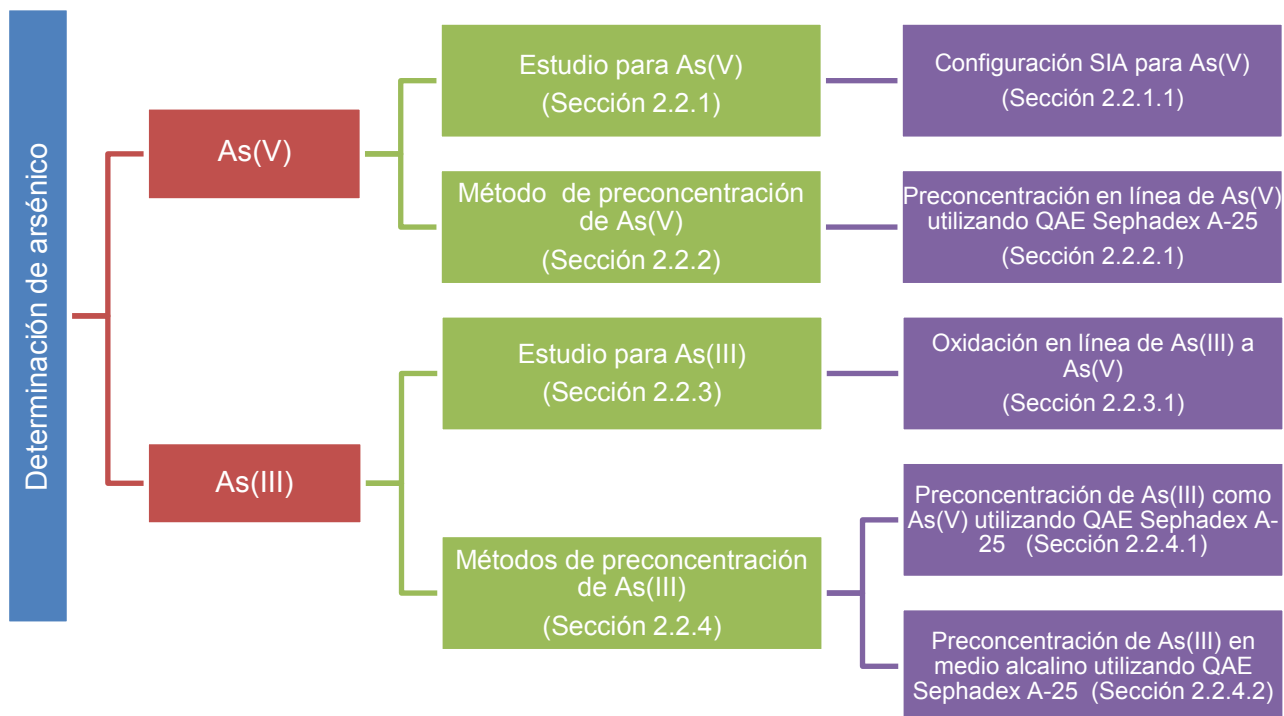
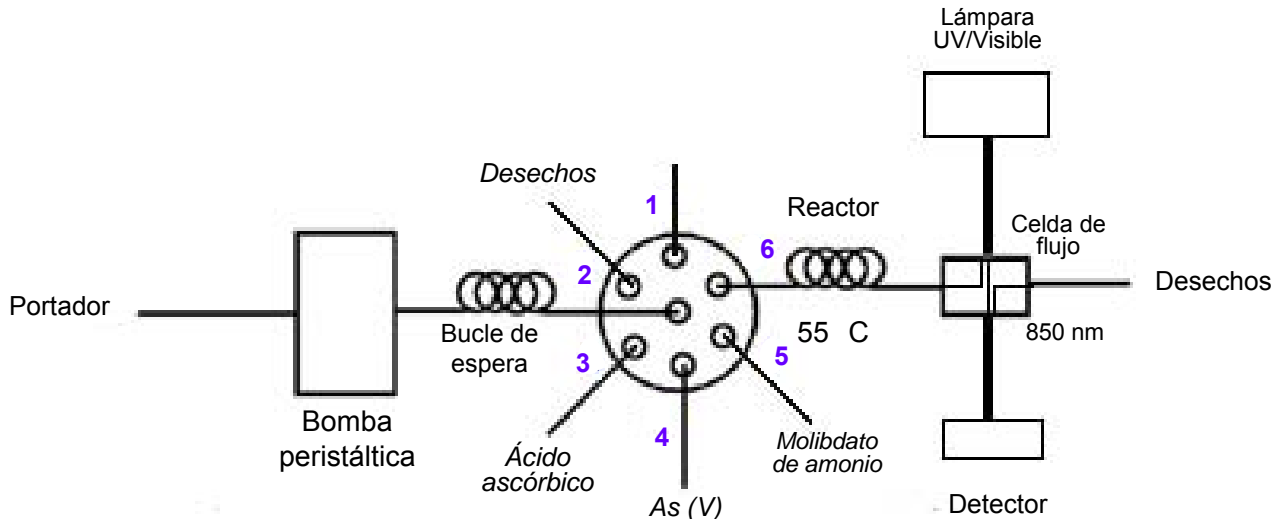


Figura 2.1. Diagrama de metodologías desarrolladas en este trabajo

## 2.2.1 ESTUDIO PARA As(V)

### 2.2.1.1 Configuración SIA para As(V)

La configuración para arsenatos (configuración I) estuvo conformada por dos reactores que corresponden a un bucle de espera y un reactor de reacción, conectados a una válvula de selección de seis puertos, una bomba peristáltica y un detector UV-Vis con conexiones de fibra óptica. El reactor de reacción se sumergió en un baño de agua a una temperatura de  $55 \pm 1^\circ \text{C}$ . La detección se realizó a 850 nm. Se utilizó la configuración I que se muestra en la figura 2.2.



**Figura 2.2. Configuración I. Esquema general de la configuración SIA para determinar As(V). Ácido ascórbico (6%), molibdato de amonio (0.6% en ácido sulfúrico 0.3 mol/L). Portador: Agua desionizada**

La secuencia de inyección empleada para cuantificar As(V) se presenta en la tabla 2.1.

Tabla 2.1. Secuencia de inyección para arsenatos

Paso	Posición de la válvula de selección	Función	Dirección del flujo	Volumen ( $\mu\text{L}$ )	Tiempo (s)	Caudal ( $\text{mL}/\text{min}$ )	Descripción
A	3	Aspirado	Bucle de espera	96	20	0.29	Aspiración de ácido ascórbico
B	4	Aspirado	Bucle de espera	96	20	0.29	Aspiración de As(V)
C	5	Aspirado	Bucle de espera	96	20	0.29	Aspiración de molibdato de amonio
D	6	Dispensado	Reactor	1575	135	0.7	Formación del producto de reacción en el reactor Medición a 850 nm

## 2.2.2 MÉTODO DE PRECONCENTRACIÓN DE As(V)

### 2.2.2.1 Preconcentración en línea de As(V) utilizando la resina de intercambio aniónico fuerte (QAE Sephadex A-25)

La configuración para la preconcentración de As(V) (configuración II) se realizó utilizando una minicolumna de 3 cm empacada con 15 mg de resina de intercambio aniónico fuerte (la minicolumna se empacó utilizando tubería de teflón de diámetro interno de 1.53 mm) que se conectó a una válvula de selección de seis puertos y una bomba peristáltica. Se utilizó la configuración que aparece en la Figura 2.3. Una vez preconcentrado el As(V) fue cuantificado utilizando la configuración I (figura 2.2).

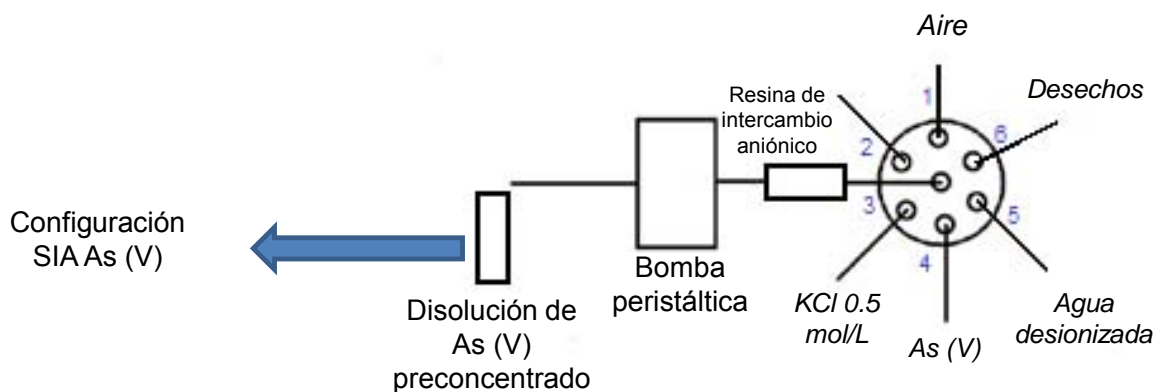


Figura 2.3. Configuración II. Esquema general para la preconcentración de As(V) empleando la minicolumna de resina de intercambio aniónico fuerte (QAE Sephadex A-25)

La secuencia de inyección empleada para la preconcentración de As(V) se muestra en la tabla 2.2.

**Tabla 2.2. Secuencia de preconcentración de As(V)**

Paso	Posición de la válvula de selección	Función	Dirección del flujo	Volumen ( $\mu\text{L}$ )	Tiempo (s)	Caudal (mL/min)	Descripción
A	4	Aspirado	Columna	30000	1250	1.44	Carga de la disolución de As(V)
B	5	Aspirado	Columna	500	42	0.72	Lavado con agua desionizada
C	1	Aspirado	Columna	500	42	0.72	Expulsión del agua desionizada
D	3	Aspirado	Columna	260	22	0.72	Elución de As(V) con KCl 0.5 mol/L
E	1	Aspirado	Columna	720	60	0.72	Expulsión de la disolución de KCl 0.5 mol/L
F	5	Aspirado	Columna	500	42	0.72	Lavado con agua desionizada

### **2.2.2.1.1 Diseño experimental para la optimización de la preconcentración de As(V)**

Los cuatro factores que se evaluaron para la preconcentración de As(V) usando la columna QAE Sephadex A-25 fueron: el caudal de carga, el pH de disolución de As(V), largo de columna de resina y volumen de carga. El objetivo de realizar el diseño experimental fue determinar el efecto que tenían los cuatro factores sobre la preconcentración y saber así cuales resultaban más importantes desde el punto de vista estadístico.

Se seleccionó un diseño factorial  $2^{4-1}$  (media fracción) para reducir el número de experimentos que se llevarían a cabo en comparación con el diseño factorial  $2^4$ , pasando de 16 a 8 experimentos. Y se realizó un punto central (por duplicado), esto con la finalidad de aumentar los grados de libertad y evaluar mejor el error.

Los factores estudiados y los valores son los que se presentan en la tabla 2.3.

Tabla 2.3. Diseño experimental para la preconcentración de As(V)

Factores	Nivel bajo	Nivel intermedio (punto central)	Nivel alto
Caudal de carga (mL/min)	0.72	1.08	1.44
pH de disolución de As(V)	4.4	5.8	7.2
Largo de columna de resina (cm)	1	2	3
Volumen de carga (mL)	18	24	30

### 2.2.3 ESTUDIO PARA As(III)

#### 2.2.3.1 Oxidación de As(III) a As(V) en línea

La configuración para la oxidación de As(III) a As(V) (configuración III) está conformada por una minicolumna de 7 cm empacada con 240 mg de óxido de manganeso(IV) (la minicolumna se construyó utilizando tubería de teflón de diámetro interno de 1.53 mm), conectada a una válvula de selección de seis puertos y una bomba peristáltica. Se utilizó la configuración que aparece en la figura 2.4. Una vez oxidado el As(III) fue cuantificado como As(V) utilizando la configuración I (figura 2.2)

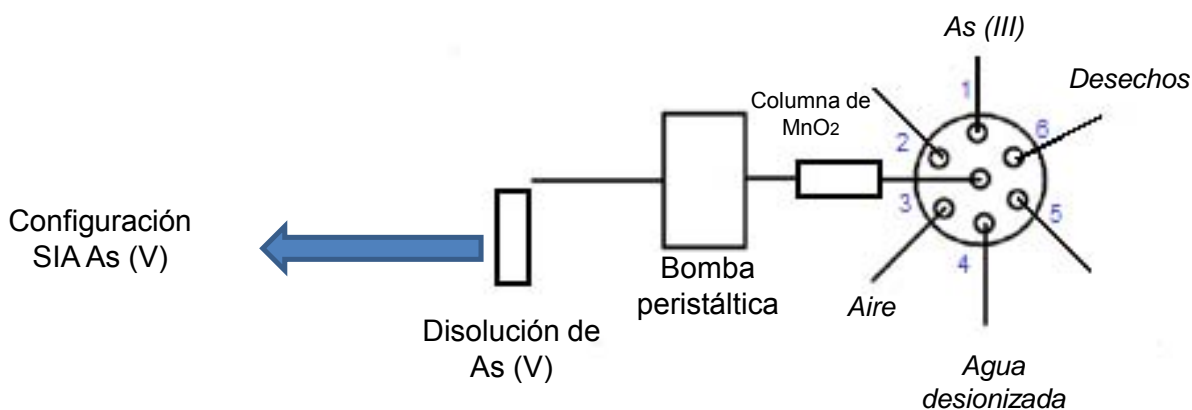


Figura 2.4. Configuración III. Esquema general para oxidación de As(III)

La secuencia de inyección empleada para la oxidación de As(III) se encuentra en la tabla 2.4.

Tabla 2.4. Secuencia de inyección para oxidación de arsenitos

Paso	Posición	Función	Dirección del flujo	Volumen ( $\mu\text{L}$ )	Tiempo (s)	Caudal ( $\text{mL}/\text{min}$ )	Descripción
A	1	Aspirado	Columna de $\text{MnO}_2$	500	115	0.26	Oxidación de disolución de $\text{As(III)}$
B	3	Aspirado	Columna de $\text{MnO}_2$	260	60	0.26	Expulsión de la disolución de $\text{As(III)}$
C	4	Aspirado	Columna de $\text{MnO}_2$	260	60	0.26	Lavado de la columna de $\text{MnO}_2$ con agua desionizada
D	3	Aspirado	Columna de $\text{MnO}_2$	130	30	0.26	Expulsión del agua desionizada

### 2.2.3.1.1 Diseño experimental para la optimización de oxidación de $\text{As(III)}$ a $\text{As(V)}$

Los tres factores que se evaluaron para la oxidación de  $\text{As(III)}$  usando la minicolumna de  $\text{MnO}_2$  fueron: caudal de carga, pH de disolución de  $\text{As(III)}$ , largo de columna y volumen de carga.

Se estableció un diseño experimental para determinar la influencia de estos factores en la oxidación de  $\text{As(III)}$  para así lograr las mejores condiciones descritas en el punto anterior. El  $\text{As(III)}$  una vez oxidado a  $\text{As(V)}$  fue cuantificado utilizando la configuración I (figura 2.2).

Se seleccionó un diseño factorial  $2^3$  sin replicas y se realizaron 8 experimentos. Los factores estudiados y los valores fueron los que se presentan en la tabla 2.5.

Tabla 2.5. Diseño experimental para la oxidación de  $\text{As(III)}$ 

Factores	Nivel bajo	Nivel alto
Caudal ( $\text{mL}/\text{min}$ )	0.15	0.24
pH de la disolución de $\text{As(III)}$	1.5	2.8
Largo de columna de $\text{MnO}_2$ (cm)	3.8	5



## **2.2.4 MÉTODOS DE PRECONCENTRACIÓN PARA As(III)**

### **2.2.4.1 Método de preconcentración de As(III) como As(V) utilizando la resina de intercambio aniónico fuerte (QAE Sephadex A-25)**

La oxidación se llevó a cabo a un valor de pH 7, utilizando la configuración III mostrada en la figura 2.4 y siguiendo la secuencia de la tabla 2.4. Para determinar As(III) en concentraciones de 6.7 a 7  $\mu\text{mol/L}$  (0.5 a 7  $\text{mg/L}$ ) no fue necesario hacer una preconcentración, pero para concentraciones menores a 6.7  $\mu\text{mol/L}$  (0.5  $\text{mg/L}$ ) es un proceso necesario, por lo cual una vez oxidado el As(III) este fue preconcentrado usando la configuración II mostrada en la figura 2.3 y de acuerdo al procedimiento descrito en la tabla 2.2.

### **2.2.4.2 Preconcentración de As(III) en medio alcalino utilizando la resina de intercambio aniónico fuerte (QAE Sephadex A-25).**

La configuración usada es similar a la configuración II mostrada en la figura 2.2.2. La diferencia existente entre la preconcentración de As(V) y As(III) es el pH que debe tener la disolución. La preconcentración de arsenatos se llevó a cabo a un valor de pH 7.2 y la preconcentración de arsenitos a un valor de pH 11. La elución en ambos casos se realizó con 260  $\mu\text{L}$  de KCl 0.5  $\text{mol/L}$ . Una vez eluido el As(III), la disolución se acidificó para poder llevar a cabo la oxidación; la acidificación se logró añadiendo 15  $\mu\text{L}$  de HCl 2  $\text{mol/L}$  y se utilizó el procedimiento de oxidación de As(III) utilizando la configuración III mostrada en la figura 2.4 y siguiendo la secuencia de la tabla 2.4.

## **2.3 CÁLCULOS**

### **2.3.1 CÁLCULO DE FACTOR DE PRECONCENTRACIÓN**

El factor de preconcentración es el valor que permite saber cuántas veces se está preconcentrando la disolución de As(V).

Para realizar el cálculo de factor de preconcentración se prepararon disoluciones de arsenatos a concentración conocida, se llevó cabo la preconcentración y posteriormente se determinó la concentración con la curva de calibración de As(V) sin preconcentrar.

La expresión para calcular el factor de preconcentración (FP) es la que aparece en la ecuación 2.1.

$$FP = \frac{\text{Concentración final As (V)}}{\text{Concentración inicial de As (V)}} \quad \text{Ecuación 2.1}$$

Donde la *Concentración inicial As(V)* es la concentración a la que se preparó la disolución y *Concentración final As(V)* es la concentración obtenida después de preconcentrar que se obtiene con la curva de calibración de As(V) sin preconcentrar.

La curva de calibración del As(V) sin preconcentrar se realizó preparando disoluciones de As(V) las cuales fueron aforadas con una disolución de KCl 0.5 mol/L.

### 2.3.2 CÁLCULOS DE LOS LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN

El límite de detección (LD) es la concentración de analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco más tres veces la desviación estándar de éste. La expresión algebraica es la correspondiente a la ecuación 2.2.

$$y - y_B = 3s_B \quad \text{Ecuación 2.2}$$

donde  $y$  es la señal de una disolución del analito en una concentración igual al límite de detección,  $y_B$  es la señal del blanco y  $s_B$  es la desviación estándar del blanco. En la práctica es aceptable el uso del valor calculado de la ordenada al origen ( $b$ ) y la desviación estándar que estima el error aleatorio en la dirección  $y$  ( $s_{y/x}$ ) en lugar de la señal del blanco y su respectiva desviación estándar.

Una suposición básica del método de los mínimos cuadrados no ponderados es que cada punto en la representación gráfica (incluido el punto que representa el blanco) tiene una variación distribuida normalmente (en la dirección  $y$ ) con una desviación estándar estimada por  $s_{y/x}$ . Es por tanto adecuado utilizar  $s_{y/x}$  en lugar de  $s_B$  en la estimación del límite de detección y de cuantificación. Es por supuesto, posible realizar el experimento del blanco varias veces y obtener un valor independiente para  $s_B$ , y si son correctos los supuestos mencionados los dos métodos de estimar  $s_B$  no diferirán significativamente (Miller y Miller, 2002).

La ecuación para determinar la señal de absorbancia  $A_{LD}$  de cada curva de calibración es la que aparece en la ecuación 2.3.

$$A_{LD} = b + 3s_{y/x} \quad \text{Ecuación 2.3}$$

La desviación estándar  $s_{y/x}$  de una curva de calibración se determina con la ecuación 2.4.

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} \quad \text{Ecuación 2.4}$$

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

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

El límite de cuantificación (LC) donde la señal  $A_{LC}$  debe ser igual a la del blanco más diez veces el valor de la desviación estándar, como se expresa en la ecuación 2.5.

$$A_{Lc} = b + 10s_{y/x} \quad \text{Ecuación 2.5}$$

Una vez obtenido este valor de absorbancia se sustituyó en la ecuación de la curva de calibración analizado y se despejó la concentración del analito (Miller y Miller, 2002).

## 2.4 EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS

### 2.4.1 REPETIBILIDAD

Para verificar la precisión de los métodos se calculó la repetibilidad para la determinación de As(V) y As(III) sin preconcentrar.

Para realizar esta prueba se eligió una concentración intermedia de As(V) y As(III), la cual fue de 53.4  $\mu\text{mol/L}$  (4 mg/L), con la que se trabajó por un día. Se prepararon dos disoluciones de la misma concentración seleccionadas y se analizaron once veces cada una. Con ayuda de la curva de calibración, se calculó la concentración obtenida utilizando la ecuación de la curva y se calculó el promedio de las concentraciones de cada disolución y se determinó la desviación estándar relativa.

La expresión algebraica para la desviación estándar relativa (% *DER*) es la correspondiente a la ecuación 2.6.

$$\% \text{ DER} = \frac{s}{x} \quad \text{Ecuación 2.6}$$

donde % *DER* es el porcentaje de desviación estándar relativa o coeficiente de variación, *s* es la desviación estándar y *x* es la media aritmética.

La desviación estándar  $s$  se determina con la ecuación 2.7.

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - x)^2}{n-1}} \quad \text{Ecuación 2.7}$$

donde  $s$  es la desviación estándar,  $x_i$  es el resultado de la  $i$ -ésima medición,  $x$  es la media aritmética y  $n$  es el número de mediciones.

### **CAPÍTULO III. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS**

A continuación se presentan los resultados obtenidos empleando las diferentes metodologías propuestas para determinar arsénico, ya sea como arsenato o como arsenito y sus respectivas preconcentraciones.

#### **3.1 DETERMINACION DE As(V)**

##### **3.1.1 IMPLEMENTACIÓN DE LA CONFIGURACIÓN DE ANÁLISIS POR INYECCIÓN SECUENCIAL (SIA) PARA ARSENATOS**

La construcción de la configuración SIA para la determinación de arsenatos por medio de la reacción de azul de molibdeno se basó en los resultados obtenidos previamente por nuestro grupo de investigación (Ramírez, 2007 y Silva, 2013), sin embargo fue necesario realizar el ajuste de algunos parámetros en este proyecto debido a que la configuración SIA reportada en dichos trabajos no correspondía exactamente a la actualmente utilizada y al emplear las condiciones experimentales propuestas por Silva (2013) se obtenían señales analíticas muy bajas.

Entre las diferencias existentes con los trabajos previamente realizados y el proyecto actual se encuentran el sistema de detección utilizado: en el trabajo de 2007 se utilizó para la medición espectrofotométrica una celda de cuarzo acoplada a un espectrofotómetro convencional y en el trabajo de 2013 se utilizó un sistema miniaturizado de detección que consistió en el empleo de fibras ópticas. En cuanto a las características del equipo empleado, el utilizado por Ramírez (2007) era un sistema semiautomático y el de Silva (2013) era un sistema automático.

En la tabla 3.1 se presenta una comparación de los parámetros físicos, químicos e hidrodinámicos utilizadas en los trabajos de 2007, 2013 y los intervalos evaluados en el trabajo actual.

Tabla 3.1. Comparativo de las condiciones utilizadas para la determinación de As(V) empleando una configuración SIA

Parámetros	Ramírez, 2007 Semiautomático	Silva, 2013 Automático	Trabajo actual, 2015
Ácido ascórbico (%)	6	6	6
Molibdato de amonio en medio ácido (%)	0.4	0.6	0.6
Medio ácido: Ácido sulfúrico (mol/L)	0.15	3	0.2-1.0
Temperatura del reactor	55	55	55
Caudal (mL/min)	1.2	0.24	0.24-1.1
Longitud del bucle de espera (cm)	200	200	200
Diámetro interno de bucle de espera (mm)	0.8	0.8	0.8
Longitud de reactor (cm)	300	300	300
Diámetro interno de reactor (mm)	0.5	0.8	0.5-0.8
Volumen de reactivos (μL)	100	60	60-96

En este trabajo se empleó para la detección un sistema espectrofotométrico miniaturizado, debido a que muestra las siguientes ventajas: buena precisión, fácil adquisición de datos y muy bajo costo de operación, sin embargo, para la cuantificación de niveles inferiores a  $6.7 \mu\text{mol/L}$  ( $0.5 \text{ mg/L}$ ) fue necesario desarrollar un método de preconcentración. Aunado al empleo de una configuración de análisis por inyección secuencial se tiene la ventaja de una reducción significativa de gasto y desechos de reactivos y muestras, lo cual impacta de manera positiva desde el punto de vista económico y ambiental.

El empleo del método colorimétrico de la reacción de azul de molibdeno para la cuantificación de arsénico previo un proceso de preconcentración resulta una alternativa interesante a las espectroscopías atómicas (AAS, AFS, GF-AAS, HG-AAS, ICP-AES y ICP-MS), ya que estas últimas son las técnicas más ampliamente

utilizadas para cuantificar arsénico debido a su alta sensibilidad y selectividad aunque el empleo resulte costoso y se requieran instalaciones especiales. De igual manera el empleo de métodos electroquímicos tiene como ventaja la alta sensibilidad aunque los electrodos empleados pueden resultar costosos. Los métodos basados en luminiscencia son limitados y el empleo de biosensores requiere de tratamientos especiales para la obtención de las enzimas.

### **3.1.1.1 Estudio de los parámetros químicos**

Para el presente trabajo se utilizó una concentración de ácido ascórbico del 6% y de molibdato de amonio de 0.6% al igual que en el trabajo de Silva (2013), se utilizaron dichas condiciones debido a las semejanzas en el sistema de detección con este trabajo. Se estudió la influencia de la concentración de ácido sulfúrico en la formación del complejo de azul de molibdeno, ya que después de hacer una prueba se observaron señales muy diferentes para el blanco y el producto de reacción cuando la concentración de ácido sulfúrico cambiaba.

#### **3.1.1.1.1 Evaluación de disolución de molibdato de amonio en medio ácido**

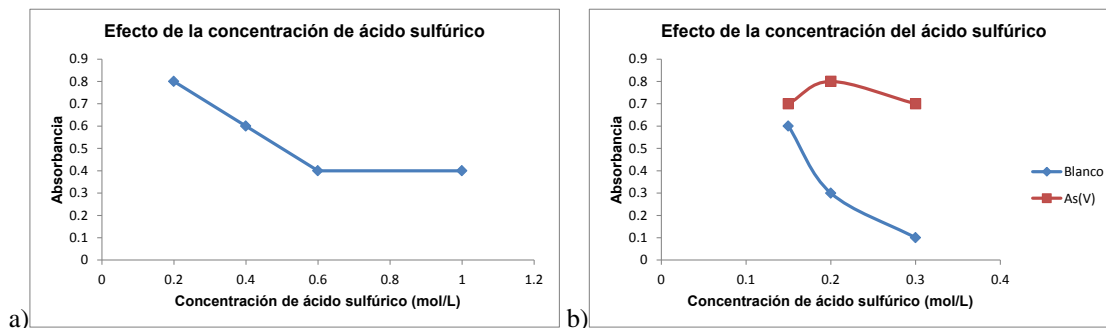
La reacción de generación del azul de molibdeno se lleva a cabo en medio ácido. Por esta razón se evaluó la concentración de ácido sulfúrico en disoluciones de molibdato de amonio al 0.6% y se evaluó el efecto sobre la señal.

El ácido elegido para llevar a cabo la reacción fue ácido sulfúrico ya que presenta un menor contenido de fosfatos (Ramírez, 2007) y por lo tanto bancos con señales más bajas.

En el trabajo de Silva (2013) se obtuvo un intervalo lineal de 1 a 20 mg/L de As(V) así que para evaluar la concentración de ácido sulfúrico, se utilizó una disolución de As(V) de 7 mg/L y las determinaciones se llevaron a cabo utilizando la configuración I de la figura 2.2. Se estudió un intervalo de concentración de ácido sulfúrico de 0.1 a 1.0 mol/L. Se observó que a concentraciones mayores que 0.6 mol/L la señal se ve disminuida como aparece en la figura 3.1a. Para los estudios posteriores se eligió 0.3 mol/L como la concentración más adecuada ya



que la señal del producto de reacción fue alto y la señal del blanco fue lo suficientemente baja para medir concentraciones de As(V) más pequeñas, como se presenta en la figura 3.1b.



**Figura 3.1. a) Efecto de la concentración de ácido sulfúrico en la reacción de azul de molibdeno y b) Señal del blanco con respecto a la concentración de ácido sulfúrico**

Al realizar esta serie de experimentos se observó que al emplear agua destilada para aforar las disoluciones la absorbancia de los blancos era muy alta y la posible causa es la presencia de fosfatos en el agua destilada utilizada, por lo cual se eligió trabajar con agua desionizada para aforar y así tener blancos con señales más bajas.

### 3.1.1.2 Estudio de los parámetros físicos e hidrodinámicos

De acuerdo a los resultados obtenidos previamente por nuestro grupo de trabajo, los cuales se presentan en la tabla 3.1, se decidió utilizar los parámetros sin cambios ya que se consideró que los resultados obtenidos con estos valores eran favorables. Los parámetros que no se evaluaron en este trabajo fueron la temperatura de la reacción, la longitud y diámetro interno del bucle de espera, la secuencia de inyección y longitud del reactor. A continuación se describe porqué se eligieron los valores para cada uno de los parámetros.

Se utilizó una temperatura de 55 °C ya que había sido definida como la temperatura óptima para llevar a cabo la reacción, sin la existencia notable de burbujas que dificultaran la determinación. En el caso del bucle de espera se utilizó el de 200 cm ya que tenía un volumen de 1.005 mL y evitaba la

contaminación del portador al poseer un volumen mayor al de los volúmenes de muestra y reactivos que se aspiraron. La secuencia de inyección implementada fue la de ácido ascórbico-As(V)-molibdato de amonio en medio ácido, ya que habían observado que la reacción se veía favorecida y la absorbancia era mayor que empleando otras secuencias.

Se utilizó un reactor de 300 cm de longitud, ya que Ramírez en su trabajo de 2007, evaluó un intervalo de longitudes de reactor de 30 a 400 cm, observando que a medida que aumentaba el largo del reactor la señal analítica aumentaba, sin embargo con reactores de longitud mayor a 300 cm, la señal disminuía y el ancho de pico aumentaba, lo cual era causado por un aumento en la dispersión del producto de reacción, por lo cual definió como optimó el reactor de 300 cm de longitud, ya que era suficientemente largo para favorecer el solapamiento de las zonas y que la formación del producto de reacción se llevara a cabo sin existir una considerable dispersión del mismo.

Para el presente proyecto se evaluaron algunos parámetros hidrodinámicos tales como el diámetro interno del reactor, el caudal y el volumen de muestra y reactivos, los cuales se describen en las secciones siguientes.

#### **3.1.1.2.1 Evaluación del diámetro interno del reactor**

Se evaluaron dos diámetros internos que fueron 0.5 y 0.8 mm para construir los reactores y se observó que empleando un caudal de 0.7 mL/min se obtenía una absorbancia semejante, pero con el reactor de diámetro interno de 0.5 mm los picos eran más estrechos.

Las diferencias obtenidas se deben a que al disminuir el diámetro interno del reactor aumenta el área superficial del fluido que se encuentra en contacto con las paredes del tubo, lo cual aumenta la fricción del fluido con las paredes y tiene como consecuencia un incremento en la dispersión axial, provocando un mayor traslape entre las zonas de muestra y de reactivos, favoreciendo así la formación del producto de reacción (Marshall y Staden, 1992).

Además se observó que había una reducción significativa en el tiempo de análisis, debido a que el volumen del reactor disminuyó de 1.51 a 0.59 mL.

Por lo anteriormente expuesto se eligió realizar los experimentos subsecuentes empleando el reactor de 300 cm de longitud y diámetro interno de 0.5 mm.

#### **3.1.1.2.2 Estudio del caudal**

El caudal se varió en un intervalo de 0.24 a 1.1 mL/min y el caudal óptimo fue de 0.7 ml/min.

Se observó que con un caudal de 0.24 mL/min las señales disminuían su altura y aumentaban el ancho de pico, lo cual se explica porque la mezcla de reactivos y muestra permanecen más tiempo en el sistema lo cual favorece la dispersión de las zonas y permite la reacción pero si el tiempo es mayor al necesario para formar el producto de reacción, también ocurre la dispersión del compuesto formado.

Con un caudal mayor a 0.7 mL/min la señal disminuye su altura debido a que el tiempo de reacción es insuficiente.

#### **3.1.1.2.3 Estudio de volúmenes de reactivos y muestra**

Se evaluaron volúmenes de 60, 80 y 96  $\mu\text{L}$  en el presente trabajo. Se observó que la señal era mayor cuando se utilizó el volumen de 96  $\mu\text{L}$  para el ácido ascórbico, As(V) y el molibdato de amonio. No se evaluaron volúmenes de reactivos mayores a 96  $\mu\text{L}$  debido a que el solapamiento de las zonas es menos eficiente y por lo tanto la generación del producto de reacción no se ve favorecida.

#### **3.1.1.3 Curva de calibración para As(V)**

La curva de calibración se hizo con disoluciones estándar de concentración conocida de 6.7-93.5  $\mu\text{mol/L}$  (0.5 a 7 mg/L) de As(V), las cuales se prepararon a partir de la disolución madre de 6675.6  $\mu\text{mol/L}$  (500 mg/L) de As(V).

Se midió la absorbancia correspondiente al máximo del pico obtenido para cada concentración y se construyó la correspondiente curva de calibración.

Las señales obtenidas para la curva de calibración tienen forma de picos, tal como se observa en la figura 3.2 donde se presenta el siagrama de los estándares de la curva de calibración de arsenatos a 55 °C.

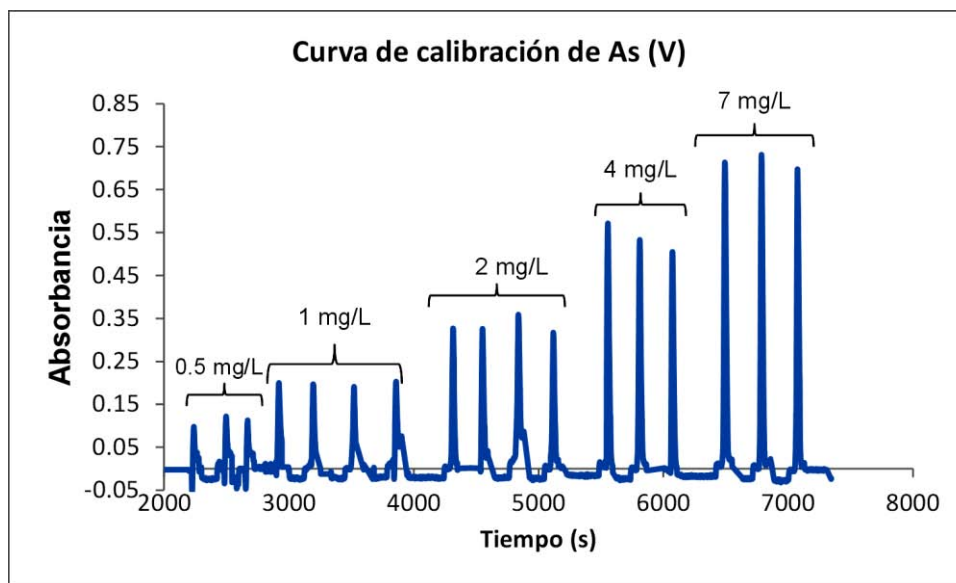


Figura 3.2. Representación gráfica de las señales obtenidas en función del tiempo para los arsenatos

En la figura 3.3 se muestra la curva de calibración de arsenatos y se observa una relación directamente proporcional entre la concentración del analito y la absorbancia al máximo del pico.

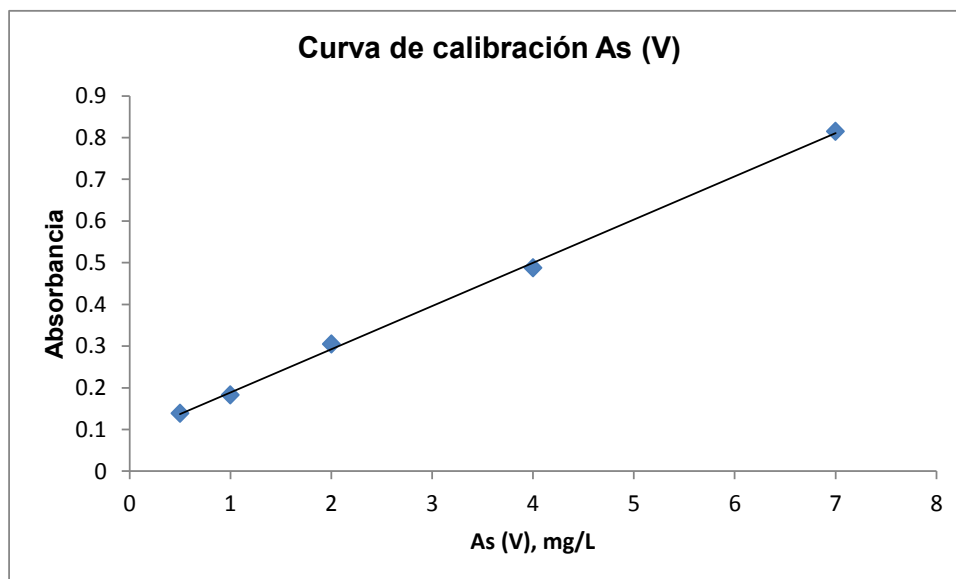


Figura 3.3. Curva de calibración de As(V). Intervalo lineal de 6.7-93.5  $\mu\text{mol/L}$  (0.5 a 7 mg/L)

La ecuación obtenida se presenta en la tabla 3.2, se muestran los valores de ordenada al origen, pendiente, así como su respectiva desviación estándar y el valor de correlación lineal.

Tabla 3.2. Ecuación de la curva de calibración de As(V)

Analito	Pendiente	Ordenada al origen	R <sup>2</sup>
As(V), mg/L	0.1019 $\pm$ 0.0057	0.0879 $\pm$ 0.0219	0.9990
As(V), $\mu\text{mol/L}$	0.0076 $\pm$ 0.0004	0.0879 $\pm$ 0.0219	0.9990

Para la curva de calibración de As(V) el valor de límite de detección fue de 3.9  $\mu\text{mol/L}$  (0.29 mg/L), el límite de cuantificación fue de 13  $\mu\text{mol/L}$  (0.97 mg/L), y el intervalo lineal de 6.7 a 93.5  $\mu\text{mol/L}$  (0.5 a 7 mg/L).

#### 3.1.1.4 Evaluación de la precisión del método

Se analizó una disolución de As(V) de 53.4  $\mu\text{mol/L}$  (4 mg/L) por duplicado inyectados once veces, obteniendo las siguientes mediciones 51.1 y 54.2  $\mu\text{mol/L}$  de As(V) (3.828 y 4.059 mg/L). Los resultados se indican como porcentaje de

desviación estándar relativa (DER) y se calculó utilizando la ecuación presentada en la sección 2.4.1 y el cálculo indican que el método propuesto para la determinación de As(V) muestran una repetibilidad del 4.1% por lo cual se puede decir que el método propuesto para la determinación de arsenitos muestra una buena precisión para los niveles de concentración evaluados de 6.7 a 93.5  $\mu\text{mol/L}$  (0.5 a 7 mg/L).

### 3.2 PRECONCENTRACIÓN DE As(V)

#### 3.2.1 EVALUACIÓN DE LA PRECONCENTRACIÓN EN LINEA DE ARSENATOS

La preconcentración de As(V) se llevó a cabo utilizando una columna empacada con una resina de intercambio aniónico fuerte (QAE Sephadex A-25), con la posibilidad de poder llevar a cabo la especiación del As(V) y As(III). A pH=7 el As(V) es retenido por la columna mientras el As(III) pasa a través de ella.

La resina QAE Sephadex A-25 es una resina de intercambio aniónico fuerte y su nombre químico es dietil-(2-hidroxipropil)aminoetil Sephadex y su estructura química aparece en la figura 3.4, su valor de pH de trabajo es de 2 a 12, y posee un tamaño de partícula de 40-120  $\mu\text{m}$ .

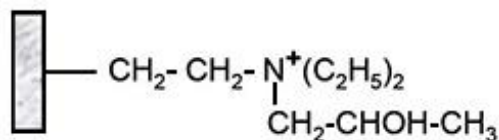


Figura 3.4. Estructura de QAE Sephadex A-25

La especiación empleando intercambiadores iónicos es posible debido a que los valores sucesivos de pKa del ácido arsénico [As(V)] son 2.2, 7.1 y 11.5, mientras que para el ácido arsenoso [As(III)] son 9.2, 12.3 y 13.4. Por lo tanto a pH neutro, las especies de As(V) están completamente en formas iónicas ( $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$  y  $\text{HAsO}_4^{2-}$ ) mientras que el As(III) está en forma molecular ( $\text{H}_3\text{AsO}_3$  o  $\text{HAsO}_2$ ). Esta importante diferencia puede ser usada en un sistema simple de SPE para la especiación de arsénico (Issa et al., 2010), tal como se muestra en la figura 1.8.

Para el presente trabajo, se partió de resultados preliminares obtenidos por Silva (2013), así como los intervalos evaluados en el presente trabajo, los cuales se muestran en la tabla 3.3.

**Tabla 3.3. Condiciones preliminares para la preconcentración de As(V)**

<b>Parámetros</b>	<b>Silva, 2013</b>	<b>Trabajo</b>
<b>Caudal de retención, mL/min</b>	0.24	0.24-1.44
<b>Caudal de elución, mL/min</b>	0.24	0.24-0.72
<b>Volumen de retención, mL</b>	4	4-30
<b>Volumen de elución, mL</b>	0.1	0.26
<b>pH</b>	7.2	1.5-7.2
<b>Largo de columna, cm</b>	1	1-3
<b>Eluyente</b>	KCl 0.5 mol/L y NaOH 0.05 mol/L	KCl 0.5 mol/L

### 3.2.1.1 Estudio del eluyente

Se evaluó la composición del eluyente, debido a que la señal del blanco para una disolución preparada con la mezcla de KCl 0.5 mol/L y NaOH 0.05 mol/L, fue muy alta. Por lo cual se evaluaron individualmente las disoluciones de KCl 0.5 mol/L y NaOH 0.05 mol/L para definir cuál sustancia provocaba el aumento de la señal, observándose que el aumento de la señal del blanco se debía a la disolución de NaOH 0.05 mol/L, por lo cual se optó por trabajar sólo con la disolución de KCl 0.5 mol/L, obteniéndose una señal de blanco razonable, buena forma de pico y resultados favorables en la elución del As(V).

### 3.2.1.2 Estudio de los parámetros hidrodinámicos

Los factores que se evaluaron para llevar a cabo la preconcentración de As(V) fueron el largo de la columna empacada con la resina de intercambio aniónico, el caudal de retención al que pasa la disolución de As(V), el pH de la disolución y el volumen de carga de la disolución de As(V).

Con el diseño experimental propuesto el cual se describió en la sección 2.2.2.1.1 y con ayuda del programa Statgraphics, se estableció el orden en el que se llevaron a cabo los experimentos. En la tabla 3.4 se presentan los resultados obtenidos.

Tabla 3.4. Diseño experimental para la preconcentración de As(V)

BLOQUE	Volumen de carga (mL)	Caudal de carga (mL/min)	pH de disolución de As(V)	Longitud de columna (cm)	Absorbancia
1	18	0.72	7.2	3	0.267
1	18	1.44	7.2	1	0.294
1	30	1.44	7.2	3	0.454
1	30	0.72	4.4	3	0.394
1	18	0.72	4.4	1	0.308
1	18	1.44	4.4	3	0.288
1	30	1.44	4.4	1	0.372
1	24	1.08	5.8	2	0.369
1	30	0.72	7.2	1	0.445
1	24	1.08	5.8	2	0.379

Los resultados obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), y con los resultados obtenidos se observó que el efecto más importante era el volumen de carga de la disolución. No se observó que el largo de la columna ni el caudal fueran estadísticamente significativos, tal como se observa en la figura 3.5.

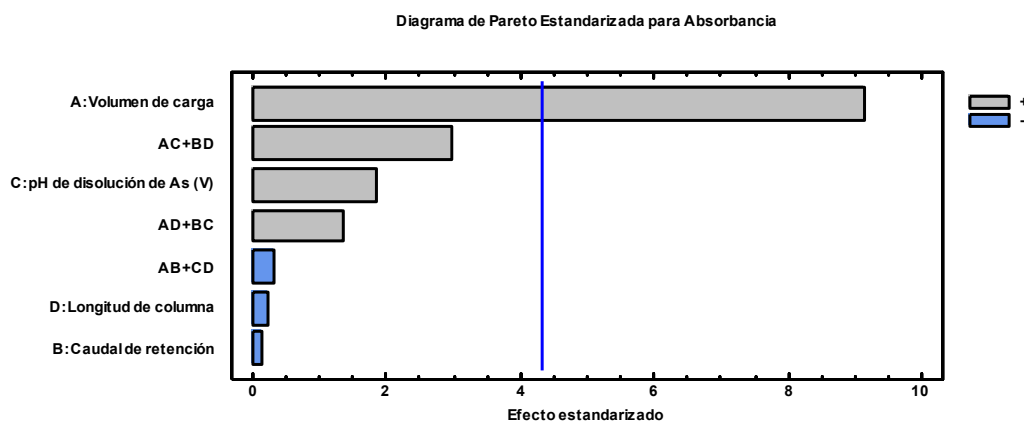


Figura 3.5. Diagrama de Pareto para optimización de preconcentración de As(V)



Se analizaron nuevamente los resultados sin tomar en cuenta los efectos debidos al largo de la columna de QAE-Sephadex A-25 y se observó que la interacción entre el volumen de carga y el valor de pH era estadísticamente significativa, tal como se observa en la figura 3.6.

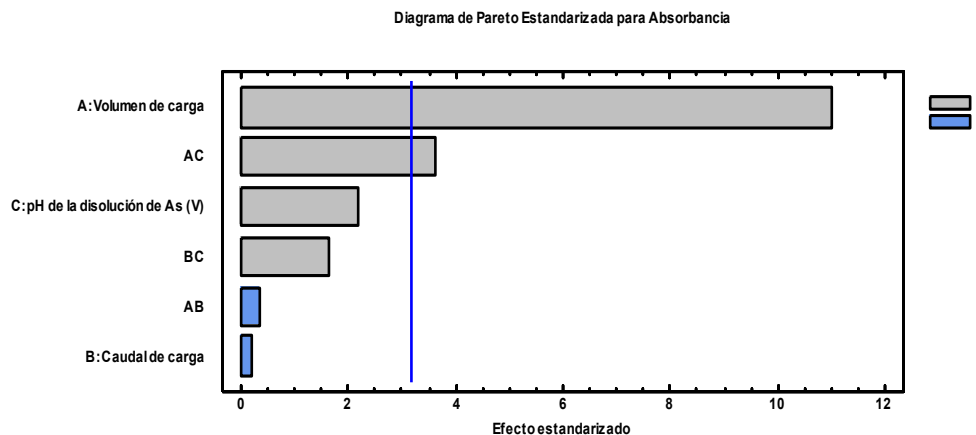


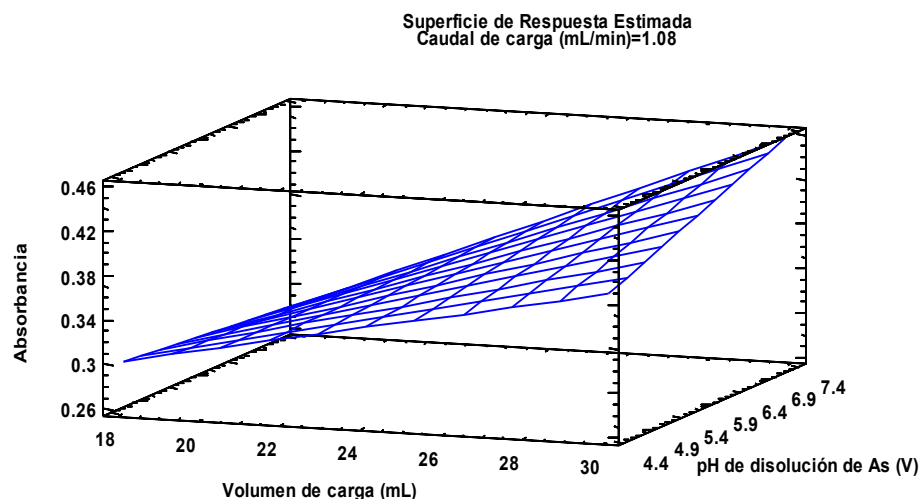
Figura 3.6. Diagrama de Pareto para la preconcentración de As(V)

### 3.2.1.2.1 Evaluación del volumen y caudal de carga de As(V)

El volumen de retención se varió de 4 a 30 mL, se eligió como máximo un volumen de 30 mL debido a que se obtendría un factor de preconcentración mayor a 100 y sería posible cuantificar concentraciones menores a  $0.33 \mu\text{mol/L}$  ( $0.025 \text{ mg/L}$ ). De acuerdo al diseño experimental (figura 3.5), se observó que éste es el factor que tiene mayor influencia en el aumento de la señal analítica (absorbancia). Los mejores resultados se obtuvieron con un volumen de 30 mL, tal como se observa en la figura 3.7. El volumen de 30 mL no corresponde al volumen máximo que puede hacerse pasar por la columna, pero no se evaluaron volúmenes mayores debido a que los resultados con este volumen son satisfactorios y el aumento del volumen de carga involucraba un aumento en el tiempo de análisis.

Se evaluó el caudal de carga debido a que este parámetro impactaba en el tiempo de análisis, ya que el volumen requerido para la preconcentración fue de 30 mL y utilizando un caudal de  $0.24 \text{ mL/min}$  se requería un tiempo de 125 minutos y para un caudal de  $0.72 \text{ mL/min}$  un tiempo de 41.7 minutos. Por lo cual el

caudal de carga se varió de 0.24 a 1.44 mL/min, sin observarse que existieran diferencias estadísticamente significativas entre ellas, por lo cual se decidió trabajar con el caudal de 1.44 mL/min, para así reducir el tiempo requerido para la preconcentración (20.8 minutos) y se utilizó como máximo este caudal para evitar problemas de sobrepresión en el sistema.



**Figura 3.7. Superficie de respuesta para la evaluación del volumen de carga y pH en la preconcentración de As(V)**

### **3.2.1.2.2 Evaluación del volumen y caudal de elución de As(V)**

Para el volumen de elución se seleccionó el menor volumen con el que fuera posible eluir. El volumen empleado fue de 260  $\mu$ L, el cual permitió inyectar la disolución por duplicado y limpiar la tubería de la válvula de inyección utilizada.

El caudal de elución se estudió de 0.24 a 0.72 mL/min, sin observarse diferencias estadísticamente significativas entre estos caudales. Para la elución del As(V) se utilizó un caudal de 0.72 mL/min.

### **3.2.1.2.3 Evaluación del pH de la disolución de As(V)**

Para seleccionar el valor de pH más adecuado para la retención de As(V) en la columna de intercambio aniónico se evaluaron diferentes valores desde 1.5 a 7.2. El ajuste de pH se realizó con NaOH 0.1 mol/L y HNO<sub>3</sub> 0.1 mol/L, no se utilizó

un buffer debido a que en un trabajo de Silva (2013), se observaba que la retención se veía reducida drásticamente debido a que la concentración de aniones presentes en el buffer resultaban una interferencia en la preconcentración de As(V) ya que también ocurría una retención de estos evitando la retención de arsenatos.

Se observó que a valores de pH de 1.5 y 2.5 la retención se veía notoriamente disminuida porque la mayor proporción de As(V) se encontraba como  $H_3AsO_4$ , es decir en su forma molecular.

Se evaluó el intervalo de pH de 5 a 7.2 y se observó que la preconcentración era mayor a pH 7.2, no se utilizaron valores de pH más altos porque se favorecería la adsorción de As(III), ya que dejaría de estar en su forma molecular y se encontraría cargado negativamente.

#### **3.2.1.2.4 Evaluación del largo de la columna**

Se determinó la influencia del largo de la columna empacada con la resina evaluándose longitudes de 1, 2 y 3 cm sin observarse diferencias estadísticamente significativas.

Se espera que la metodología de preconcentración propuesta para arsenatos y arsenitos sea aplicada en muestras de agua potable, de río y subterránea contaminada con arsénico, lo cual implica que se espera que las muestras no solamente contengan arsenatos y arsenitos sino también otros aniones tales como nitratos, fosfatos, sulfatos, cloruros los cuales también pueden retenerse en la resina de intercambio aniónico y así provocar una disminución de los sitios activos donde se pueda llevar a cabo la preconcentración de los analitos de interés, esto al existir una saturación de la columna. Por lo cual se propuso utilizar la columna de mayor longitud (3 cm) al tener un mayor número de sitios activos y así disminuir los problemas debidos a la saturación de la columna con otros aniones.

### 3.2.1.3 Evaluación del factor de preconcentración para As(V)

Se determinó el factor de preconcentración para las disoluciones de As(V) que fueron preconcentradas en un intervalo de 0.04 a 0.8  $\mu\text{mol/L}$  (0.003 a 0.06 mg/L) para determinar cuál es el máximo valor de preconcentración tal como aparece en la figura 3.8.

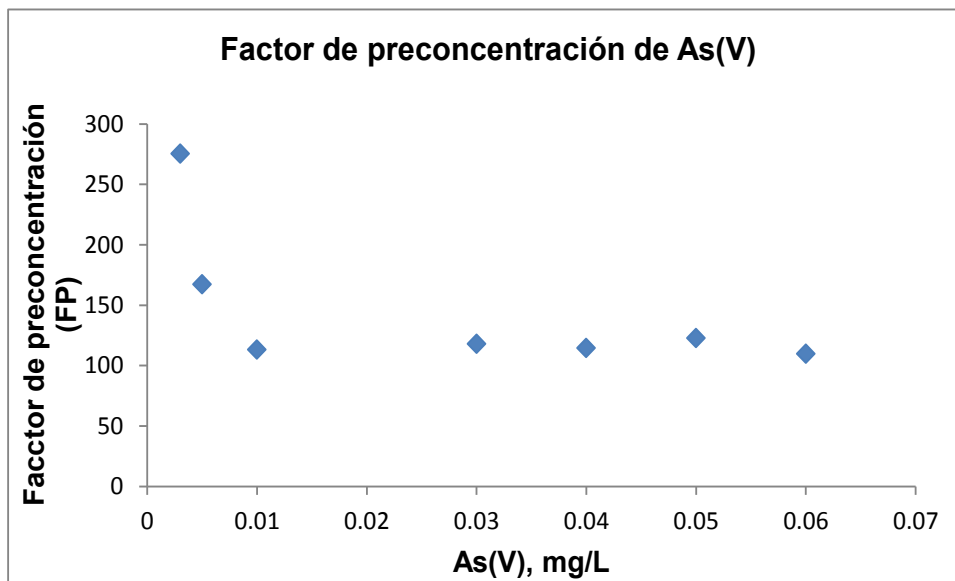


Figura 3.8. Factor de preconcentración de As(V)

Se observó que a concentraciones menores a 0.13  $\mu\text{M}$  (0.01 mg/L) el factor de preconcentración es mayor y por lo tanto el gráfico no tiene un comportamiento constante. El aumento en el valor del factor de preconcentración se observó con concentraciones que se encuentran fuera del intervalo lineal o por debajo del límite de cuantificación de la curva de calibración para As(V) (figura 3.3) que corresponden a 0.13  $\mu\text{M}$  (0.01 mg/L).

Se determinó el promedio del valor de factor de preconcentración de 0.27-0.67  $\mu\text{mol/L}$  (0.01 a 0.05 mg/L) que es cuando el valor del factor de preconcentración se hace constante y corresponde a un valor de 118, comparado con el valor teórico que corresponde a 115.4, por lo tanto el As(V) fue retenido totalmente por la resina de intercambio aniónico fuerte, bajo las condiciones experimentales propuestas.

El factor de preconcentración teórico se evaluó utilizando la ecuación 2.1, descrita en la sección 2.3.1. Para lo cual fue necesario calcular la concentración final de As(V) de forma teórica.

La concentración final teórica de As(V) se calculó utilizando la ecuación 3.1

$$C_{final\ de\ As\ (V)} = \frac{C_{inicial\ As\ (V)} V_{carga}}{V_{elución}} \quad \text{Ecuación 3.1}$$

Donde  $C_{inicial\ As(V)}$  es la concentración inicial de As(V),  $C_{final\ As(V)}$  es la concentración final de As(V),  $V_{carga}$  es el volumen de la disolución de As(V) cargado que fue de 30 mL y  $V_{elución}$  es el volumen de la disolución de KCl 0.5 mol/L que se utilizó para la elución de As(V) que fue de 0.26 mL.

La concentración final de As(V) utilizando una disolución de 0.01 mg/L se calculó como se muestra en la ecuación 3.2

$$C_{final\ de\ As\ (V)} = \frac{(0.01 \frac{mg}{L})(0.03\ L)}{(0.00026\ L)} = 1.154\ mg/L \quad \text{Ecuación 3.2}$$

El factor de preconcentración se obtuvo utilizando la ecuación 2.1 y se calculó como se presenta en la ecuación 3.3.

$$FP = \frac{1.154\ mg/L}{0.01\ mg/L} = 115.4 \quad \text{Ecuación 3.3}$$

#### 3.2.1.4 Curva de calibración para As(V) preconcentrado

La curva de calibración se construyó utilizando disoluciones estándar de concentración conocida de 0.07 a 0.67  $\mu\text{mol/L}$  (0.005 a 0.05 mg/L) de As(V), las cuales se prepararon a partir de la disolución madre de 133.5  $\mu\text{mol/L}$  (10 mg/L) de As(V).

En la curva se observa una relación directamente proporcional entre la concentración del analito y la altura del pico, obteniéndose la representación gráfica de la curva de calibración de As(V) preconcentrado como se presenta en la figura 3.9.

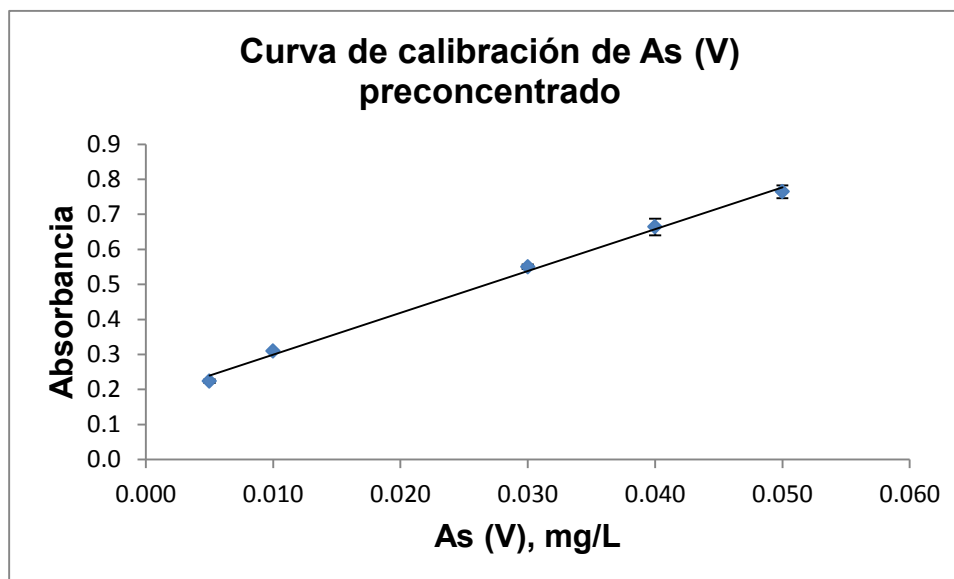


Figura 3.9. Curva de calibración de As (V) después de la preconcentración empleando una columna empacada con una resina de intercambio aniónico (QAE Sephadex A-25)

Las características de la ecuación se presentan en la tabla 3.5.

Tabla 3.5. Ecuación de la curva de calibración de la preconcentración de As(V)

Analito	Pendiente	Ordenada al origen	R <sup>2</sup>
As(V), mg/L	11.939±1.2691	0.1803±0.0401	0.9967
As(V), μmol/L	0.8942±0.0096	0.1803±0.0401	0.9967

Para la curva de calibración de la preconcentración de As(V) se obtuvo un límite de detección de 0.005 μmol/L (0.0039 mg/L), un límite de cuantificación de 0.17 μmol/L (0.0129 mg/L) y un intervalo lineal de 0.07 a 0.67 μmol/L (0.005 a 0.05 mg/L).

Con los resultados obtenidos de la curva de calibración de la preconcentración de As(V) se observa que la ordenada al origen obtenida tiene un valor muy alto, lo cual se puede deber a problemas en el lavado del material utilizado, ya que se utilizó agua destilada que al parecer contiene niveles altos de fosfatos.

### 3.3 DETERMINACIÓN DE As(III)

#### 3.3.1 ESTUDIO DE LA OXIDACION EN LÍNEA DE As(III) A As(V) CON MnO<sub>2</sub>

En este trabajo se realizó la oxidación del arsenito empleando como agente oxidante una minicolumna empacada con 240 mg de MnO<sub>2</sub>, en otros trabajos se han utilizado otros agentes oxidantes como KIO<sub>3</sub> (Ramírez, 2007 y Silva, 2013), KMnO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NaClO, FeCl<sub>3</sub> (Lenoble et al., 2003).

##### 3.3.1.1 Evaluación de parámetros hidrodinámicos en la oxidación de As(III)

Los factores que se analizaron para llevar a cabo la oxidación de As(III) fueron el largo de la columna empacada con MnO<sub>2</sub>, el caudal al que pasa la disolución de As(III) y el pH de la disolución.

Empleando el diseño experimental descrito en la sección 2.2.3.1.1 y utilizando el programa Statgraphics se estableció el orden en el que se llevaron a cabo los experimentos y en la tabla 3.6 se presentan los resultados obtenidos.

Tabla 3.6. Diseño experimental para la oxidación de arsenitos

BLOQUE	pH	Longitud de columna de MnO <sub>2</sub>	Caudal de oxidación	Absorbancia
1	2.8	3.8	0.24	0.136
1	2.8	5	0.24	0.269
1	2.8	3.8	0.15	0.247
1	2.8	5	0.15	0.417
1	1.5	5	0.24	0.409
1	1.5	3.8	0.15	0.35
1	1.5	3.8	0.24	0.215
1	1.5	5	0.15	0.482

Con el diseño experimental propuesto se observa que los tres efectos son importantes, sin embargo, ninguno tiene una diferencia significativa y no hay una importancia relevante de las interacciones de los factores analizados, en la gráfica de efectos principales se observa la tendencia de los factores analizados tal como se observa en la figura 3.10.

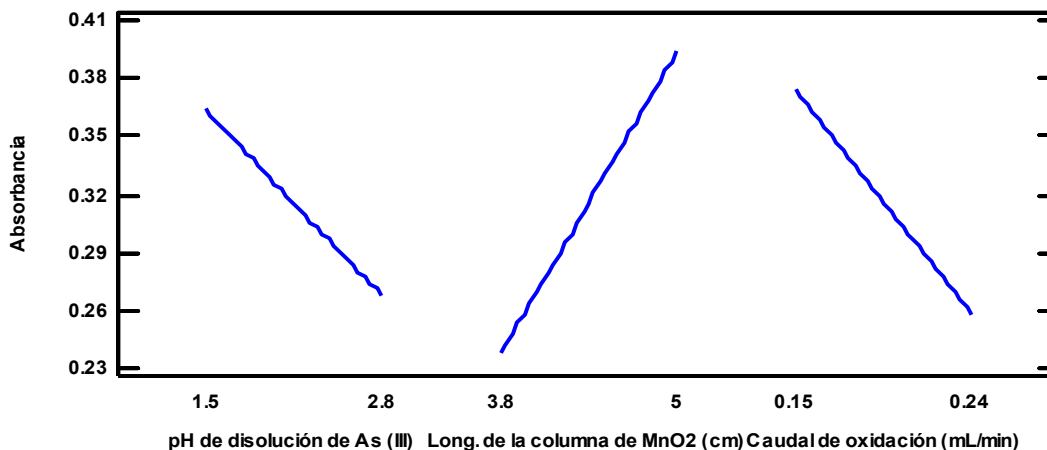


Figura 3.10. Gráfica de efectos principales para la oxidación de As(III)

El experimento se realizó empleando una disolución de As(III) de  $53.4 \mu\text{mol/L}$  ( $7 \text{ mg/L}$ ) y la oxidación se llevó a cabo utilizando la configuración III (figura 2.4), se seleccionó esta concentración debido a que se esperaba encontrar un intervalo lineal semejante al de As(V), que iba de  $6.7$  a  $53.4 \mu\text{mol/L}$  ( $0.5$  a  $7 \text{ mg/L}$ ). Los valores óptimos obtenidos corresponden a la minicolumna de óxido de manganeso(IV) de mayor longitud que fue la de  $3 \text{ cm}$ , el menor pH que corresponde a  $1.5$  y el caudal menor que equivale a  $0.15 \text{ mL/min}$ . Se siguió evaluando cada factor por separado hasta encontrar el óptimo para las condiciones de estudio, se variaba un factor y los demás permanecían constantes tal como se presenta en los puntos siguientes.

#### **3.3.1.1.1 Evaluación del caudal de oxidación**

Se estudió el caudal de  $0.15$ ,  $0.26$ ,  $0.31$  y  $0.38 \text{ mL/min}$ . Se observa que a medida que disminuye el caudal, la oxidación se ve favorecida debido a que el As(III) permanece más tiempo en contacto con el  $\text{MnO}_2$ , por lo tanto el caudal óptimo corresponde a  $0.26 \text{ mL/min}$ , aun cuando a caudales menores la oxidación es mayor y más eficiente, pero el tiempo de análisis aumenta significativamente. El efecto es observado en la figura 3.11.



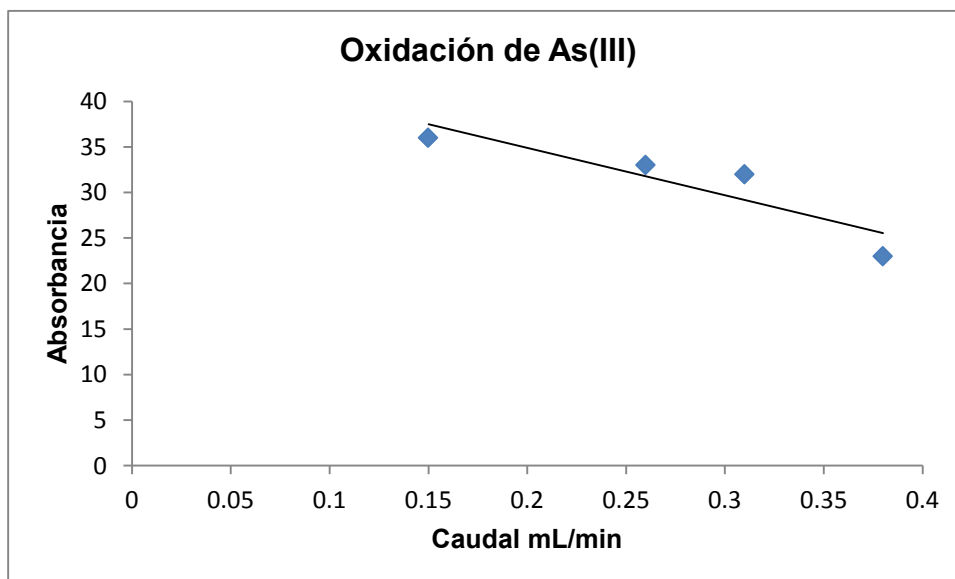


Figura 3.11. Porcentaje de conversión de As(III) a As(V) a diferentes caudales, utilizando 500  $\mu$ L de una disolución de As(III) de 7 mg/L a un valor de pH 1.5 y una minicolumna de  $\text{MnO}_2$  de 5 cm

#### **3.3.1.1.2 Estudio del largo de la columna**

Se analizó el largo de columna en un intervalo de 2.1 a 7 cm (2.1, 3.8, 5 y 7 cm). Se observa que a medida que aumenta el longitud de ésta la oxidación se ve favorecida debido a que el As(III) permanece más tiempo en contacto con  $\text{MnO}_2$ ; por lo tanto la longitud de columna seleccionada fue de 7 cm. Columnas de mayor longitud provocaron sobrepresión en el sistema. Los resultados de los estudios se muestran en la figura 3.12.

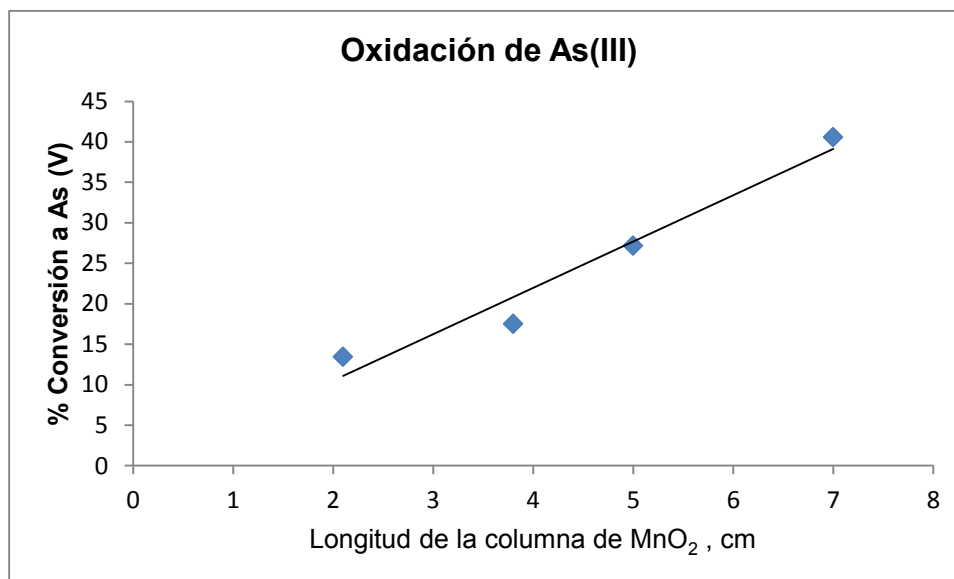


Figura 3.12. Porcentaje de conversión de As(III) a As(V) a diferentes longitudes de columna de MnO<sub>2</sub>, utilizando 500  $\mu$ L de una disolución de As(III) de 7 mg/L a un valor de pH 1.5 y un caudal de 0.26 mL/min

### **3.3.1.1.3 Evaluación del pH de la disolución de As(III)**

Se analizaron disolución de As(III) a diferentes valores de pH 1,5, 2.5 y 5. Se observó que a pH 1.5 la conversión de arsenitos a arsenatos ocurre en un 80%, mientras que para pH de 2.5 y 5 es de 47 % y 10 %, respectivamente.

Según lo trabajos realizados por Wu y colaboradores (2015), estas diferencias en el grado de conversión se pueden deber a que el valor de pH afecta la cinética de la reacción de oxidación. Se ha observado que a medida que aumenta el valor de pH el tiempo necesario para la máxima conversión de As(III) a As(V) cambia, en el caso de los pH altos (pH=6) se alcanza más rápido pero una vez que se logra este máximo (80%) hay una disminución drástica en la concentración de As(V) hasta que se vuelve constante, en cambio para pH bajos (pH=3) la máxima conversión se mantiene constante (97%) por mayor tiempo y la disminución en la concentración de As(V) es menos dramática. Las posibles causas en la disminución de la concentración de As(V) se pueden deber a la adsorción en la superficie de MnO<sub>2</sub>, la formación del precipitado de arsenato de manganeso(II) y la formación de un intermediario de Mn(III).

Se construyeron gráficas de la relación de la concentración de As(III) y la respuesta analítica obtenida (absorbancia), al realizar la oxidación a distintos valores de pH. Los resultados se muestran en la figura 3.13. Se observa que a pH 1.5 hay un intervalo lineal más amplio comparado con la oxidación a pH 2.5 y 5.

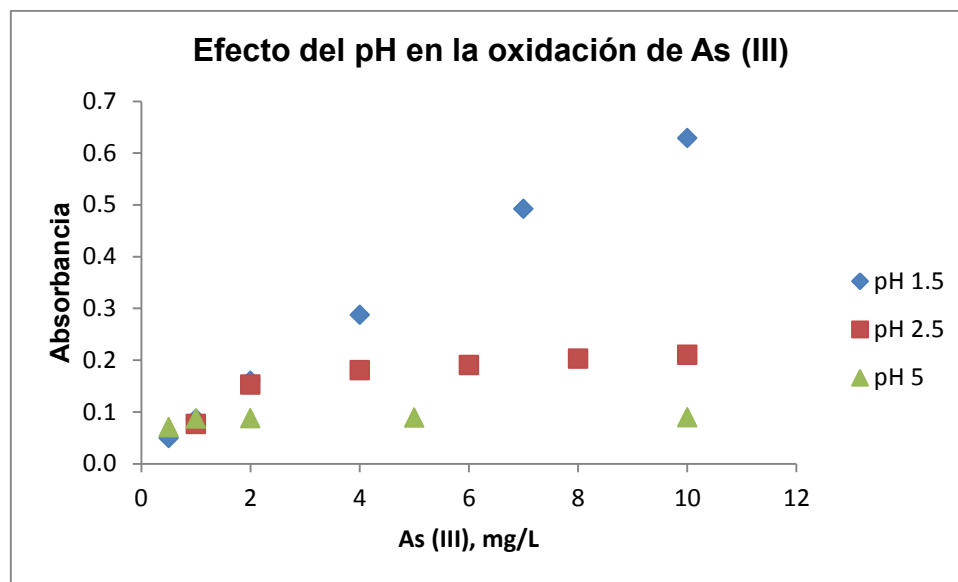


Figura 3.13. Relación de la concentración de As(III) y la absorbancia, al llevar a cabo la oxidación a distintos valores de pH. Se utilizaron 500  $\mu$ L de una disolución de As(III) de 7 mg/L a diferentes valores de pH, un caudal de 0.26 mL/min y una minicolumna de  $\text{MnO}_2$  de 7 cm

#### **3.3.1.1.4 Evaluación del volumen de muestra**

Se evaluó el efecto del volumen de muestra de As(III) que se hace pasar por la columna en un intervalo de 0.5 a 5.2 mL para una disolución de As(III) de 93.5  $\mu$ mol/L (7 mg/L), utilizando las condiciones optimizadas de oxidación para la configuración II (figura 2.4). Se obtuvieron porcentajes de conversión de 81.6%, 80.4% y 78.3% para volúmenes de 0.5, 4 y 5.2 mL, tal como se observa en la figura 3.14. Mediante un análisis de varianza (ANOVA) se observó que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los tres volúmenes con un 95% de confianza.

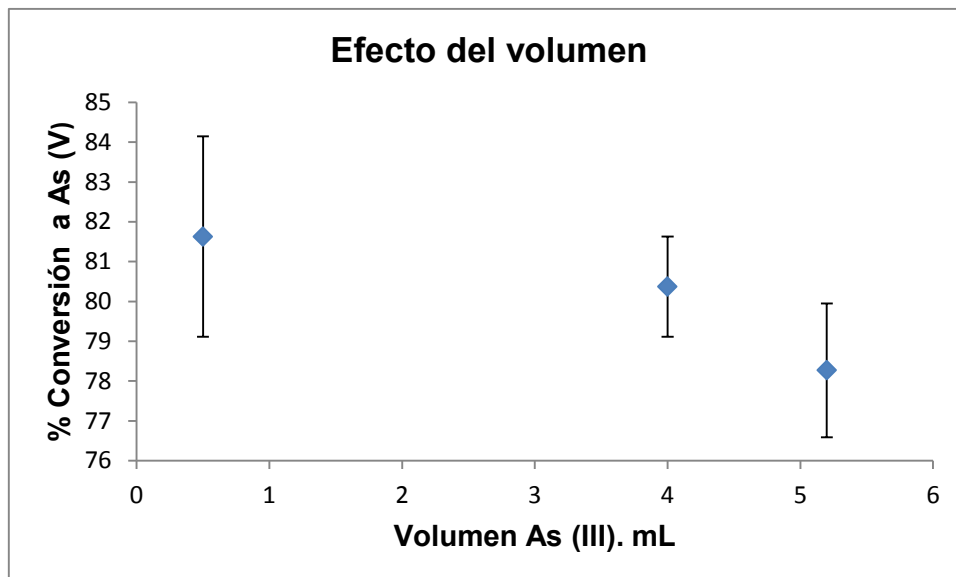
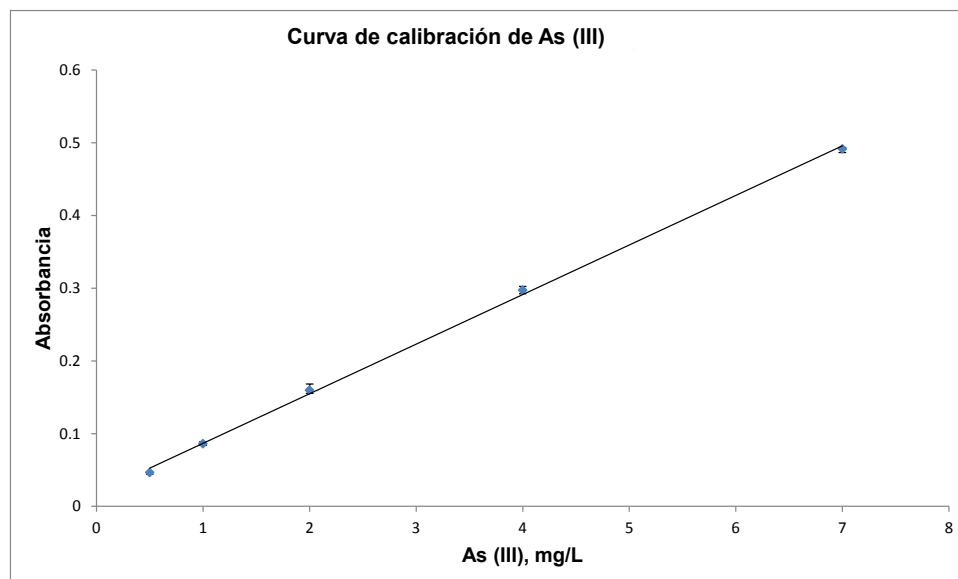


Figura 3.14. Porcentaje de conversión de As(III) a As(V) a diferentes volúmenes de disolución de As(III), utilizando una disolución de As(III) de 7 mg/L a un pH igual a 1.5, un caudal de 0.26 mL/min y una minicolumna de MnO<sub>2</sub> de 7 cm

### 3.3.1.2 Curva de calibración de As(III)

La curva de calibración se construyó utilizando disoluciones estándar de concentración conocida de 6.7-93.5  $\mu\text{mol/L}$  (0.5 a 7 mg/L) de As(III), las cuales se prepararon a partir de la disolución madre de 6675.6  $\mu\text{mol/L}$  (500 mg/L) de As(III).

En la curva se observa una relación directamente proporcional entre la concentración del analito y la altura del pico, obteniéndose la representación gráfica de la curva de calibración de arsenitos (figura 3.15).



**Figura 3.15. Curva de calibración de As(III) después de la oxidación a As(V) a un pH=1.5. Intervalo línea 6.7-93.5  $\mu\text{mol/L}$  (0.5 a 7 mg/L) de As(III)**

Se realizó la curva de calibración para As(III). La ecuación obtenida se presenta en la tabla 3.7.

**Tabla 3.7. Ecuación de la curva de calibración de As(III)**

Analito	Pendiente	Ordenada al origen	R <sup>2</sup>
As(III), mg/L	0.0682±0.0038	0.0184±0.0140	0.9991
As(III), $\mu\text{mol/L}$	0.0050±0.0003	0.0184±0.0140	0.9991

Para la curva de calibración de As(III) se obtuvo un límite de detección de 3.7  $\mu\text{mol/L}$  (0.28 mg/L), un límite de cuantificación de 12.3  $\mu\text{mol/L}$  (0.92 mg/L) y un intervalo lineal de 6.7-93.5  $\mu\text{mol/L}$  (0.5-7 mg/L).

### 3.3.1.3 Evaluación de la precisión del método

Se analizó una disolución de As(III) de 53.4  $\mu\text{mol/L}$  (4 mg/L) por duplicado inyectados once veces, los resultados obtenidos de la medición fueron 55.6 y 51.7  $\mu\text{mol/L}$  de As(III) (4.167 y 3.876 mg/L). Los resultados se reportan como porcentaje de desviación estándar relativa (DER) y se calculó utilizando la

ecuación presente en la sección 2.4.1, y se obtuvo una repetibilidad del 5.1%, que indica que el método propuesto para la determinación de arsenitos tiene una buena precisión para los niveles de concentración evaluados de 6.7 a 93.5  $\mu\text{mol/L}$  (0.5 a 7 mg/L).

### **3.4 PRECONCENTRACIÓN DE As(III)**

#### **3.4.1 EVALUACIÓN DE LA PRECONCENTRACIÓN EN LÍNEA DE As(III) UNA VEZ QUE HA SIDO OXIDADO A As(V)**

Se propuso realizar la preconcentración de As(III) realizando un proceso previo de oxidación a As(V) y la posterior retención de esta forma en la columna de intercambio aniónico como se propone en la sección 3.2.1.

Se partió de una investigación previa realizada por el grupo de trabajo donde se utilizó una disolución de  $\text{KIO}_3$  1% como agente oxidante (Silva, 2013) sin lograr resultados satisfactorios en la preconcentración, debido a que no fue posible la retención del As(V) obtenido de la oxidación de As(III), esto posiblemente por la saturación del intercambiador iónico con iones yodato, los cuales se encontraban en exceso y dificultaban la retención del As(V), otra posibilidad fue que la preconcentración se llevaba a cabo pero al existir un exceso de  $\text{KIO}_3$  este reaccionaba con el ácido ascórbico utilizado en la reacción de azul de molibdeno, y eso generaba una disminución considerable de la concentración de ácido ascórbico y la detección no era posible.

En este trabajo se decidió utilizar una minicolumna empacada con  $\text{MnO}_2$  y así evitar las interferencias debidas a las altas concentraciones de agente oxidante como ocurrió con el  $\text{KIO}_3$ .

Para llevar a cabo la preconcentración de As(III) como As(V) se utilizaron los resultados obtenidos en la sección 3.3 que hace referencia a las condiciones más adecuadas para llevar a cabo la oxidación de As(III), en donde se determinó que el proceso de oxidación se veía favorecido a un valor de pH de 1.5; por otra parte se emplearon los resultados obtenidos en la sección 3.2 referente al proceso de

preconcentración de As(V) y se definió que el pH óptimo era de 7.2. Por lo cual para preconcentrar As(III) como As(V) se realizó la oxidación a pH=1.5, y posteriormente se ajustó el pH a 7.2 (evaluando el empleo de disoluciones de NaOH 1 mol/L y TRIS 1 mol/L para ajustar el pH) y se realizó el proceso de preconcentración empleando una columna empacada con QAE-Sephadex A-25, los resultados obtenidos mostraron que no había preconcentración. Así se evaluó el valor de pH para la oxidación de As(III), sabiendo que el % de conversión de As(III) a As(V) disminuiría, tal como se demostró en la sección 3.3.1.1.3. Se evaluó el valor de pH 2.5 para la oxidación de As(III), sin que bajo estas condiciones ocurriera la preconcentración. Los resultados obtenidos para los experimentos anteriores se pueden deber a que al emplear disoluciones de ácido clorhídrico para ajustar el pH, la concentración de cloruros presentes en las disoluciones de arsenatos (provenientes de la oxidación de arsenitos) es muy alta y eso dificultó la retención del As(V).

Debido a que los experimentos anteriores mostraron resultados desfavorables para la preconcentración de As(III) como As(V), se optó por realizar la oxidación a pH=7.2 y la preconcentración a pH=7.2. Los resultados de este experimento mostraron que fue posible llevar a cabo la preconcentración de As(III) como As(V), debido a que se observó un aumento en la señal analítica con respecto a un blanco, y se procedió a construir la curva de calibración cuyos resultados se muestran en la siguiente sección.

#### **3.4.1.1 Curva de calibración de la preconcentración de As(III) una vez oxidado como As(V)**

La curva de calibración se construyó utilizando disoluciones estándar de concentración conocida de 0.13 a 1.07  $\mu\text{mol/L}$  (0.01 a 0.08 mg/L) de As(III), las cuales se prepararon a partir de la disolución madre de 133.5  $\mu\text{mol/L}$  (10 mg/L) de As(III).

Se construyó la gráfica de la relación de la concentración de As(III) y la absorbancia obtenida después de la preconcentración como As(V), se presenta

los resultados en la figura 3.16. Se observa un aumento de la absorbancia entre las concentraciones 0.1 y 0.3  $\mu\text{mol/L}$  (0.01 y 0.02  $\text{mg/L}$ ) pero no fue posible establecer un intervalo lineal.

A pH neutro disminuyó el porcentaje de conversión del As(III) a As(V) aunque se favoreció la preconcentración en la columna, pero no fue posible acoplar de forma eficiente los procesos de oxidación del As(III) y la posterior preconcentración como As(V).

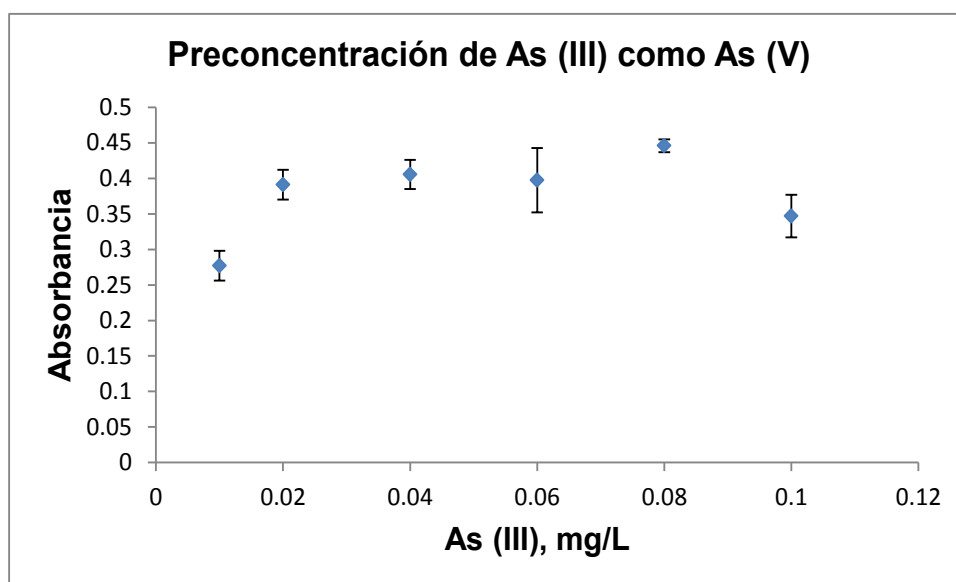


Figura 3.16. Preconcentración de As(III) como As(V)

#### 3.4.2 PRECONCENTRACIÓN DE As(III) EN MEDIO ALCALINO EMPLEANDO LA RESINA DE INTERCAMBIO ANIÓNICO FUERTE (QAE SEPHADEX A-25)

La preconcentración de As(III) es de vital importancia, debido a que este corresponde a la especie inorgánica de arsénico más tóxica, además de que se ha reportado que en la mayoría de los casos las concentraciones de As(III) son mucho menores a las de As(V).

De acuerdo a los resultados anteriores se optó por desarrollar una metodología alterna para cuantificar As(III) la cual consistió en llevar a cabo la preconcentración de As(III) en medio básico ( $\text{pH}=11$ ) empleando la misma resina



de intercambio aniónico fuerte. La elución se realizó con una disolución de KCl 0.5 mol/L y posteriormente se realizó el proceso de oxidación del As(III) empleando la minicolumna de  $\text{MnO}_2$ . Para realizar este último paso fue necesario ajustar el pH, lo cual se realizó empleando 15  $\mu\text{L}$  de HCl 2 mol/L.

### 3.4.2.1 CURVA DE CALIBRACIÓN DE LA PRECONCENTRACIÓN DE As(III)

La curva de calibración se construyó utilizando disoluciones estándar de concentración conocida de 0.05 a 1.07  $\mu\text{mol/L}$  (0.004 a 0.08 mg/L) de As(III), las cuales se prepararon a partir de la disolución madre de 133.5  $\mu\text{mol/L}$  (10 mg/L) de As(III).

En la curva se observa una relación directamente proporcional entre la concentración del analito y la altura del pico, obteniéndose la representación gráfica de la curva de calibración de preconcentración de arsenitos (figura 3.17).

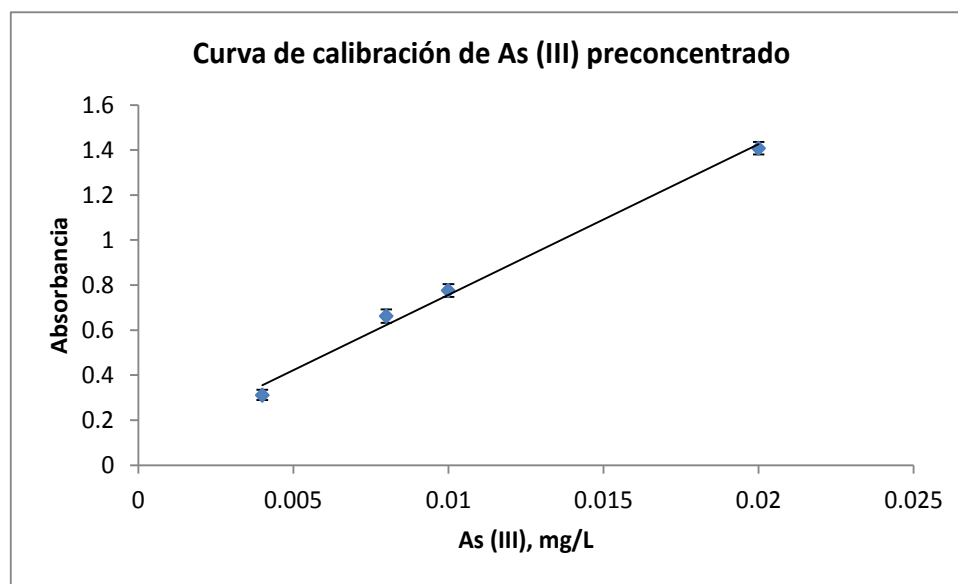


Figura 3.17. Curva de calibración de preconcentración de As(III) después de la preconcentración en medio básico empleando una columna empacada con una resina de intercambio aniónico (QAE Sephadex A-25) y la oxidación a As(V) a pH 1.5

La ecuación obtenida se presenta en la tabla 3.8, se presenta el valor de ordenada al origen, pendiente, así como su respectiva desviación estándar y el valor de correlación lineal.

**Tabla 3.8 Ecuación de la curva de calibración de preconcentración As(III)**

<b>Analito</b>	<b>Pendiente</b>	<b>Ordenada al origen</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>As(III), mg/L</b>	68.845±14.6819	0.0739±0.1767	0.9951
<b>As(III), µmol/L</b>	5.1565±1.0995	0.0739±0.1767	0.9951

Para la curva de calibración de preconcentración de As(III) se obtuvo un límite de detección de 0.02 µmol/L (0.0017 mg/L) y límite de cuantificación de 0.08 µmol/L (0.0058 mg/L), así como el intervalo lineal de 0.05 a 0.27 µmol/L (0.004-0.02 mg/L).

Esta curva de calibración tenía una pendiente mayor a la obtenida para la preconcentración de As(V), lo cual resultó de interés, por lo cual se analizó el procedimiento que se llevó a cabo para lograr la preconcentración y oxidación de As(III), el cual consistió en lo siguiente: para la preconcentración fue necesario ajustar el pH de las disoluciones de As(III) a un valor de 11, una vez que el As(III) fue retenido se llevó a cabo la elución del arsenito con una disolución de KCl 0.5 mol/L, después de este paso fue necesario llevar a cabo la oxidación del arsenito para lo cual fue necesario modificar el pH, ya que la reacción de oxidación se veía favorecida en medio ácido. Por lo anterior se puede suponer que no se realizó de manera adecuada el ajuste del valor de pH y eso pudo provocar una modificación al realizar la reacción de azul de molibdeno, la cual es dependiente de la concentración de protones. Aunque cabe señalar que los resultados mostraron que la preconcentración de As(III) es posible y existe una relación directamente proporcional entre la concentración inicial de As(III) y la absorbancia.

Es importante señalar que la especiación del arsénico es posible aun cuando en medio básico el As(V) y As(III) puede ser retenido por la resina de intercambio

aniónico, para ello se proponen dos alternativas para la especiación de arsénico, pensando que la muestra que se analiza corresponde a una mezcla de As(V) y As(III).

La primera opción consiste en realizar la preconcentración del As(V) a pH neutro, con lo cual el As(V) quedaría retenido en la resina de intercambio aniónico y la disolución que pasaría a través del intercambiador iónico solo contiene As(III), a la que se le puede ajustar el pH a 11 y realizar el proceso de preconcentración para el As(III).

La segunda opción propuesta es realizar la preconcentración de As(V) y As(III) a pH=11 y realizar la especiación utilizando la selectividad de la reacción de azul de molibdeno, debido a que la reacción solamente ocurre con As(V), por lo cual al evaluar el eluato sin realizar el proceso de oxidación se determina la concentración de As(V) y al realizar la oxidación se cuantificará la suma de la concentración de As(III) y As(V).

## CONCLUSIONES

- La determinación de As(V) se realizó mediante la reacción de azul de molibdeno, empleando un sistema de análisis por inyección secuencial. Utilizando esta metodología se redujo el volumen de muestra y reactivos así como el volumen de desechos generados en comparación con una determinación en lote, lo cual es vital debido a la toxicidad del analito estudiado. El empleo de un detector espectrofotométrico es relativamente económico comparado con las espectroscopías atómicas que son los métodos más empleados para cuantificar arsénico.
- Utilizando una minicolumna empacada con la resina QAE Sephadex A-25 fue posible cuantificar concentraciones de As(V) y As(III) menores a  $0.33 \mu\text{mol/L}$  ( $0.025 \text{ mg/L}$ ), valor que corresponde a la concentración permisible de arsénico en agua potable. Resulta un método alternativo al empleo de espectroscopía de absorción atómica de generador de hidruros (HG-AAS) u horno de grafito (GF-AAS) así como espectroscopía de emisión atómica-plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) y espectrometría de masas-plasma de argón de acoplamiento inductivo (ICP-MS), que requieren equipos más costosos y condiciones especiales, con los métodos propuestos en el presente trabajo se tiene la ventaja de poder realizar el proceso de especiación del arsénico.
- Empleando una minicolumna empacada con óxido de manganeso(IV) se logró la oxidación de As(III) a As(V), la oxidación se llevó a cabo de forma rápida y con una eficiencia del 80%. Las ventajas de utilizar una minicolumna empacada con óxido de manganeso (IV) es que fue reutilizable y no era necesario realizar procesos de centrifugación para recuperar el oxidante.
- Para la preconcentración de As(III) previa oxidación a As(V) con una minicolumna de  $\text{MnO}_2$  no fue posible y los resultados obtenidos no muestran una tendencia lineal y no fue posible la construcción de una curva de calibración.

- Se propuso una metodología para la preconcentración de As(III), en la cual a preconcentración se llevó a cabo en medio básico y posteriormente se realizó el proceso de oxidación en medio ácido utilizando una minicolumna de óxido de manganeso(IV), al realizar la preconcentración de esta manera los resultados obtenidos mostraron una relación proporcional entre la concentración inicial de As(III) y la absorbancia, por lo cual fue posible la construcción de una curva de calibración.

## PERSPECTIVAS

- Evaluar las metodologías de preconcentración para cuantificación de As(V) y As(III) como mezcla o individualmente en muestras de agua potable (agua embotellada, agua de la llave), agua de río y aguas subterráneas.
- Evaluar la influencia de aniones presentes en las muestras reales en el proceso de preconcentración.

---

**REFERENCIAS**

American Society for Testing Materials (ASTM) D 2972-03. Standard Test Methods for Arsenic in Water.

Andreae, M.O. Distribution and speciation of arsenic in natural waters. *Deep Sea Res.* 25 (1978) 391.

Barrero Moreno J.M. Tesis. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de ciencias químicas. Desarrollo, evaluación y caracterización de fases reactivas sensibles a diferentes analitos y su empleo en sensores ópticos en flujo (1994).

Boonjob W., Miró M., Kolev S. On-line speciation analysis of inorganic arsenic in complex environmental aqueous samples by pervaporation sequential injection analysis. *Talanta* 117 (2013) 8-13.

Cañizares Macías P. Apuntes de la clase de métodos en flujo (2013).

Cao X., Hao C.L., Wang G., Yang H.H., Chen D. Y., Wang X.R. Sequential extraction combined with HPLC-ICP-MS for As speciation in dry seafood products. *Food Chem.* 113 (2009) 720.

Chen M.L., Ma L-Y., Chen X-W. New procedures for arsenic speciation: A review. *Talanta* 125 (2014) 78.

Chen S., Zhan X., Lu D., Liu C., Zhu L. Speciation analysis of inorganic arsenic in water by carbon nanofibers separation and inductively coupled plasma mass spectrometry determination. *Anal. Chim. Acta* 634 (2009) 192.

Christian, G.D., Sequential injection analysis for electrochemical measurements and process analysis. *Analyst* 19 (1994) 2309-2314.

Díaz rioG. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química: Evaluación de la biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos por la microalga *Selenastrum Capricornutum* mediante

metodología de extracción en fase sólida y dispersión de matriz en fase sólida acoplado a CLAR-UV (2012).

Doker S., Uzun L., Denizli A. Arsenic speciation in water and snow samples by adsorption onto PHEMA in a micro-pipette-tip and GFAAS detection applying large-volume injection. *Talanta* 103 (2013) 123.

Economou, E. Sequential-injection analysis (SIA): A useful tool for on-line sample-handling and pre-treatment. *Trends Anal. Chem.* 24 (2005) 416.

EPA. U.S. Environmental Protection Agency. Arsenic and Clasifications to Compliance and New Source Contaminants Monitoring Final Rule. (2001).

EPA. U.S. Environmental Protection Agency. Arsenic, Inorganic. Integrated Risk Information System (IRIS). National Center for Environmental Assessment, Washington, D.C. (2012).

Escobar Quiroz I.N. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Geografía. Influencia del tamaño de partícula de óxidos laminares de Mn (IV) (Tipo birnesitas) en la oxidación del As(III) (2012).

Ferguson, J.F., Gavis, A review of arsenic cycle in natural water. *J. Water Res.* 6 (1972) 1259.

FIALab: <http://www.flowinjection.com/products/flow-cells?sid=61:flow-cells>

Fidalgo N., Blanco-González E., Sanz-Medel A. Review: Sample handling strategies for the determination of persistent trace organic contaminants from biota sample. *Anal. Chim. Acta* 590 (2007) 1.

Flanagan S.V., Johnston R.B., Zheng Y. Arsenic in tube well water in Bangladesh: health and economic impacts and implications for arsenic mitigation. *Bull World Health Organ.* 90 (2012) 839.



Gallardo C.X., Masini J.C. Spectrophotometric determination of phosphate and silicate by sequential injection using molybdenum blue chemistry. *Anal. Chim. Acta* 417 (2000) 191.

García Domínguez A. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química: Determinación del mecanismo de electroreducción de la vitamina K por voltamperometría cíclica, en acetonitrilo (2015).

García-Salgado S., Quijano M.A., Bonilla M.M. Arsenic speciation in edible simple by microwave-assisted extraction and high performance liquid chromatography coupled to atomic fluorescence spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 714 (2012) 38.

Hanrahan G., Fan T. K., Kantor M., Clark K., Cardenas S., Guillaume D. W., Khachikian C.S. Design a development of an automated flow injection instrument for the determination of arsenic species in natural waters. *Rev. Sci. Instrum.* 80 (2009) 104101.

Hao J., Han M., Han S., Meng X., Su T., Wang Q. K. SERS detection of arsenic in water: A review. *J. Environ. Sci* (2015) en prensa.

Harris, D.C. *Análisis Químico Cuantitativo*. Barcelona. Reverté, 2012. 475-477

Hosseini M.S., Nazemi S. Preconcentration determination of arsenic species by sorption of As(V) on Amberlite IRA-410 coupled with fluorescence quenching of L-cysteine capped CdS nanoparticles. *Analyst* 138 (2013) 5769.

Hung D.Q., Nekrassova O. y Compton R.G. Analytical methods for inorganic arsenic in water: a review. *Talanta* 64 (2004) 269.

Husáková L., Cernohorský T., Srámková J., Vavrusová L. Determination of arsenic in beer by electrothermal atomic absorption spectrometry with deuterium background correction (D<sub>2</sub>-ET-AAS). *Food Chem.* 105 (2007) 286.

IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk to humans. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs.1-42 (Suppl. 7) (1987). <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/supplements.php>.

Issa N. B., Rajaković-Ognjanović V. N., Jovanović B. M., Rajaković L. V. Determination of inorganic arsenic species in natural waters- Benefits of separation and preconcentration on ion exchange and hybrid resins. *Anal. Chim. Acta* 673 (2010) 185.

Jelinek, C.F., Corneliussen, P.E. Level of arsenic in the United States food supply. *Environ. Health Perspect.* 19 (1977) 83.

Juskelis R., Li W., Nelson J. Cappozzo J. Arsenic Speciation in Rice Cereals for Infants. *J. Agr. Food Chem.* 61 (2013) 10670.

Kaur H., Kumar R., Babu J. N., Mittal S. Advances in arsenic biosensor development-A comprehensive review. *Biosens Bioelectron* 63 (2015) 533.

Kolev S. McKelvie I. *Advances in Flow Injection Analysis and Related Techniques*. Elsevier, Reino Unido, 2008.

Lajunen, L.H., Peramaki, P. *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK. 2004.

Lenoble V., Serpaud B., Deluchat V., Bollinger J. Arsenite oxidation and arsenate determination by the molybdene blue method. *Talanta* 61 (2003) 267-276.

Lindberg A.L., Goessel W., Grandér M., Nermell B., Mahter M. Evaluation of the three most commonly used analytical methods for determination of inorganic arsenic and its metabolites in urine. *Toxicol. Lett.* 168 (2007) 310.

Lomonte C., Currell M., Morrison R. J. S., McKelvie I. D., Kolev S. D. Sensitive and ultra-fast determination of arsenic (III) by gas-diffusion flow injection analysis with chemiluminescence detection. *Anal. Chim. Acta* 583 (2007) 72-77.

López Vargas E. Tesis de maestría. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Cuantificación de arsénico(III) con beta-ciclodextrina por voltamperometría de redisolución anódica (2013).

Lunde, G. The synthesis of fat and water soluble arseno organic compounds in marine and limnetic algae. *Acta Chem. Scand.* 27 (1973) 1586

Ma J., Sengupta M.K., Yuan D., Dasgupta P. K. Speciation and detection of arsenic in aqueous samples: A review of recent progress in non-atomic spectrometric methods. *Anal. Chim. Acta* 831 (2014) 1.

Male K.B., Hrapovic S., Santini J.M., Luong J.H.T. Biosensor for arsenite using arsenite oxidase and multiwalled carbon nanotube modified electrodes. *Anal. Chem.* 79 (2007) 7831.

Marshall G., Wolcott D., Olson D. Zone fluidics in flow analysis potentialities and applications. *Anal. Chim. Acta* 499 (2003) 29.

Marshall G.D., Stament J.F. Operational parameters affecting zone penetration in sequential injection analysis. *Process Control and Quality.* 3 (1992) 251-261.

Miller J.N., Miller J.C. Estadística y quimiometría para química analítica. 4ta. edición, Editorial Pearson Educación, Madrid, 2002.

Modificación a la NOM-127-SSA1-1994 (2000), Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.

Moldoveanu S., David V. *Essentials in Modern HPLC Separations.* Elsevier, 2013

Narcise C.I.S., Coe L., Mundo F.R. On-line preconcentration and speciation of arsenic by flow injection hydride generation atomic absorption spectrophotometry. *Talanta* 68 (2005) 298.

Ng J.C., Wang J.P., Shraim A. A global health problem caused by arsenic from natural source. *Chemosphere* 52 (2003) 1353.

Niedzielski P., Siepak M. Analytical Methods for Determining Arsenic, Antimony and Selenium in Environmental Samples. *Pol. J. Environ. Stud.* 12 (2003) 653–668.

Nonato Nonato F. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitán. Sistemas de atomización utilizando en espectrofotometría de absorción atómica: flama, horno de grafito, generador de hidruros y generador de vapor, para el análisis de muestras complejas (1998).

Pardo Gaytán D. Y. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. Extracción en fase sólida de arsénico empleando un material sorbente conteniendo el extractante CYANEX 301 (2010).

Pérez-Olmos R., Soto J.C., Zárate N., Araújo A.N., Lima J.L.F.C., Saraiva M. L.M.F.S. Analytical, Nutricional and Clinical Methods Application of sequential injection analysis (SIA) to food analysis. *Food Chem.* 90 (2005) 471.

Pimenta, M.A., Montenegro, M.C.B.S.M., Araújo, A.N., Martínez Calatayud, J. Review Application of sequential injection analysis to pharmaceutical analysis. *J. Pharmaceut. Biomed.* 40 (2006) 16.

Płotka-Wasyłka J., Szczepanska N., De la Guardia M., Namiesnik J. Miniaturized solid-phase extraction techniques. *Trends Anal. Chem.* 73 (2015) 19–38

Pope M. T. *Heteropoly and Isopoly Oxometalates*. Springer-Verlag. Berlín 1983.

PROY NOM-250-SSA1-2014, Agua para uso y consumo humano. Límites máximos permisibles de la calidad del agua y requisitos sanitarios que deben cumplir los sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados, su control y vigilancia. Procedimiento sanitario de muestreo.

Ramírez Cordero B. E. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. Desarrollo de metodologías de Análisis por Inyección Secuencial para la Determinación de fosfatos, arsenatos y arsenitos (2007).

Ramírez-Cordero B., Cañizares-Macías M. Determination of bioavailable soluble arsenic and phosphates in mine tailings by spectrophotometric Sequential Injection Analysis. *Talanta* 78 (2009) 1069.

Rehman A.U., Yaqoob M., Waseem A., Nabi A. Determination of arsenic (V) in freshwaters by flow injection with luminol chemiluminescence detection. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 88 (2008) 603.

Richter J., Lischka S., Piechotta C. Analysis of arsenic species in fish after derivatization by GC-MS. *Talanta* 15 (2012) 524-529

Rupashinghe T., Cardwell T., Cattrall R., Kolev S. Determination of arsenic in industrial samples by pervaporation flow injection with amperometric detection. *Anal. Chim. Acta* 652 (2009) 266.

Rupasinghe T., Cardwell T.J., Cattrall R. W., Potter I. D., Kolev S. D. Determination of arsenic by pervaporation-flow injection hydride generation and permanganate spectrophotometric detection. *Anal. Chim. Acta* 510 (2004) 225.

Ruzicka J., Hansen E. *Flow Injection Analysis*. Wiley. 1988.

Ruzicka, J., Hansen, E. H. Flow injection analysis: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. *Anal. Chem.* 72 (1975) 212A.

Ruzicka, J., Marshall, G.D. Sequential injection: A new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. *Anal. Chim. Acta* 237 (1990) 329.

Saleem M. IOP Conference Series: Material Science and Engineering 51, Bristol, Reino Unido, página 012012, IOP Publishing, 2013.

Sarkar S., Blaney L.M., Gupta A., Ghosh D., SenGupta A.K. Arsenic removal from groundwater and its safe containment in a rural environment: Validation of a sustainable approach. *Environ. Sci. Technol.* 42 (2008) 4268.

Semenova N., Bauzá de Mirabó F., Forteza R., Cerdá V. Sequential injection analysis system for total inorganic arsenic determination by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 412 (2000) 169-175.

Silva Rivera A. K. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. Evaluación de la preconcentración en línea de As(V) por análisis por inyección secuencial (2013).

Skoog D.A., Holler F. J. Principios de análisis instrumental. 6ta edición. Cengage Learning, México, 2008.

Smedley P.L., Kinniburgh D.G. A review of the source, behavior and distribution of arsenic in natural waters. *Appl. Geochem.* 17 (2002) 517.

Stewart, K. K., Beecher, G.R., Hare, P.E. Rapid analysis of discrete sample: The use of nonsegmented continuous flow. *Anal. Biochem.* 70 (1976) 167.

Sun M., Liu G., Wu Q., Liu W. Speciation analysis of inorganic arsenic in coal sample by microwave assisted extraction and high performance liquid chromatography coupled to hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Talanta* 106 (2013) 8.

Themelis, D.G., Economou A., Tsiomlektsis A. Direct determination of phosphate in urine by sequential-injection analysis with single on-line dilution-calibration method and photometric detection. *Anal. Biochem.* 330 (2004) 193.

Wu Y., Li W., Sparks D. The effects of iron(II) on the kinetics of arsenic oxidation and sorption on manganese oxides. *J. Colloid Interface Sci.* 457 (2015) 319–328.

Zhang J., Zhang G., Zhao C., Quan X., Jia Q. On-line preconcentration/separation of inorganic arsenic and antimony by poly (aryl ether ketone) containing pendant

carboxyl groups prior to microwave plasma atomic spectrometry determinations. *Microchemical Journal* 100 (2012) 95.

Zheng F., Hu B. Dual silica monolithic capillary microextraction (CME) on-line coupled with ICP-MS for sequential determination of inorganic arsenic and selenium species in natural waters. *J. Anal. At. Spectrom.* 24 (2009) 1051.