



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO DE
CUANTIFICACIÓN DE ARSENIATOS POR CROMATOGRAFÍA
IÓNICA EN MUESTRAS CON PRESENCIA DE NITRATOS.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO

PRESENTA :

ISAID OTONIEL MARTÍNEZ COS

CIUDAD DE MÉXICO

2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



MÉXICO, CDMX.

2021

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: GAMMA GONZALEZ SILVIA CITLALLI

VOCAL: VILLALOBOS PEÑALOSA MARIO

SECRETARIO: LOREDO JASSO ALAN ULISES

1er. SUPLENTE: GARCIA CARRILLO MARIO ALFREDO

2do. SUPLENTE: HERNANDEZ CHACON JUAN CARLOS

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio de Geoquímica Ambiental Molecular (LGAM) del Departamento de Ciencias Ambientales y del Suelo (DCAS) y del Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía (LANGEM) en el Instituto de Geología (IGL) en la UNAM.

ASESOR DEL TEMA:

M. en C. Alan Ulises Loredo Jasso

SUSTENTANTE:

Isaid Otoniel Martínez Cos

Agradecimientos académicos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por brindarme los medios necesarios para mi formación académica y cultural desde mi ingreso en nivel medio superior.

A la Facultad de Química por los recursos materiales, por todo el conocimiento adquirido en mi estadía y por cada uno de mis profesores y compañeros que aportaron a mi desarrollo y formación profesional.

Al Instituto de Geología por la oportunidad de pertenecer a su comunidad para este proceso de investigación. Del mismo modo, por el apoyo brindado con la beca para la culminación de mi tesis del "*Programa de Becas de IGL-UNAM*".

Al Laboratorio de Geoquímica Ambiental Molecular (LGAM) en el Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía (LANGEM) por brindarme el espacio de trabajo donde fue desarrollada la presente investigación.

A mi asesor, el M. en C. Alan Ulises Loredo Jasso por el apoyo técnico brindado durante el desarrollo del proyecto, por la capacitación teórica y práctica para el uso de las diferentes áreas en el laboratorio, equipos y materiales.

A los proyectos "Geoquímica ambiental de frontera en ambientes áridos y semi-áridos contaminados con residuos minero-metalúrgicos" (No. CONACyT=283416) y "Comportamiento de sorción del Tl(I) en birnesitas y en ilita, y estabilidad geoquímica de hidroxí-sulfatos de Fe(III)" (No. DGAPA=IN101120) a cargo del Dr. Mario Villalobos Peñalosa, a quien también le agradezco su apoyo.

Al M. en C. Hugo Salazar Rivera (†) por el apoyo técnico en lo referente a las isotermas de adsorción de arseniatos en goethitas. De igual manera agradezco el apoyo brindado por los integrantes del equipo de investigación del LGAM y LGA, en especial al M. en C. Luis Peña, a la Q. Kasandra Trejo, a la Q. Anaid Cano, a la Q. Astrid Vázquez y a la M. en C. Alicia Santana.

Por último, agradezco al jurado asignado por las correcciones y comentarios hechos ya que con estas se complementó el presente trabajo.

Agradecimientos personales

A mis padres Francisco Martínez Velázquez y Gabriela Cos Farfán. Por apoyarme durante todo este camino, que no ha sido fácil. En el cual enfrentamos un sin fin de obstáculos, pero que con paciencia, perseverancia y amor logramos salir de cada uno. Gran parte del hombre que soy ahora fue gracias a ustedes, por todos los valores y enseñanzas que me han inculcado. Las palabras se quedan cortas para poder agradecer todo lo que han hecho por mí y siempre lucharé para que se sientan orgullosos, los amo.

A mis hermanos Miryam, Juan Francisco, Carolina, Julieta y Violeta. Porque siempre tuve su cariño y apoyo incondicional. Por más lejos que estemos, por más disgustos que podamos tener y muchas cosas más, siempre estaremos unidos, son muy importantes para mí.

A mis primos Mauricio Arellano, Viridiana Arellano y mi tía Aurelina Coss, por todo el apoyo y cariño que me brindaron, y por esos bonitos momentos en Michoacán de los cuales no tengo duda de que habrá más.

A mi asesor Ulises Loredo por todo el apoyo brindado durante este último periodo de mi carrera y por esos momentos de camaradería y convivencia. Además del vínculo académico, la vida me permite hacerme de un buen amigo.

A mis amigos más cercanos Jessamyn Rodríguez, Estefanía Valencia, Bianca Valencia, Alison Rojas, Elizabeth Ramírez, Israel Gómez, Diego Velázquez, Enrique Sánchez, Alejandro Hidalgo, Luidving Rosales, Mauricio Álvarez, Ricardo Cortés, Ximena Martínez, Fernanda Sánchez, Roberto Carrión y Héctor Arana. De los cuales siempre recibí apoyo y aliento para llegar a cumplir esta meta tan importante en mi vida. Su amistad es de lo más valioso que puedo atesorar en esta vida.

A Alondra Benvenuta por todos esos momentos inolvidables vividos a tu lado desde que nos conocimos de una manera tan especial para ambos. También por el cariño y apoyo recibido, los cuales son invaluable.

A mis sobrinos Vianey, Yair, Grecia, Kevin, Daniel, Adolfo, Fernanda, Ivanna, Alejandra, Sofia, Regina, Amely y Luna, por darme su cariño y apoyo. Con los mayores tuve la oportunidad de compartir mi infancia y los más pequeños me han demostrado lo hermosa que es la niñez. Nunca dejen de luchar por sus sueños y siempre estaré para ustedes.

A aquellos profesores que marcaron de forma positiva mi vida académica y que me impulsaron a soñar en ser químico y un buen estudiante, a los cuales admiro; Eddy González, Julio Cesar Hernández, Jorge Meinguer, Berenice Zepeda, José Luz González, Arturo García, Fernando Gómez, Mario Alfredo García, Mayté Valverde y Daniel Sifuentes.

Y finalmente, y no menos importante, a todos aquellos familiares y amigos que quizá no menciono, pero que también me han apoyado con consejos, buenos momentos y más. Cada gesto y acción de buena fe siempre las llevo presentes.

Con cariño y respeto para todos ustedes.

ABREVIATURAS

- CLAR: Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia
- EPT: Elementos Potencialmente Tóxicos
- FE: Fase Estacionaria.
- FM: Fase Móvil.
- H1: Hipótesis alternativa.
- Ho: Hipótesis nula.
- CI: Cromatografía Iónica.
- IS: Índice de saturación
- ISO: *International Organization for Standardization.*
- IUPAC: *International Union of Pure and Applied Chemistry.*
- K_{ps} : Constante del producto de solubilidad.
- mM ó M: Unidad de concentración molar (mmol L^{-1} , mol L^{-1}).
- NMX: Norma Mexicana.
- NOM: Norma Oficial Mexicana.
- OMS: Organización Mundial de la Salud.
- PAI: Producto de Actividad Iónica.
- ppm: Partes por millón (mg/L, mg/Kg, etc.).
- RIO: Resina de intercambio iónico
- μS : micro-Siemens.
- UV-Vis: Ultravioleta-Visible.

TABLA DE CONTENIDO

ABREVIATURAS	6
RESUMEN.....	12
1. INTRODUCCIÓN.....	14
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. Objetivo General	15
2.2. Objetivos particulares	15
3. MARCO TEÓRICO	16
3.1. Suelo.....	16
3.1.1. Composición del suelo	16
3.1.2. Óxidos de hierro.....	18
3.1.2.1. Goethita (α -FeOOH).....	19
3.2. Equilibrios de precipitación y sorción en los suelos	21
3.2.1. Precipitación	21
3.2.2. Sorción	22
3.3. Elementos potencialmente tóxicos (EPT)	23
3.4. Arsénico	23
3.4.1. Especiación química.....	24
3.4.2. Distribución en el medio ambiente.....	26
3.4.3. Toxicidad.....	30
3.4.4. Normatividad	31
3.4.5. Técnicas instrumentales habituales para la cuantificación de As.....	32
3.5. Cromatografía	34
3.5.1. Generalidades	34
3.5.1.1. Cromatografía de gases	35
3.5.1.2. Cromatografía de líquidos.	36
3.5.2. Parámetros cromatográficos	36
3.5.3. Cromatografía iónica	38
3.5.3.1. Fundamento	38
3.5.3.2. Sistema cromatográfico.....	40

3.6. Método Analítico.....	45
3.6.1. Generalidades	45
3.6.2. Desarrollo del método analítico.....	46
3.6.3. Herramientas estadísticas de apoyo	48
3.6.4. Validación de un método analítico	49
3.6.4.1. Parámetros de validación o desempeño.....	50
3.6.4.1.1. Linealidad	50
3.6.4.1.2. Intervalo de trabajo	51
3.6.4.1.3. Límite de Detección (LOD).....	51
3.6.4.1.4. Límite de cuantificación (LOQ).....	52
3.6.4.1.5. Sensibilidad	52
3.6.4.1.6. Selectividad	52
3.6.4.1.7. Exactitud.....	53
3.6.4.1.7.1. Veracidad	53
3.6.4.1.7.2. Precisión.....	54
3.6.4.1.7.2.1. Repetibilidad	54
3.6.4.1.7.2.2. Repetibilidad intermedia.....	54
3.6.4.1.7.2.3. Reproducibilidad	55
3.6.4.1.8. Robustez.....	55
4. METODOLOGÍA.....	56
4.1. Reactivos, materiales y equipos	56
4.2. Método	57
4.2.1. Desarrollo del método.....	57
4.2.2. Selección de la fase móvil y concentración del supresor.....	57
4.2.3. Preparación de la muestra	59
4.2.4. Validación del método.....	60
4.2.4.1. Linealidad	60
4.2.4.2. Intervalo de trabajo.....	60
4.2.4.3. Límite de detección (LOD).....	61
4.2.4.4. Límite de cuantificación (LOQ)	61
4.2.4.5. Sensibilidad	61
4.2.4.6. Selectividad.....	61

4.2.4.7. Exactitud	62
4.2.4.7.1. Veracidad.....	62
4.2.4.7.2. Precisión	62
4.2.4.7.2.1. Repetibilidad.....	62
4.2.4.7.2.2. Repetibilidad intermedia	62
4.2.4.8 Robustez	63
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	64
5.1 Desarrollo del método	64
5.1.1. Selección de la fase móvil y concentración del supresor.....	64
5.1.2. Flujo.....	68
5.1.3. Condiciones seleccionadas para el análisis	68
5.2. Validación del método	69
5.2.1. Linealidad	69
5.2.2. Intervalo de trabajo	72
5.2.3. Límite de detección (LOD)	74
5.2.4. Límite de cuantificación (LOQ).....	75
5.2.5. Sensibilidad	75
5.2.6. Selectividad	75
5.2.7. Exactitud.....	76
5.2.7.1. Veracidad	77
5.2.7.2. Precisión	77
5.2.7.2.1. Repetibilidad	77
5.2.7.2.2. Repetibilidad intermedia.....	78
5.2.8. Robustez.....	79
6. CONCLUSIONES	81
ANEXO A. MODELOS MATEMÁTICOS	82
ANEXO B. DATOS DE CONCENTRACIÓN REAL DE LAS MUESTRAS.	85
ANEXO C. GLOSARIO	86
REFERENCIAS	88

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Composición porcentual del suelo (Buckman, 1991)	17
Figura 2. Representación poliédrica de la Goethita “ α -FeOOH” (Scheinost, 2005).	20
Figura 3. Diagrama de especiación del As (a una $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 1 atm con una concentración total de As de $10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$ y azufre total de $10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$) (Eh vs pH) (Tomado de Virender et al., 2009).....	25
Figura 4. Esquema general de las partes de un Cromatógrafo Iónico (modificado a partir de Loredó, 2019).....	40
Figura 5. Columna de cromatografía iónica marca Metrohm.....	42
Figura 6 . Detector de conductividad marca Metrohm.....	44
Figura 7. Detector amperométrico marca Metrohm.....	45
Figura 8. Relación de Exactitud con precisión y veracidad (Tomado de CENAM, 2008).	53
Figura 9. Sistema de filtración de muestras.	59
Figura 10. Gráfico de selectividad por experimento.	65
Figura 11. Gráfico de número de platos teóricos por experimento.....	66
Figura 12. Gráfico de altura equivalente de platos teóricos por experimento.....	66
Figura 13. Gráfico de resolución por experimento.....	67
Figura 14. Cromatograma de un blanco analizado bajo las mismas condiciones que las muestras.	69
Figura 15. Cromatogramas obtenidos para determinar linealidad.....	70
Figura 16. Curvas de calibración obtenidas para la linealidad con su gráfico de residuales.....	71
Figura 17. Cromatogramas obtenidos para el intervalo de trabajo.....	73
Figura 18. Curva de calibración obtenida para el intervalo de trabajo.....	73
Figura 19. Cromatograma del análisis de una muestra proveniente de las isotermas de adsorción.	76
Figura 20. Esquema de preparación de disoluciones estándar.....	82

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Óxidos e hidróxidos de hierro presentes en el suelo. Elaborada a partir de Acevedo et al. (2004).	19
Tabla 2. Compuestos orgánicos del Arsénico. Elaborada a partir de Virender et al. (2009).....	26
Tabla 3. Técnicas utilizadas en la cuantificación de arsénico. Elaborada a partir de Litter et al. (2009).	33
Tabla 4. Clasificación de los métodos cromatográficos. Elaborada a partir de Skoog et al. (2008).	35
Tabla 5. Parámetros cromatográficos.	37
Tabla 6. Parámetros estadísticos.	48
Tabla 7. Parámetros de validación conforme al grado deseado (CENAM, 2004). ..	50
Tabla 8. Reactivos.....	56
Tabla 9. Equipos y materiales de mayor interés.....	56
Tabla 10. Planeación de experimentos utilizando un diseño tipo factorial.	57
Tabla 11. Secuencia de mediciones en cada experimento.	58
Tabla 12. Condiciones de análisis de arseniatos.	68
Tabla 13. Valores obtenidos en la curva de calibración para la linealidad	72
Tabla 14. Valores obtenidos en las curvas de calibración para el intervalo de trabajo	74
Tabla 15. Valores obtenidos en resolución para evaluar selectividad.....	76
Tabla 16. Valores obtenidos para evaluar la veracidad a través del sesgo.....	77
Tabla 17. Valores obtenidos para evaluar la precisión bajo repetibilidad.	78
Tabla 18. Valores obtenidos para evaluar la precisión bajo repetibilidad intermedia.	79
Tabla 19. Valores obtenidos en los porcentajes de recuperación.	80
Tabla 20. Concentraciones reales de las cinco muestras seleccionadas provenientes de las isotermas de adsorción.	85

Resumen

El estudio de los suelos es un área de suma importancia debido a que controlan la movilidad y la biodisponibilidad tanto de especies nutrientes como de Elementos Potencialmente Tóxicos (EPTs). De manera natural un EPT en el suelo puede ser remediado a través de dos procesos: por su precipitación como especie insoluble, o por su retención en la interfaz mineral-agua. La posibilidad de que un sorbente (goethita [α -FeOOH], por ejemplo) pueda retener un EPT, dependerá de la estructura y carga superficial del sólido, y de la afinidad entre ambos componentes.

Durante estos estudios, la determinación de la cantidad de sorbato retenido en el sorbente se realiza indirectamente a través de la especie remanente en solución acuosa. Por lo tanto, su cuantificación se debe realizar con la mayor certeza y confiabilidad posible, requiriendo contar con metodologías validadas que permitan obtener resultados adecuados para el fin propuesto.

Un EPT que suele ser estudiado bajo este y otros procesos es el arsénico (As) (como arseniatos, principalmente) debido a su toxicidad y distribución ambiental, por lo que existen diferentes técnicas que permiten cuantificarlo en la solución remanente (ICP-OES, EAA-HG, voltamperometría, etc.). Lamentablemente muchas de estas técnicas instrumentales no determinan al As directamente como arseniatos, sino como otra especie química de él, además de tener tiempos de análisis prolongados, utilizar instrumentación de alto costo y requerir consumibles dañinos al medio ambiente.

Por lo tanto, la Cromatografía Iónica (CI) resulta una excelente opción para la cuantificación de arseniatos ya que sus procedimientos son de fácil entendimiento, analizan a la especie química de interés, no requiere consumibles costosos o tóxicos y tiene tiempos de análisis bajos. Esta técnica instrumental se basa en la afinidad de los analitos (iones) con la fase estacionaria (resinas) y la fase móvil, permitiendo eluir a los iones a diferentes tiempos (separación) y, posteriormente, cuantificándolos a través de un detector.

En el presente trabajo se desarrolló y validó una metodología de cuantificación por CI de arseniatos en presencia de nitratos. Para el desarrollo del método se utilizó un diseño experimental tipo factorial para estudiar el efecto de las sales en la fase móvil y la disolución del supresor, mientras que en la validación analítica se determinó los límites (detección y cuantificación), la linealidad e intervalo de trabajo del método, la selectividad, la exactitud (bajo condiciones de veracidad y precisión) y la robustez de este.

Además de ello, en este trabajo de investigación se aplicó el método en muestras reales provenientes de isothermas de adsorción de arseniatos en goethita, y se plantearon los modelos de mensurando a través de los cuales se estimó la incertidumbre.

Con base en los resultados obtenidos, la metodología desarrollada cumple con los criterios de aceptación para los parámetros de validación estudiados y es aplicable a las muestras de estudio, por lo que representa una alternativa analítica rápida, sencilla, de bajo costo y amigable con el ambiente para la determinación de arseniatos en muestras con presencia de nitratos, como las provenientes de los estudios de adsorción descritos.

1. Introducción

El arsénico (As, número atómico 33) es un elemento perteneciente a los semimetales (o metaloides) y que se encuentra naturalmente en la corteza terrestre. Este elemento existe principalmente en cuatro estados de oxidación; como As^{5+} (arseniatos, AsO_4^{3-} y sus versiones protonadas), como As^{3+} (arsenitos, AsO_3^{3-} y sus versiones protonadas), como As^0 (arsénico metálico) y como As^{3-} (arsina, $\text{AsH}_3(\text{g})$). El grado de toxicidad del arsénico dependerá de la forma química en que se encuentre y del estado de oxidación, principalmente. Además, cuenta con una gran distribución ambiental, lo que eleva su probable interacción y posterior posible daño en los seres humanos (Virender, 2009; Dipali et al., 2019).

En el Laboratorio de Geoquímica Ambiental Molecular (LGAM) se estudian los procesos naturales de retención de Elementos Potencialmente Tóxicos (EPTs) en el suelo, uno de estos estudios es la sorción de arseniatos en la superficie del mineral goethita ($\alpha\text{-FeOOH}$). Para conocer la cantidad de arseniato adsorbido, es necesario cuantificar al anión remanente que se encuentra en solución, *i.e.*, posterior al proceso (método indirecto), por lo que se requieren metodologías que permitan adecuadamente analizar al analito de interés.

Actualmente existen diversas técnicas instrumentales (espectroscópicas y electroquímicas, principalmente) que permiten su cuantificación. Sin embargo, algunas de estas tienen ciertas desventajas ya que, a pesar de ofrecer amplios intervalos lineales y/o bajos límites de cuantificación, requieren equipos de alto costo, consumibles dañinos al medio ambiente y de elevado precio, tratamientos de muestra y análisis complejos y, lo más importante, no suelen cuantificar directamente a la especie de interés, sino que lo hacen a través de otra forma química del As.

Por ello, y debido a sus características de análisis, la Cromatografía Iónica (CI) es una técnica instrumental capaz de analizar arseniatos a través del intercambio iónico, por lo que se propone desarrollar un método analítico por CI rápido, económico, sencillo y amigable con el ambiente para la determinación de arseniatos en muestras acuosas con presencia de nitratos, como las obtenidas de los procesos de adsorción realizados en el LGAM.

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Desarrollar, validar e implementar una metodología para la cuantificación de arseniatos acuosos en cromatografía iónica con detección conductimétrica, en presencia de nitratos.

2.2. Objetivos particulares

- Encontrar las mejores condiciones de análisis para la cuantificación de arseniatos en presencia de nitratos a través de los parámetros cromatográficos del sistema y del diseño experimental propuesto.
- Determinar los parámetros de validación del método propuesto y evaluar el desempeño conforme a los criterios de aceptación establecidos.
- Aplicar el método validado en muestras acuosas provenientes de las isothermas de adsorción de arseniatos en goethitas.

3. Marco Teórico

3.1. Suelo

Se denomina suelo a la parte superficial de la corteza terrestre, biológicamente activa, que proviene de la desintegración o alteración física y química de las rocas y de los residuos de las actividades realizadas por los seres vivos que se asientan sobre él (Villalaz, 2005). El suelo es un recurso de suma importancia, pues en él se llevan a cabo un sinnúmero de actividades, por ejemplo (Villalaz, 2005):

- Es un medio para el desarrollo de la agricultura.
- Es habitat de flora y fauna.
- Funge como soporte y aporta materia prima en la construcción.
- Es un medio descontaminante (retención de especies tóxicas).

3.1.1. Composición del suelo

Los suelos dependen directamente de la composición química de la roca madre, ya que ésta, a través del intemperismo de los minerales primarios, generará minerales secundarios con diferentes características. La presencia de minerales primarios (comúnmente en la fracción gruesa) y secundarios puede ser utilizada para conocer el tiempo de formación que lleva un suelo. En los suelos jóvenes hay mayor proporción de minerales primarios, mientras que en los suelos maduros predominan las arcillas y los óxidos de hierro y aluminio, así como piroxenos, anfíboles y micas (Fassbender et al., 1987).

El proceso de formación de un suelo tiende a ser muy lento, 1 cm de espesor se tarda hasta 1000 años, por lo que ese considera un recurso no renovable en los periodos de tiempo de varias generaciones. De manera general, un suelo está

compuesto por minerales (materia inorgánica), materia orgánica, organismos y microorganismos, aire y agua (Buckman, 1991).

En la Figura 1 se muestra la composición porcentual (%v/v) para un suelo en buenas condiciones de crecimiento.

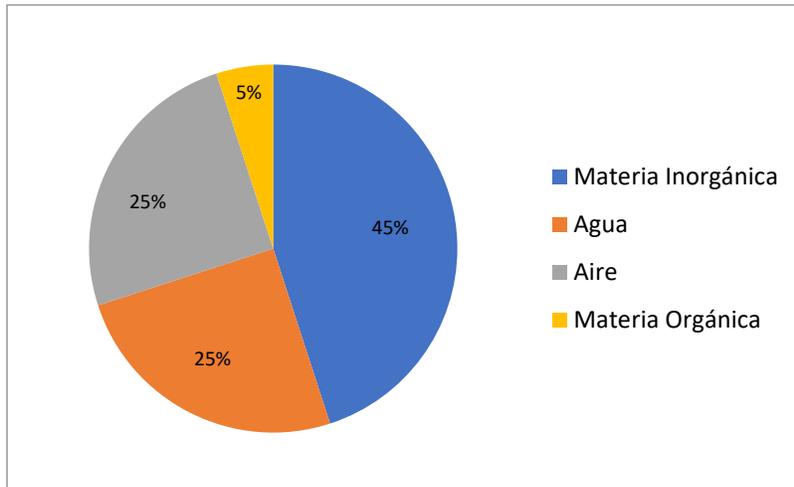


Figura 1. Composición porcentual del suelo (Buckman, 1991)

Al morir, las plantas y algunos animales de mayor tamaño que habitan en el suelo son descompuestos por los microorganismos y transformados en materia orgánica. Existen dos tipos de microorganismos de interés en el suelo, los que degradan a la materia orgánica (insectos y lombrices) y los que la descomponen liberando los nutrientes (hongos y bacterias). Además, algunos de estos microorganismos ayudan a desintegrar las rocas (intemperismo biológico), airean el sistema, almacenan agua y favorecen el crecimiento de raíces.

El agua y el aire en un suelo son llamadas fases de unión, ya que transportan especies químicas a través de los intersticios (estructura del suelo), debido principalmente a las irregularidades generadas por las raíces y algunas lombrices. La fase acuosa en los suelos suele ser un reservorio de sólidos y gases disueltos, por ello, se le suele decir "solución del suelo". Las especies acuosas que típicamente exceden en concentración a las otras, en suelos no contaminados, son HCO_3^- , NO_3^- , Na^+ , Mg^{2+} , $[\text{Si}(\text{OH})_4]$, SO_4^{2-} , Cl^- , K^+ y Ca^{2+} (Sposito, 2008). En cuanto al aire, la composición típica suele ser muy diferente a la atmosférica, ya

que la actividad biológica afecta directamente a los gases presentes. Además del O_2 , N_2 y el CO_2 , un suelo puede tener una importante contribución de H_2 , NO , N_2O , NH_3 , CH_4 y H_2S (Sposito, 2008).

3.1.2. Óxidos de hierro

El hierro es uno de los elementos más frecuentes en las rocas y en los suelos agrícolas. El color del suelo y, en consecuencia, la diferenciación visual de los horizontes del perfil se relaciona frecuentemente con la forma y composición de los depósitos de óxidos e hidróxidos de hierro, entre otros. Bodek et al. (1988) mencionan que el contenido de hierro en el suelo varía de 0.5 a 5.0% y que la media estimada es de 3.8%.

La principal forma en que se presenta el hierro en el suelo es como óxido e hidróxido Fe(III), teniendo una forma de pequeños granos de mineral o revestimientos amorfos sobre otros minerales. Los minerales de Fe(II) son solubles y persisten en suelos que presenten condiciones anaerobias, pero cuando las condiciones cambian, se oxidan y precipitan como el óxido Fe(III) mencionado.

La formación de óxidos de hierro en el suelo es afectada por la materia orgánica y por las bacterias, ya que el hierro forma quelatos metálicos con los ácidos de la materia orgánica, y algunas bacterias se alimentan de él (ej. *Thiobacillus Ferrooxidans*). En la Tabla 1 se presenta los (hidroxi-)óxido de hierro típicos en suelos.

Tabla 1. Óxidos e hidróxidos de hierro presentes en el suelo. Elaborada a partir de Acevedo et al. (2004).

Grupo	Fórmula	Nombre	Sistema Cristalino	Color	Presencia en suelos
Óxidos	$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	Hematita	Hexagonal	Rojo	Principalmente en suelos de zonas tropicales. Ocasionalmente en zonas templadas y en paleosuelos.
	$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	Maghemita	Tetragonal	Pardo rojizo	Principalmente en suelos de climas cálidos tropicales o subtropicales.
	Fe_3O_4	Magnetita	Cúbico	Negro	Material primario no pedogenético.
	$\text{Fe}_{10}\text{O}_{15}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$	Ferrihidrita	Romboédrica	Pardo rojizo	Suelos ácidos de climas fríos o templados con abundante materia orgánica. Baja cristalinidad.
Oxihidróxidos	$\alpha\text{-FeOOH}$	Goethita	Ortorrómico	Pardo amarillo	Suelos de climas húmedos, templados. En suelos tropicales y suelos hidromórficos con climas de verano caliente.
	$\gamma\text{-FeOOH}$	Lepidocrocita	Ortorrómico	Anaranjado	Suelos hidromórficos, no calcáreos o suelos bien drenados, climas de verano caliente.

3.1.2.1. Goethita ($\alpha\text{-FeOOH}$)

El oxihidróxido de hierro existe en la naturaleza en dos fases minerales, la fase α (goethita) y la fase γ (lepidocrocita). Debido a su alta estabilidad, la goethita es el mineral de los óxidos de Fe más presente en los suelos, y en ausencia de hematita, su color es responsable del tono marrón amarillento de muchos de ellos. La formación de goethita se ve favorecida por la hidrólisis lenta de los cationes hidroxilados de Fe^{3+} a baja temperatura. La distribución uniforme de la goethita en un horizonte de suelo indica, por lo tanto, que este suelo se ha formado bajo aireación y condiciones templadas y húmedas (Scheinost, 2005).

La estructura cristalina de la goethita consiste en cadenas dobles que comparten una de las aristas de cada octaedro de forma paralela a la dirección (001) (Figura 2), y que se unen a otras cadenas dobles a través de un vértice y por puentes de hidrógeno (Scheinost, 2005).

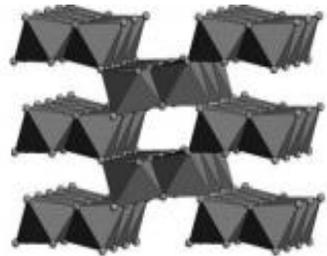


Figura 2. Representación poliédrica de la Goethita “ α -FeOOH” (Scheinost, 2005).

En la naturaleza su composición química va de un 62.9 % Fe, 27.0 % O y 10.1 % H₂O y en algunas ocasiones suele tener cantidades pequeñas de Mn que alcanzan hasta un 5 % (Klein, C.,1997). Además, es uno de los óxidos de hierro más usados en estudios de laboratorio, ya que sirve como sistema modelo para una gran variedad de investigaciones. Por un lado, por su química superficial y morfología bien caracterizadas, y por el otro, porque es el óxido de hierro más común en la naturaleza.

Una de las aplicaciones más comunes para la goethita es en el área de la Geoquímica Ambiental Molecular, donde en ella se estudian los procesos de sorción (retención) de Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT's) bajo condiciones controladas (pH, fuerza iónica, etc.). Ya que, debido al tamaño de partícula y la distribución de caras, se busca conocer la transformación superficial que presenta el EPT y la constante que rige a estos equilibrios. En estos trabajos de investigación la goethita es, generalmente, sintetizada (a partir del Fe(NO₃)₃·9H₂O y en ausencia de CO₂) y suele controlarse el tamaño de partícula gracias al flujo en que se adiciona uno de sus reactivos (Villacís-García et al., 2015). Aunque existen otras formas de síntesis (hidrotérmica o sol-gel), esta forma suele ser la más utilizada debido a su eficiencia.

3.2. Equilibrios de precipitación y sorción en los suelos

Existen varios procesos fisicoquímicos que ocurren en los suelos de manera natural, gran parte de estos suceden en la interfaz sólido-agua, ya que rige en gran medida el comportamiento del medio edáfico mediante procesos de sorción y precipitación de especies químicas en la fase sólida del suelo. Muchos de estos procesos ocurren en la parte coloidal del suelo (fracción arcillosa, material húmico coloidal, etc.) ya que su Área Superficial Específica (ASE) es mayor, permitiéndoles ser más reactivos.

3.2.1. Precipitación

La precipitación es la aparición de una fase sólida en el seno de un líquido, que ocurre por la adición de un reactivo que forma un producto insoluble con alguno de los iones de la disolución, o por un cambio en el disolvente o en sus propiedades. Al sólido formado se le llama precipitado y tiene una constante química que es llamada constante del producto de solubilidad (K_{ps}). (Martí, 2002). Aunque al tratarse de una constante teórica, su aplicación experimental suele estar relacionada con el Índice de Saturación (IS), cuya ecuación es la siguiente:

$$IS = \text{Log} \left(\frac{PAI}{K_{ps}} \right) \quad \text{(Ecuación 1)}$$

Dónde:

PAI= Producto de Actividad Iónica, que es expresado igual que la K_{ps} pero utilizando las actividades encontradas en solución.

Un $IS = 0$ indica que la solución está saturada, es decir, que $PAI = K_{ps}$, e indica la posible presencia del sólido. Cuando el $IS > 0$, la solución está sobresaturada, es decir, que $PAI > K_{ps}$, y las probabilidades de que se forme el sólido aumentan. Y, cuando el $IS < 0$, la solución no está saturada, $PAI < K_{ps}$, y no se puede formar el sólido.

3.2.2. Sorción

La estabilidad de los coloides del suelo en medio acuoso se explica considerando fenómenos superficiales o en el interior de un sólido. El contacto de este con las fases de unión en el suelo (agua y aire) genera interacciones entre las especies químicas disueltas y él; lo que provoca fenómenos de sorción (adsorción, desorción, biosorción y precipitación en la interfaz) relevantes en el entendimiento de los procesos de remediación en suelos. En este tipo de equilibrios el sorbato suele ser un EPT que se acumula gracias a la interfaz generada en la superficie o en el interior del sorbente (minerales, materia orgánica, raíces, etc.).

Cuando la acumulación de una sustancia ocurre en la superficie de un sólido y la solución acuosa (interfaz sólido-agua), suele definirse como adsorción. Este proceso suele ser uno de los más importantes que se lleva a cabo en el suelo, ya que controla la cantidad de nutrientes en plantas y la remoción de contaminantes.

Para la adsorción, se consideran dos tipos de fuerzas:

- Las físicas, donde podemos tener las Fuerzas de Van der Waals y los complejos de esfera externa.
- Y las químicas, que incluyen interacciones de corto alcance (esfera interna) que implican un intercambio de ligante, un enlace covalente o puentes de hidrógeno (Sparks, 1997).

La adsorción es generalmente descrita por medio de una isoterma, y estas indican cómo las moléculas adsorbidas se distribuyen entre la fase líquida y la sólida cuando el proceso de adsorción alcanza un estado de equilibrio. Dicho proceso suele ser bajo ciertas condiciones conocidas, como lo son la fuerza iónica, el pH o las concentraciones del sorbato, principalmente. Además, hoy en día existen muchos modelos que describen el equilibrio de adsorción, sin embargo, unos de los más simples y que se siguen utilizando, son los propuestos por Langmuir y Freundlich (Rivas et al., 2014).

3.3. Elementos potencialmente tóxicos (EPT)

Es un término general que incluye a todos aquellos elementos que debido a sus características y concentraciones pudieran ser tóxicos para los seres humanos y la biota. La toxicidad de los elementos depende en gran medida de la dosis o cantidades de las que se traten, ya que existen elementos esenciales que en grandes dosis son tóxicos (Zúñiga, 1999). Actualmente este es el término más utilizado para describir aquellos elementos que son dañinos bajo ciertas condiciones, ya que antiguamente se les solía denominar metales pesados o traza, cuando los primeros excluyen elementos metálicos o metaloides como el As, y los segundos incluyen, además de los tóxicos, a elementos esenciales y benéficos.

Además, algunos compuestos pueden sufrir acumulación en la cadena trófica (bioacumulación), lo que origina que, a pesar de estar naturalmente en dosis muy bajas en el ambiente, pueden llegar a encontrarse en plantas o animales a mayores concentraciones de las normales, provocando daños en la salud.

La presencia de niveles excesivos de EPT se debe principalmente a actividades antropogénicas como: el quemado de combustibles fósiles, la extracción desmedida de minerales, a la descarga de residuos industriales, agrícolas y domésticos, entre otros (Alimentarius, 2002). Por lo que factores como el de Movilización Antropogénica (AMF, por sus siglas en inglés) son de gran uso, ya que permiten conocer la relación entre la extracción del EPT por el hombre y la liberación natural del mismo.

3.4 Arsénico

El arsénico (As, número atómico 33) es un elemento ubicuo, perteneciente a los semimetales (o metaloides) y que se encuentra naturalmente en la corteza terrestre y aguas subterráneas. Es un componente principal en alrededor de 245 especies minerales (National Research Council, 1977) y ocupa el puesto 20° en

abundancia en la naturaleza y 14° en agua de mar. Los primeros documentos que hablan sobre él datan del 1250, y fueron elaborados por Albertus Magnus. El As existe principalmente en cuatro estados de oxidación; como As^{5+} (arseniatos, AsO_4^{3-} y sus versiones protonadas), como As^{3+} (arsenitos, AsO_3^{3-} y sus versiones protonadas), como As^0 (arsénico metálico) y como As^{3-} (arsina, $\text{AsH}_3(\text{g})$). El grado de toxicidad del arsénico depende de la forma química en que se encuentre y del estado de oxidación, principalmente. Además, se sabe que existen tres alótropos del As, el gris metalizado, el amarillo y el negro, siendo el arsénico gris el más común y al cual se transforman las otras dos formas por ser el más estable (Virender et al., 2009).

El arsénico se ha utilizado en diferentes campos dentro de la sociedad, por ejemplo:

- Uso médico: Como medicamento durante los siglos XVIII, XIX y XX a través de compuestos con arsfenamina y trióxido de arsénico.
- Agrícola: Como conservante de madera (arseniato de cobre cromado (CCA)) e insecticida en árboles frutales (PbHAsO_4).
- Aleaciones: Como mejora en los componentes de las baterías de automóviles y como semiconductor en circuitos integrados.
- Militar: Como arma bélica durante la Primera Guerra Mundial. Estados Unidos utilizó el Agente Azul, una mezcla de cacodilato [$(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2^-$] de sodio y su forma ácida, como uno de los herbicidas del arcoíris para privar a los vietnamitas de cultivos valiosos (Dipali et al., 2019).

3.4.1. Especiación química

El As en la naturaleza ocurre en formas orgánicas e inorgánicas y su especiación química depende fuertemente del potencial redox (E_h) y del pH del medio en que se encuentren. Por ejemplo, bajo condiciones oxidantes (E_h elevados) el arsénico existe como As^{5+} en sus diferentes especies dependientes del pH, mientras que a

valores por debajo de 0.25 V (condiciones reductoras fuertes) es posible, dependiendo el pH, la formación de arsina y arsénico metálico (Virender et al., 2009).

En la Figura 3 podemos ver la especiación del arsénico en presencia de azufre considerando la variación del potencial respecto al pH.

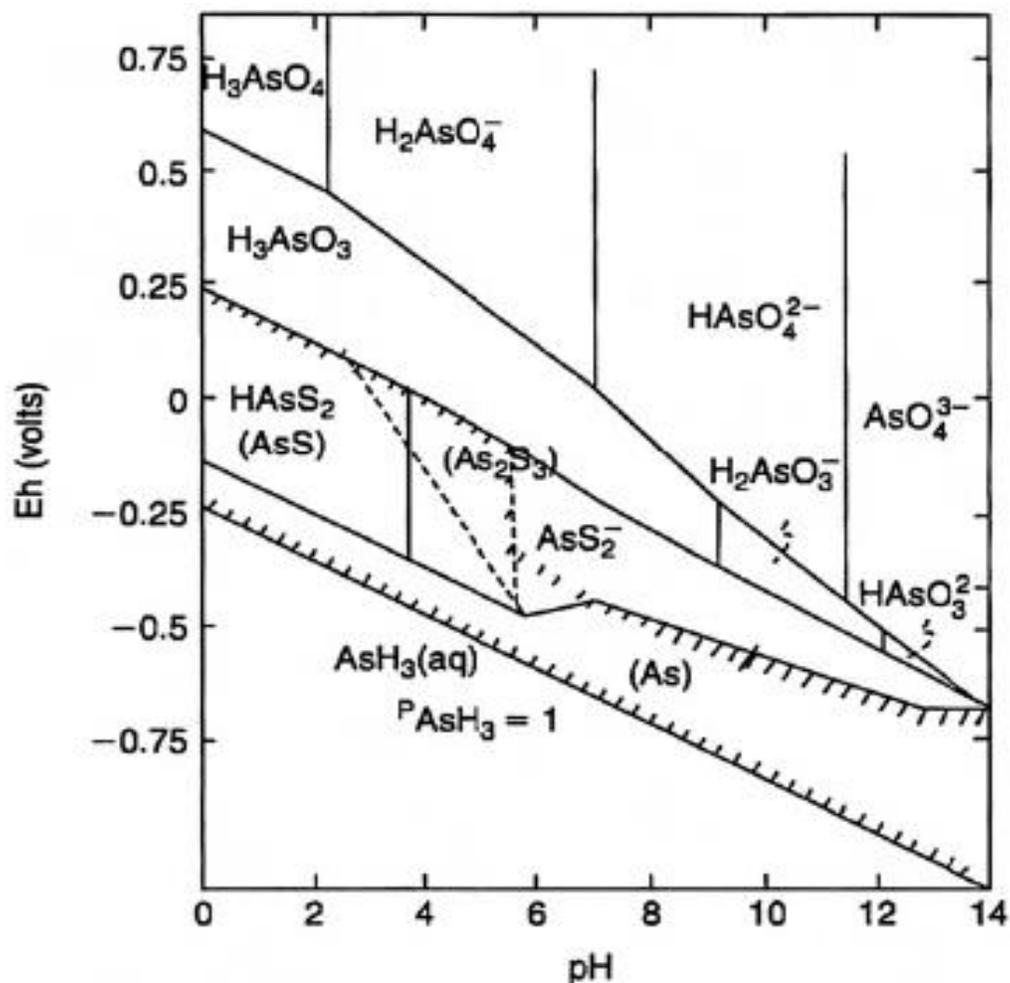


Figura 3. Diagrama de especiación del As (a una $T=25\text{ }^\circ\text{C}$ y 1 atm con una concentración total de As de $10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$ y azufre total de $10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$) (Eh vs pH) (Tomado de Virender et al., 2009).

Además de la arsina, existen compuestos orgánicos que contienen As, en la Tabla 2 se muestran algunos de estos compuestos.

Tabla 2. Compuestos orgánicos del Arsénico. Elaborada a partir de Virender et al. (2009)

Nombre	Formula o estructura
Metilarsina	CH_3AsH_2
Dimetilarsina	$(\text{CH}_3)_2\text{AsH}$
Trimetilarsina	$(\text{CH}_3)_3\text{As}$
Ácido monometilarsónico(MMA ^V)	$\text{CH}_3\text{AsO}(\text{OH})_2$
Ácido monometilarsénioso(MMA ^{III})	$\text{CH}_3\text{As}(\text{OH})_2$
Ácido dimetilarsénico(MMA ^V)	$(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$
Ácido dimetilarsenioso(DMA ^V)	$(\text{CH}_3)_2\text{AsOH}$
Oxidotrimetilarsinico(DMA ^{III})	$(\text{CH}_3)_2\text{AsO}$
Ión tetrametilarsonio (TMAO)	$(\text{CH}_3)_2\text{As}^+$
Arsenobetaina(TMA ⁺)	$(\text{CH}_3)_2\text{As}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$
Arsenocolina (AB)	$(\text{CH}_3)_2\text{As}^+\text{CH}_2\text{COOH}$

3.4.2. Distribución en el medio ambiente

El arsénico se encuentra presente en la atmósfera, suelo, rocas, cuerpos de agua, minerales y organismos, en formas inorgánicas y orgánicas. Su potencial de afectación a los seres vivos proviene de su fácil movilización bajo condiciones naturales, por lo tanto, la comprensión del comportamiento geoquímico del arsénico para comprender su transporte y destino final es importante para el desarrollo de estrategias de remediación (Range et al., 2015).

Suelo

El arsénico está presente en la mayoría de los suelos, y su contenido lo determina la historia geológica de cada suelo. En los suelos vírgenes la concentración de arsénico varía desde 0.1 a 40.0 ppm, teniendo un promedio de 5.0 a 6.0 ppm, aproximadamente. Los suelos que recubren los depósitos de sulfuro suelen contener arsénico en varios cientos de partes por millón; el máximo reportado es de 8,000 ppm (National Research Council, 1977).

El arsénico puede estar presente en minerales de sulfuro no degradados o en un estado aniónico inorgánico en el suelo. El sulfuro más común es la arsenopirita [FeAsS], mientras que las diferentes especies aniónicas acuosas pueden unirse a oxihidroxidos de hierro y aluminio (adsorción). Además, el arsénico también se

puede unir a la materia orgánica en los suelos, liberándose al medio acuoso cuando la materia orgánica se oxida, por lo que se puede absorber por las plantas. En zonas agrícolas esto resulta en la ingesta de cultivos contaminados y por tanto afecta la salud de humanos o animales. Por otro lado, la fijación de arsénico por ciertas plantas se puede utilizar a propósito para removerlo del medio acuoso (fitorremediación) (National Research Council, 1977).

En ambientes aeróbicos, los arseniatos son las especies estables y se encuentran fuertemente adsorbidos en (hidr-)óxidos de hierro y aluminio, principalmente. En suelos contaminados simultáneamente por hierro, pueden precipitar como arseniatos de hierro, aunque bajo condiciones reductoras, lo hacen como arsenitos. Por lo tanto, las especies predominantes de arsénico en suelos son As(III) y As(V), donde el estado de oxidación del arsénico dependerá del potencial redox y del pH.

Las especies orgánicas de arsénico también se pueden encontrar en suelos, no obstante, su concentración suele ser menor del 5 % del arsénico total, y se cree que su presencia puede deberse fuertemente al empleo de herbicidas que contengan sales sódicas de MMA y DMA, o al tratamiento y almacenamiento inadecuado de compuestos de arsénico empleados con fines militares. Las especies de MMA, DMA Y TMAO, presentes en los suelos aerobios, pueden sufrir procesos de reducción en condiciones anaerobias (bajo inundación, por ejemplo), dando lugar a metilarsinas que tienden a ser volátiles (García, 2013).

Agua

El arsénico está presente en el agua por la disolución natural de minerales de depósitos geológicos, la descarga de los efluentes industriales y la sedimentación atmosférica. La principal vía de dispersión del arsénico en el ambiente es el agua. Aún si se considera la sedimentación, la solubilidad de los arseniatos y arsenitos es suficiente para que este elemento se transporte en los sistemas acuáticos. La concentración del arsénico en aguas naturales es muy variable y dependerá de las formas de arsénico en el suelo local (Alarcón, 2014). De manera general, las

mayores concentraciones de arsénico se encuentran en aguas subterráneas, pues en suelos hay mayor influencia de las interacciones agua-suelo, por lo que en acuíferos hay mayor capacidad de movilización y acumulación del arsénico, debido a condiciones físicas y geoquímicas favorables (García, 2013).

Plantas

El arsénico es omnipresente en el reino vegetal, su concentración varía de menos de 0.01 a 5.00 mg/Kg_{seco}, aproximadamente. Este amplio intervalo se debe al tipo de planta y los factores ambientales y edáficos de la zona. Por ejemplo, las plantas que crecen en suelos contaminados con arsénico generalmente tienen concentraciones más altas que las plantas que crecen en suelos normales (National Research Council, 1977).

En el caso de las plantas marinas, particularmente las algas, se pueden tener contenidos extremadamente altos de arsénico. Por ejemplo, en 11 variedades de algas británicas examinadas, se registró un intervalo de 5.20 mg/Kg_{seco}, mientras que, en las algas verdes, la cantidad de arsénico varió inversamente con el contenido aparente de clorofila, desde 0.05 a 5.00 mg/Kg_{seco} (National Research Council, 1977).

Animales y Humanos

El arsénico está presente en muchos organismos vivos, los peces marinos pueden contener hasta 10.0 ppm, mientras que las coelenteratas, algunos moluscos y crustáceos pueden contener concentraciones más altas de arsénico. Los camarones pueden tener desde 3.8 a 128.0 ppm, en las langostas de 22.1 ppm, en ostras de 16.0 ppm y en almejas de 15.9 ppm, aproximadamente. Para los peces de agua dulce, el contenido puede ser de hasta 3.0 ppm, aunque la mayoría de los valores son inferiores a 1.0 ppm (National Research Council, 1977).

Los animales domésticos y el hombre, generalmente, contienen menos de 0.3 ppm en peso húmedo, y dicho contenido tiende a aumentar con la edad. Con la excepción del cabello, las uñas y los dientes, los análisis han revelado que la

mayoría de los tejidos corporales contienen menos de 0.3 ppm y que, en el cabello, la mediana del contenido de arsénico en 1,000 muestras fue de 0.51 ppm, teniendo concentraciones medias mayores en hombres que en mujeres (0.62 y 0.37 ppm, respectivamente). Esta capacidad del cabello para acumular este metal ha sido aprovechada para determinar el posible envenenamiento en personas, ya que valores de 2.0 a 3.0 ppm de As suelen ser indicativas de intoxicación (National Research Council, 1977).

Generalmente, la concentración media de arsénico inorgánico y sus metabolitos, MMA y DMA, en orina es inferior a $10.0 \mu\text{g L}^{-1}$. En sangre, para individuos no expuestos fuertemente, la concentración de arsénico reportada varía entre 0.3 y $2.0 \mu\text{g L}^{-1}$, mientras que en individuos expuestos (por beber agua contaminada, por ejemplo), los niveles de arsénico pueden alcanzar los 6.0 o $9.0 \mu\text{g L}^{-1}$. El DMA es la especie mayoritaria del As en sangre, con bajas concentraciones de arsénico inorgánico y MMA. Los niveles de arsénico tanto en orina como en sangre pueden aumentar significativamente después de la ingestión de pescados y mariscos contaminados con este elemento (bioacumulación) (García, 2013).

Aire

En áreas alejadas de la contaminación industrial, las concentraciones de arsénico en el aire generalmente son inferiores a $0.02 \mu\text{g}/\text{m}^3$, mientras que en áreas urbanas varían desde menos de 0.01 a $0.16 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Por ello, la Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA, por sus siglas en inglés) ha propuesto estándares de exposición al arsénico inorgánico, limitando la concentración promedio en el aire a $4.00 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de As durante un período de ocho horas y teniendo como límite máximo de exposición a $10.00 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en 15 minutos (National Research Council, 1977).

3.4.3. Toxicidad

El arsénico es tóxico tanto para plantas como para animales en mayor o menor grado, y se ha probado que en humanos los arsenicales inorgánicos (arsenitos, arseniatos, etc.) son carcinógenos. Los daños a la salud humana por este metaloide abarcan desde lesiones cutáneas hasta cáncer de cerebro, hígado, riñón y estómago. El envenenamiento por la presencia natural como compuestos del arsénico en el agua potable, sigue siendo un problema en muchas partes del mundo, y aunque algunas evidencias sugieren que pequeñas cantidades de As pueden ser esenciales para una buena salud, se ha demostrado que, a largo plazo, la exposición a este metaloide produce intoxicación crónica (arsenicosis). La mayoría de los casos de intoxicación aguda por As ocurren por ingestión accidental de insecticidas o pesticidas, aunque también existen los casos por intento de suicidio (Dipali et al., 2019).

Además, la toxicidad del As depende de la especie química, siendo las especies inorgánicas más tóxicas que las orgánicas. Y que dentro de las inorgánicas aquellas especies de As(III) son más tóxicas que las de As(V). La dosis letal media oral para el arsénico inorgánico oscila entre 11-150 mg Kg⁻¹ para As(III) y 15-293 mg Kg⁻¹ para As(V) de peso corporal en ratas de laboratorio (con 100 a 300 días de edad) (Virender, 2009).

Las principales fuentes de exposición son: el agua destinada al consumo humano, los cultivos regados con agua contaminada y los alimentos preparados con esta (OMS, 2020). Como vimos, los pescados, mariscos, carnes, aves de corral, productos lácteos y cereales también pueden ser fuentes alimentarias de arsénico, aunque la exposición a través de estos alimentos suele ser muy inferior a la exposición a través de aguas subterráneas contaminadas (OMS, 2020). Por tales motivos, es importante el monitoreo y control del contenido de arsénico en los diversos ambientes en los cuales puede estar presente. Buscando siempre alternativas menos dañinas para el medio ambiente y cuyos porcentajes de remoción del contaminante sean los más altos posibles.

3.4.4. Normatividad

Existe diferente normatividad respecto al contenido “permitido” de arsénico. Dichos contenidos varían según la fuente o matriz en la que este se encuentra presente, además del medio por el cual entra en contacto con el ser humano. A continuación, se mencionan algunas normativas que fueron emitidas por organismos nacionales e internacionales.

En agua potable, la OMS indica que el límite máximo permitido para el arsénico es de $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Aunque este valor de referencia se considera provisional, dadas las dificultades de medición y las dificultades prácticas relacionadas con la eliminación del arsénico en el agua. Además, debido a las circunstancias locales, los recursos disponibles y los riesgos asociados a fuentes con bajos niveles de arsénico contaminadas microbiológicamente, los estados pertenecientes a este organismo pueden modificar/adaptar el valor guía (OMS, 2020).

En México, la NOM-127-SSA1-1994 que dicta los límites permisibles que debe tener el agua para consumo humano, asegurando que no causará efectos nocivos a la salud, menciona que el límite máximo es $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de As total. Para esta NOM, el método de análisis establecido para el As es el que se reporta en la NOM-117-SSA1-1993 “Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, fierro zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por absorción atómica”, donde la espectroscopía mencionada utiliza un horno de grafito o un generador de hidruros y realiza una digestión con bastantes pasos por vía húmeda-seca. Este procedimiento de Espectroscopía de Absorción Atómica con Generación de Hidruros (EAA-GH) cuyo límite de cuantificación es de $0.10 \mu\text{g L}^{-1}$. Además, dentro de los métodos de prueba en el apéndice normativo A (NOM-127-SSA1-1994), también se menciona la determinación del As por un método espectrofotométrico (535 nm) a través de la reducción del arsénico a arsina y su posterior complejación, que presenta un intervalo de linealidad igual al de EAA-GH.

Por otra lado, la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio, especifica que si un suelo se presume como contaminado y tiene una superficie $\leq 1000 \text{ m}^2$, el responsable procederá a remediar el área, y asegurar que no existe riesgo de que se generen efectos adversos para la salud, a una concentración total de As de $22 \text{ mg Kg}^{-1}_{\text{seco}}$ en suelos agrícolas, residenciales y comerciales, y de $260 \text{ mg Kg}^{-1}_{\text{seco}}$ en suelos de uso industrial.

También se menciona que, para la determinación de la concentración objetivo para sitios sin población humana potencialmente expuesta, la concentración de referencia de contaminantes solubles es 0.500 mg L^{-1} para el arsénico. Aquí, la determinación del contenido de As puede ser analizada, por un lado, por EAA-GH teniendo un límite de detección estimado de $2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (donde se utiliza una digestión ácida asistida por microondas, un rango desde 190 a 800 nm y una curva de calibración desde 0 a $25 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$). Y, por otro lado, por la Espectroscopía de Emisión Atómica por Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-OES), teniendo un límite de detección estimado de $53 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ a una longitud de onda de 193.696 nm y utilizando una digestión dependiente del estado de conservación de la muestra.

3.4.5. Técnicas instrumentales habituales para la cuantificación de As

Como ya vimos, la necesidad del análisis y especiación de arsénico es crucial para conocer de manera certera los niveles de arsénico que pueden afectar aguas, suelos y sedimentos, así como las cantidades presentes en alimentos a ser ingeridos en organismos vegetales y animales, especialmente en seres humanos (Litter et al., 2009). En la Tabla 3 se describen, de manera breve, una serie de técnicas que pueden ser utilizadas para la cuantificación del As, algunas de las cuales ya se han mencionado en la sección anterior. Se hace mención nuevamente de las técnicas descritas por la normativa para facilitar la comparación entre ellas a través de sus ventajas y desventajas.

Tabla 3. Técnicas utilizadas en la cuantificación de arsénico. Elaborada a partir de Litter et al. (2009).

Técnica instrumental	Ventajas	Desventajas
Espectroscopía UV-Vis "Basada en reacciones colorimétricas selectivas a As(III) y As(V)"	Metodología simple Económica	Moderada repetibilidad y reproducibilidad Elevado tratamiento de muestra para eliminar interferencias
Espectroscopía de Absorción atómica con Generación de Hidruros (EAA-GH)	Alto poder de detección para arsénico total, orgánico e inorgánico.	Requiere previa separación de la muestra (orgánico e inorgánico). Instrumentación costosa.
Espectroscopía de Absorción Atómica con Horno de Grafito. (EAA-HG)	Similar a la anterior, pero con límites de detección menores.	Requiere de analistas altamente entrenados. Instrumentación costosa.
Espectroscopía de Emisión Atómica por Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-OES, por sus siglas en inglés)	Bajos límites de detección Amplio rango lineal	Instrumentación y consumibles costosa. Requiere analistas capacitados.
Espectrometría de Masas con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-MS, por sus siglas en inglés)	Límites de detección y cuantificación bajos. Técnica muy robusta y sensible.	Requiere de equipamientos y consumibles muy costosos, instalaciones especiales y largas y complejas capacitaciones para los analistas.
Espectroscopía de Fluorescencia Atómica con Generación de Hidruros (EFA-GH)	Similar a la técnica de EAA-GH pero con mejores límites de detección	Necesita altos volúmenes de muestra por cada ensayo.
Técnicas electroquímicas	Usan equipamiento económico y de fácil utilización. Alta sensibilidad	Límites moderadamente efectivos Técnicas generalmente mono elementales y, en ocasiones, análisis de larga duración.
Espectrometría de fluorescencia de Rayos X (ERX)	Método rápido y sencillo que requiere un uso mínimo de ordenadores. No genera desechos Registro de datos in situ de las muestras.	Se aplica solo a muestras solidas en polvos finos Posibles exposiciones a radiación Intervalo de trabajo elevados Límites altos

El acoplamiento de técnicas permite determinar especies arsenicales tanto orgánicas como inorgánicas, haciendo posibles los estudios de especiación. Cuando la técnica no lo permite, el tratamiento de muestra surge como una herramienta útil que facilita esta actividad, obteniendo muchas veces resultados confiables.

Para el análisis de arseniatos, debido a las desventajas mencionadas y a la cuantificación de otras formas químicas no deseadas del arsénico, muchas de estas técnicas instrumentales no son la opción adecuada, por lo que la Cromatografía Iónica surge como una excelente opción ya que permite agilizar y economizar el análisis, además de no utilizar consumibles altamente dañinos para el medio ambiente.

3.5. Cromatografía

3.5.1. Generalidades

La cromatografía según la IUPAC es un método físico de separación mediante el cual los componentes se distribuyen entre dos fases, una de las cuales es fija (fase estacionaria, FE) y la otra se mueve en una dirección definida (fase móvil, FM). La cromatografía es un potente método de separación que tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia, la técnica fue inventada y denominada así por el botánico ruso Mikhail Tswett a principios del siglo XX. La cromatografía agrupa un conjunto importante y diverso de métodos que facilitan la separación, identificación y determinación de componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas; donde muchas de dichas separaciones son imposibles por otros medios (Skoog et al., 2008).

En general, los componentes más afines a la fase estacionaria avanzan lentamente (más retenidos) mientras que los más afines a la fase móvil (menos retenidos) se mueven con mayor rapidez. Por consecuencia, el medio cromatográfico (columna, placa o papel) funciona como un controlador de la velocidad de cada sustancia que constituye la mezcla, logrando así su separación y mediante el uso de un detector, su caracterización química (Skoog et al., 2008). Aunque el principio fundamental es el mismo, la clasificación de los diferentes métodos cromatográficos se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Clasificación de los métodos cromatográficos. Elaborada a partir de Skoog et al. (2008).

Clasificación general	Método específico	Fase estacionaria	Tipo de equilibrio
1.-Cromatografía de gases (CG)	a) Cromatografía de gas-líquido (CGL). b) Gas-Sólido.	Líquido adsorbido o unido a una superficie sólida. Sólido.	Distribución entre un gas y un líquido. Adsorción.
2.- Cromatografía de líquidos (CL)	a) Líquido-líquido o reparto b) Líquido-sólido o adsorción. c) Intercambio de iones d) Exclusión por tamaño e) Afinidad	Líquido adsorbido o unido a una superficie sólida. Sólido. Resina de intercambio iónico. Líquido en los intersticios de un sólido polimérico. Grupo de líquidos específicos unidos a una superficie sólida.	Distribución entre líquidos inmiscibles. Adsorción. Intercambio iónico-adsorción Distribución-exclusión. Distribución entre el líquido de la superficie y el líquido móvil.
3.- Cromatografía de fluidos supercríticos (CFS, fase móvil: fluido supercrítico)		Especies orgánicas enlazadas a una superficie sólida.	Distribución entre el fluido supercrítico y la superficie enlazada.

3.5.1.1. Cromatografía de gases

En este caso la fase móvil es un gas inerte (He, N₂ o H₂, principalmente) y la fase estacionaria es un sólido (*cromatografía gas-sólido*) o un líquido “sostenido” por un sólido inerte (*cromatografía gas-líquido*). Este tipo de cromatografía siempre es en columna, ya que es la única manera en que la fase móvil gaseosa se mantenga fluyendo en el sistema. La columna puede estar rellena con la fase estacionaria, en forma semejante a la cromatografía líquida, o bien, la fase estacionaria puede depositarse sobre las paredes de un tubo muy delgado (0.25 mm de diámetro) y de hasta 100 m de largo. Este tipo de columnas se conocen como columnas capilares y proporcionan la mayor capacidad de separación con respecto a las columnas empacadas, donde la longitud es menor (0.5 a 5 m) y el diámetro suele ser mayor (Técnicas Cromatográficas, 2007).

3.5.1.2. Cromatografía de líquidos.

La fase móvil es un disolvente o mezcla de disolventes y la fase estacionaria es un sólido que interactúa con las sustancias que se desea separar (*cromatografía líquido-sólido*), o bien un líquido inmisible con la fase móvil, depositado en la superficie de un sólido (*cromatografía líquido-líquido*). Esta forma de cromatografía puede realizarse con diferentes arreglos experimentales: en columna, en capa delgada o en papel. En el primer caso, la fase estacionaria se encuentra relleno un tubo; en el segundo, se dispersa sobre una lámina de vidrio o aluminio formando un lecho de espesor uniforme; y en la cromatografía en papel, la fase estacionaria es la solución acuosa contenida en el interior de las celdas formadas por las fibras de la celulosa (Técnicas cromatográficas, 2007).

3.5.2. Parámetros cromatográficos

Un parámetro es una cantidad que puede tener distintos valores y que caracteriza a un proceso, una operación o un resultado. La parametrización de datos en cromatografía, como en otros métodos, facilita la tabulación y la comunicación de dichos datos. Se puede parametrizar la forma, la posición y la resolución de las bandas en un cromatograma (representación gráfica de la respuesta registrada en unidades arbitrarias con respecto al tiempo). Además, estos pueden correlacionarse satisfactoriamente con descripciones de los procesos moleculares que tienen lugar durante la separación.

Los parámetros cromatográficos son claves para el diseño de un análisis, pues son herramientas que ayudan a evaluar las condiciones en las que se está llevando a cabo. Y con ellas, determinar si el análisis es aceptado o requiere modificaciones que permitan mejorar su desempeño (optimización) (Técnicas cromatográficas, 2007). En la Tabla 5 se muestran los parámetros cromatográficos de mayor interés.

Tabla 5. Parámetros cromatográficos.

Parámetro	Símbolo	Parámetro	Ecuación
Tiempo muerto	t_0	Factor de capacidad	$k' = \frac{t_r'}{t_0}$... (Ecuación 2)
Tiempo de retención	t_r	Factor de selectividad	$\alpha = \frac{k_2'}{k_1'}$... (Ecuación 3)
Tiempo de retención corregido	t_r'	Número de platos teóricos	$N = 16 \left(\frac{t_r}{w} \right)^2$... (Ecuación 4)
			$N = 5.545 \left(\frac{t_r}{w_{1/2}} \right)^2$... (Ecuación 5)
Ancho del pico en la base	w	Altura equivalente a un plato teórico	$H = \frac{L}{N}$... (Ecuación 6)
Ancho del pico a la mitad de la base	$w_{1/2}$	Resolución	$R_s = \frac{2(t_{r2} - t_{r1})}{w_1 + w_2}$... (Ecuación 7)
Longitud de la columna	L		

*Los subíndices 0,1 y 2 en las ecuaciones hacen referencia al orden de elusión de los diferentes analitos en un análisis cromatográfico. Teniendo en cuenta que el 0 es el tiempo muerto (todo lo que no se retuvo) y que el analito 1 eluyó primero respecto al analito 2.

Generalmente en los métodos cuantitativos debemos esperar que nuestros parámetros adquieran ciertos valores para considerar que el método puede ser aplicable. Por ejemplo, la resolución depende proporcionalmente de la retención, selectividad y de la eficiencia, por lo que se recomienda utilizar $k' > 2$ y, generalmente, $\alpha > 1$. Una resolución de al menos 1.5 implica el mínimo valor deseable para tener una correcta separación de dos señales de tamaño similar respecto a la línea base (99.7 % de separación), lo que se traduce en una cuantificación confiable entre señales continuas. Además, la eficiencia de las columnas cromatográficas aumenta a medida que es mayor el número de platos N ($>1,000$ platos teóricos/m) y, en consecuencia, disminuye la altura equivalente a cada uno de ellos (Técnicas cromatográficas, 2007).

3.5.3. Cromatografía Iónica

Como vimos en la Tabla 4, otra forma de clasificar a la cromatografía es a través del mecanismo de retención del analito, los equilibrios utilizados son: de adsorción (normal y fase reversa), de partición líquido-líquido, permeación sobre gel, de afinidad y de intercambio iónico (Técnicas cromatográficas, 2007). Siendo este último mecanismo el tipo de cromatografía líquida de interés en esta investigación. La cromatografía iónica, o de intercambio iónico, está relacionada con los métodos modernos y eficaces para la separación y determinación de iones basados en el uso de resinas de intercambio iónico.

La cromatografía iónica empezó a desarrollarse a mediados de los años setenta, cuando se demostró que mediante las columnas para CLAR (Cromatografía Líquida de Alta Resolución) empacadas con resinas de intercambio catiónico o aniónico, podían analizar fácilmente mezclas de cationes o aniones (López, 2013).

3.5.3.1. Fundamento

La cromatografía de intercambio iónico se lleva a cabo en empaques de columna que tiene grupos funcionales cargados unidos a una matriz polimérica (resina) cuya carga es contraria a la de la fase móvil, por lo que ambas fases son iónicas. Los grupos funcionales son enlazados permanentemente y asociados a contraiones (López, 2013).

La naturaleza de los iones unidos a las resinas define el tipo de cromatografía iónica, por ejemplo, si se requiere analizar aniones, la naturaleza de los grupos funcionales unidos a la resina debe ser catiónica (columna aniónica), e inversamente, si se desea separar cationes. Las columnas catiónicas más comunes tienen grupos sulfónicos unidos a una matriz polimérica, aunque también existen las de grupos carboxílicos unidos a una matriz de gel sílice. Mientras que las columnas aniónicas más comunes tienen grupos amino cuaternario unidos a

una matriz de alcohol polivinílico, o a un copolímero de poliestireno/benceno divinílico, entre otras (Metrohm, 2021).

El mecanismo de retención más común es el intercambio simple de los iones de la muestra y de la fase móvil con el grupo cargado de la fase estacionaria, gracias a las fuerzas electrostáticas existentes. A continuación, se describe paso a paso dicho proceso para la cromatografía aniónica, ya que es la de interés.

Paso 1. Cuando una columna aniónica de grupos amonio cuaternario (Fase Estacionaria, FE) entra en contacto con solo la Fase Móvil (FM), cuya composición química es de bicarbonatos, estos son fijados gracias a las fuerzas electrostáticas en los sitios de intercambio (Ecuación 8)



Paso 2. Cuando la muestra que contiene al analito "A" entra en contacto con la FM (a través de la posición de inyección del loop que alimenta un volumen fijo de la muestra a la corriente de dicha fase móvil), y ésta es eluida hasta la FE, existe el intercambio simple expresado en la Ecuación 9. Aquí el analito será retenido con base a su carga y a la afinidad que tenga con ambas fases, principalmente.



Paso 3. Conforme avanza el analito gracias al flujo del eluyente y su capacidad de interaccionar con la FE, A⁻ vuelve a la FM (Ecuación 10), dejando los sitios de intercambio nuevamente con bicarbonatos (provenientes de la FM) listos para un nuevo análisis y permitiendo la identificación de A⁻ gracias a su tiempo de elución en el cromatograma.



3.5.3.2. Sistema cromatográfico

El sistema cromatográfico de intercambio iónico está compuesto por diferentes partes, la Figura 4 muestra, de manera general, cada una de ellas.

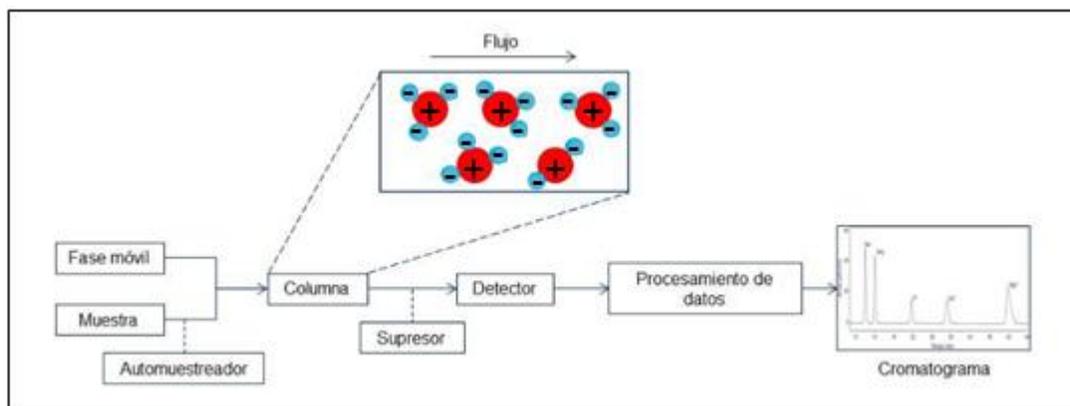


Figura 4. Esquema general de las partes de un Cromatógrafo Iónico (modificado a partir de Loredo, 2019)

Dónde las partes son:

Contenedores de la fase móvil (eluyente)

Son los encargados de almacenar la fase móvil, generalmente se usan reservorios de vidrio que sean inertes a la FM. Para cromatografía de intercambio catiónico, la composición de la FM puede ser a base de ácido dipicolínico o ácido oxálico con ácido nítrico. Mientras que, para la cromatografía de intercambio aniónico, su composición puede ser desde carbonatos y/o bicarbonatos.

La FM siempre debe ser desgasificada, ya que esto elimina CO_2 y O_2 disueltos que pudieran interferir en el correcto funcionamiento del sistema cromatográfico.

Inyector

Las válvulas de inyección introducen la muestra al sistema cromatográfico. Muchos equipos hacen uso de un loop, que es un parte del equipo que tiene un

diámetro interno pequeño y cuyo volumen es fijo (posición de carga), lo que le concede la cualidad de alimentar siempre el mismo volumen de muestra en la corriente de la FM que irá a la columna (posición de inyección), perturbando lo menos posible el proceso de circulación ya establecido por la FM en el sistema cromatográfico.

El uso de automuestreadores trae consigo la optimización del análisis con respecto a la inyección manual, ya que disminuye los tiempos de inyección, favorece la repetibilidad en los análisis y aumenta el coeficiente de correlación (que se ve reflejado en la linealidad del método). Su funcionamiento es a través de un sistema de bombas que toman la muestra y la introducen al loop.

Bombas peristálticas y de alta presión

Los equipos cromatográficos cuentan con diferentes sistemas de bombeo, su composición estructural es de rodillos, soportes, resortes y pernos, los cuales se encargan de impulsar a la FM para que recorra todo el sistema cromatográfico. Incluido el proceso de “forcé” que ocurre en la columna, ya que, debido a su tamaño, existe una sobrepresión en el sistema. Dicha sobrepresión depende del caudal, el tamaño de las partículas de la FE y la viscosidad, y puede generar daños irreparables a la columna. Las bombas suelen ser peristálticas (cuando el flujo deseado no es tan elevado) y de alta presión, cuyo objetivo es mantener el caudal estable (sin pulsaciones).

De manera general, existen dos formas de elución, la isocrática y con gradiente de concentración, el equipo de cromatografía iónica suele utilizar la elución isocrática, donde no se modifica la composición de la fase móvil, lo que facilita el sistema de bombas que utiliza.

Columna

La columna es un tubo recto de diferentes longitudes (van desde 3.0 hasta 25.0 cm) donde el diámetro interno depende del tamaño de partícula seleccionado con base en el sustrato (poliestireno, copolímeros, etc.), y cuya función es la de separar a los analitos. La mayoría de ellas trabaja bajo un intervalo de pH, el más común suele ser desde 3.0 hasta 12.0/13.0, aunque todo depende de la composición química de la fase estacionaria (FE), principalmente.

Las columnas suelen ser consideradas como el corazón del cromatógrafo, por lo que es muy importante protegerlas y optimizar su uso, por ejemplo, recordando siempre filtrar sus muestras ($0.45\ \mu\text{m}$ o menos). Generalmente, antes de que la muestra pase por la columna, muchos sistemas cromatográficos incluyen una pre-columna, cuya composición química es igual a la de la columna, aunque con un tamaño de partícula mayor. Su objetivo es retener cualquier contaminante por si no se llegó a filtrar correctamente la muestra, o si alguno de ellos provenía de la fase móvil. Cuando una pre-columna ya no funciona, la presión del sistema aumenta, indicando la necesidad de su cambio. En la Figura 5 se muestra la imagen de una columna de cromatografía iónica.



Figura 5. Columna de cromatografía iónica marca Metrohm.

Supresor (conductividad)

Tiene la función de disminuir los efectos de conductividad que ocasiona la FM de elección. Está compuesta por resinas de intercambio iónico que tienen en la

superficie contraiones que retienen a los iones de interés durante el análisis (supresión química). Un supresor químico tiene, generalmente, un total de 3 unidades de supresión (cartuchos) que están conectados a un rotor, formando un sistema que se le conoce como “Módulo de Supresor”. El rotor permite que los cartuchos giren y pasen de una a otra posición llevando a cabo diferentes actividades. La primera posición es la de “trabajo” y es en esta por donde pasa la FM con o sin la muestra una vez que sale de la columna, la segunda posición es la de “regeneración” y consiste en hacer pasar una disolución de concentración conocida de un ácido fuerte (ácido sulfúrico, por ejemplo) para volver a protonar los sitios de intercambio. Por último, la tercera posición es la de “lavado”, y es aquí donde se elimina todo aquello que no fue retenido posterior a la regeneración, permitiendo tener nuevamente listo al cartucho al momento de rotarlo a la posición de “trabajo” (Metrohm, 2021).

Siguiendo con el ejemplo de una FM de bicarbonatos donde el contraión de este, generalmente es el ion sodio, la reacción que ocurre en la unidad de supresión es la siguiente:



La Resina de Intercambio Iónico (RIO) presente en la unidad de supresión se encuentra inicialmente protonada (reactivos, Ecuación 11) debido a la regeneración previamente realizada con un ácido fuerte (H₂SO₄, por ejemplo). Cuando la FM fluye a través de la cámara de supresión (posición de trabajo) los H⁺ en la RIO son intercambiados por los Na⁺ que se encuentran en la FM (Ecuación 11), liberando los H⁺ que, posteriormente, reaccionarán con los bicarbonatos provenientes también de la FM para formar H₂CO₃. Al ser esta una especie neutra, la conductividad de fondo (la perteneciente a la FM) disminuye, logrando disminuir la relación señal-ruido y aumentando la sensibilidad del sistema de medición (Metrohm, 2021).

Detector

Su objetivo es generar una señal con base en una propiedad de los analitos, es por ello que existen diferentes tipos de detectores. Para seleccionar un tipo de detector se debe tener en cuenta las propiedades del analito (si es iónico, si absorbe luz, si genera fluorescencia, etc.), la sensibilidad del equipo, el ruido de fondo que genera, el que mantenga una respuesta estable en el tiempo, los alcances del método, la relación costo-beneficio, etc. Existen dos tipos de detectores ampliamente utilizados en la cromatografía de intercambio iónico; el conductimétrico y el amperométrico.

El detector conductimétrico (Figura 6) mide continuamente la conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$) del líquido que pasa a través de él y la registra en función del tiempo (cromatograma). El detector de conductividad posee una extraordinaria estabilidad térmica y garantiza condiciones de medida reproducibles. Además, es utilizado para detectar un amplio rango de analitos que van desde cationes y aniones orgánicos e inorgánicos (Metrohm, 2021).



Figura 6 . Detector de conductividad marca Metrohm.

En el detector amperométrico (Figura 7) se pueden determinar las sustancias electroactivas (ya sea por oxidación o reducción) en la FM. Para la determinación se utilizan métodos amperométricos que combinan una excelente sensibilidad con un alto grado de selectividad. El potencióstato integrado genera las tensiones para la amperometría de corriente continua (CC), la amperometría de pulsos (PAD) y la

amperometría de pulsos flexible integrada, así como para el registro de ciclo voltamperogramas (Metrohm, 2021).



Figura 7. Detector amperométrico marca Metrohm.

Procesador de datos

Generalmente son programas computacionales (softwares) que se encargan de modificar la señal del detector a una señal digital, integrar y generar los cromatogramas.

3.6. Método Analítico

3.6.1. Generalidades

La ciencia se guía por una serie de pasos ordenados (método) con el fin de construir conocimiento. La Química Analítica se apoya de métodos analíticos para conocer especies químicas presentes en la naturaleza, ya sea de forma compuesta o elemental.

Un método analítico es aquel que sigue una serie de pasos de forma ordenada y concisa para la identificación de los componentes de dichas sustancias de interés, por forma clásica (gravimetrías y volumetrías) o de forma instrumental (cromatografías, espectroscopias, técnicas electroquímicas, etc.).

La elección de la metodología analítica se basa en muchas consideraciones, tales como: propiedades químicas del analito, matriz de la muestra, la velocidad y el costo del análisis, el tipo de mediciones (cuantitativo o cualitativo), y el número de

muestras. Un método cualitativo proporciona información de la identidad química de la especie en la muestra, mientras que un método cuantitativo proporciona información numérica sobre las cantidades relativas de uno o más de los analitos en la muestra.

Los pasos para el desarrollo y la validación de un método dependen de sus características. Sin embargo, los siguientes pasos son comunes para la mayoría de los métodos (Toomula *et al.*, 2011):

- Definición del plan de desarrollo del método
- Recolección de información
- Desarrollo del método de laboratorio (preparación de muestras, selección del método de análisis, etc.)
- Generación del procedimiento de prueba.
- Validación del método

3.6.2. Desarrollo del método analítico

La búsqueda de métodos de análisis más rápidos, selectivos y sensibles son algunos de los objetivos esenciales perseguidos por los químicos analíticos. La ISO/IEC17025 (2017) recomienda usar los métodos publicados en normas internacionales, regionales o nacionales o por organizaciones técnicas reconocidas, revistas científicas o como lo especifique el fabricante. Lamentablemente no siempre se cuenta con las condiciones para hacerlo, por lo que el desarrollo de nuevos métodos surge como una opción viable. El desarrollo de un método analítico es el proceso de seleccionar un procedimiento de ensayo preciso para determinar la variable deseada (Chauhan *et al.*, 2015). En el desarrollo de un nuevo procedimiento analítico, la elección de la instrumentación analítica y la metodología debe basarse en el propósito y el alcance del método

analítico y debe ser evaluado conforme a criterios de aceptación establecidos (Chauhan *et al.*, 2015).

Una de las principales características para la elección de un método analítico es el conocer las propiedades del analito de interés (si es soluble, si es volátil, si conduce la electricidad, si absorbe en el visible u otro intervalo, si se oxida o se reduce, si es fluorescente, etc.). Además, es importante conocer si la fuente del analito previamente requiere de un tratamiento (separación, extracción, descomposición, entre otras). También es importante tener en cuenta el costo del análisis, los insumos necesarios, la disponibilidad de los instrumentos y espacios, así como de las necesidades del analista y/o cliente. Por lo tanto, la elección del método es de suma relevancia, y tiene un sinnúmero de necesidades a cubrir (Arrieta *et al.*, 2017).

Una vez seleccionado el método analítico, se debe verificar que se cuenta con:

- Instrumentos calificados y calibrados
- Estándares de referencia confiables
- Analistas calificados
- Condiciones adecuadas para realizar el método (temperatura controlada, presencia de extractores, material volumétrico u otro indispensable, balanzas analíticas, etc.)
- Equipo de seguridad adecuado

Durante las primeras etapas del desarrollo del método la solidez de este debe ser evaluada, ya que ésta ayudará a definir si es o no útil, permitiendo que continúe el desarrollo (hasta optimizar el método) o que sea necesario buscar alguno otro (Chauhan *et al.*, 2015).

3.6.3. Herramientas estadísticas de apoyo

La ISO/IEC17025 (2017) en su punto 7.2.1.1 “Selección y verificación de métodos” dice que en el laboratorio se deben usar métodos y procedimientos apropiados para todas las actividades y, cuando sea necesario, para la evaluación de la incertidumbre. Así como las técnicas estadísticas para el análisis de datos. Por lo tanto, las herramientas estadísticas son importantes al momento de desarrollar (y validar) un método, ya que nos permiten expresar resultados numéricos que puedan ser interpretados y, con base en ello, tomar decisiones objetivas.

La estadística descriptiva es la encargada de recolectar, analizar y caracterizar un conjunto de datos. Los parámetros estadísticos más utilizados son media aritmética (\bar{x}), varianza (S_0^2), desviación estándar (S_0) y coeficiente de variación (CV) (Tabla 6).

Tabla 6. Parámetros estadísticos.

Nombre	Ecuación
Media aritmética	$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \dots \text{(Ecuación 12)}$
Varianza	$S_0^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n} \dots \text{(Ecuación 13)}$
Desviación estándar	$S_0 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}} \dots \text{(Ecuación 14)}$
Coeficiente de Variación	$C.V. = \frac{S_0}{\bar{x}} * 100 \dots \text{(Ecuación 15)}$

3.6.4. Validación de un método analítico

Generalmente se considera que la validación del método está ligada estrechamente con su desarrollo, por lo que se dice que un método bien desarrollado debe llevar a una validación fácil. La validación de un método es el proceso de definir una necesidad analítica y confirmar que el método en cuestión tiene capacidades de desempeño consistentes con las que requiere la aplicación (Eurachem, 2016). El concepto de validación suele utilizar la palabra confirmación para referirse al aporte de evidencias objetivas (datos de experimentos planeados), que serán evaluadas para que cumplan con los requisitos particulares (parámetros de validación) para un uso específico previsto.

Un método debe ser validado cuando (Eurachem, 2016):

- Se trata de un método nuevo.
- Es un método ya establecido y que es revisado para incorporar mejoras o extenderlo a un nuevo problema.
- Un método ya establecido que cambió con el tiempo.
- Un método establecido usado en un laboratorio diferente, con diferentes analistas o con diferente instrumentación.
- Para mejorar la equivalencia entre dos métodos.

El grado de validación deberá ser tan amplio como sea necesario para satisfacer las necesidades del tipo o campo de aplicación. La validación es siempre un equilibrio entre los costos, los riesgos y las posibilidades técnicas (ISO/IEC17025, 2017), por lo que una validación parcial suele ser utilizada en muchos casos. En la Tabla 7 se muestran los parámetros propuestos por el CENAM para la validación parcial y completa en un método.

Tabla 7. Parámetros de validación conforme al grado deseado (CENAM, 2004).

Validación parcial	Validación completa
Linealidad	Linealidad
Limites	Sensibilidad
Intervalo de trabajo	Selectividad
Reproducibilidad	Robustez
Repetibilidad	Limites
Veracidad	Intervalo de trabajo
Incertidumbre	Reproducibilidad
	Repetibilidad
	Veracidad
	Incertidumbre

3.6.4.1. Parámetros de validación o desempeño

3.6.4.1.1. Linealidad

La linealidad es la capacidad del método analítico para obtener resultados directamente proporcionales a la concentración o cantidad del analito en un rango definido. Se determina mediante el tratamiento matemático de los resultados obtenidos en el análisis del analito a diferentes cantidades o concentraciones. La selección del rango y del número de puntos experimentales está estrictamente relacionada con la aplicación del método (Castillo *et al.*, 1996).

En el eje de las "x" aparecerá la cantidad o la concentración del analito y en el eje "y" la respuesta analítica (absorbancia, área, cantidad de agente valorante gastado, etc.), donde la amplitud de la relación descrita por un modelo dependerá de la aplicabilidad (concentraciones deseadas, estudios de estabilidad, etc.). Los estimadores de regresión para un nivel de significación dado, en la mayoría de los trabajos químicos es el coeficiente de correlación (r) y determinación (r^2) (Castillo *et al.*, 1996). Donde el primero indica si el conjunto de datos se ajusta a los de una línea recta, y el segundo si el modelo lineal es adecuado para los datos. De acuerdo con el Miller y Miller (2002) la linealidad también puede ser determinado de manera visual, siempre y cuando se tenga un número elevado de datos.

3.6.4.1.2. Intervalo de trabajo

El intervalo de trabajo es el intervalo en el cual el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable (Eurachem, 2016) y suele ser definido con base en las necesidades de las muestras a analizar. Los estimadores de regresión usados son los mismos que en la linealidad.

3.6.4.1.3. Límite de Detección (LOD)

Una cualidad deseada de los métodos analíticos es la capacidad de detectar pequeñas cantidades de un analito. El límite de detección (LOD) es la concentración mínima de un analito en la matriz de una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo condiciones analíticas específicas (Eurachem, 2016).

Normalmente, para propósitos de validación es suficiente proporcionar un indicativo del nivel al cual la detección resulta problemática. Para este propósito la Ecuación 16 es adecuada. Cuando el trabajo es para soportar la conformidad con una norma o especificación, probablemente será necesaria una aproximación más exacta tal como la que describe la IUPAC (CENAM, 2008).

$$LOD = \bar{x} + 3 S_0 \dots \text{(Ecuación 16)}$$

Donde \bar{x} es la respuesta promedio del blanco y S_0 es la desviación estándar de las respuestas. Cuando el blanco no presenta señal del analito, se debe adicionar el analito al blanco (fortificación), de tal forma que se tenga una señal diferencial con respecto a la señal del ruido.

3.6.4.1.4. Límite de cuantificación (LOQ)

El límite de cuantificación (LOQ) es la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión de repetibilidad y veracidad (CENAM, 2008). Y suele ser definido como la Ecuación 17.

$$LOD = \bar{x} + 10 S_o \dots \text{(Ecuación 17)}$$

Un LOQ suele ser una característica de desempeño muy útil en los métodos, ya que a partir de él se suele indicar que existe linealidad. Tanto el LOD como el LOQ suelen ser encontrados bajo la misma serie de experimentos.

3.6.4.1.5. Sensibilidad

La sensibilidad con base en la IUPAC es el cambio en la respuesta de un instrumento de medición dividido por el correspondiente cambio en el estímulo (CENAM, 2008). La sensibilidad analítica relaciona la aleatoriedad de la respuesta con la aleatoriedad debida a la variación de la concentración y se considera que, a mayor pendiente (m), mayor sensibilidad ($m > 1$) y que mientras más pequeña sea la pendiente ($m < 1$) la sensibilidad será menor.

3.6.4.1.6. Selectividad

La selectividad es la habilidad de un método para determinar exacta y específicamente al analito de interés en la presencia de otros componentes en la matriz bajo condiciones establecidas de prueba (CENAM, 2008).

En la cromatografía este parámetro de validación suele ser evaluado a través del parámetro cromatográfico llamado Resolución (Ecuación 7). Aunque de manera general, se suele evaluar la identidad de un analito respecto a la presencia de otros.

3.6.4.1.7. Exactitud

El término exactitud se utilizó durante cierto tiempo para referirse únicamente a la componente ahora denominada veracidad, pero hoy en día también indica la dispersión total de un resultado. Por lo anterior, el término general de exactitud implica a la veracidad y a la precisión (Figura 8) (CENAM, 2008).

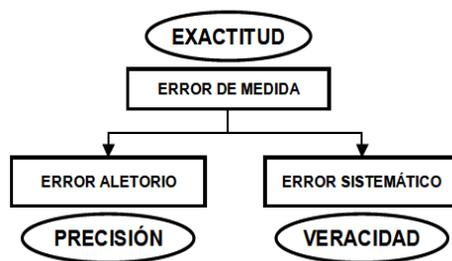


Figura 8. Relación de Exactitud con precisión y veracidad (Tomado de CENAM, 2008).

3.6.4.1.7.1. Veracidad

El término veracidad, en la NMX-CH-5725-1-IMNC-2006 se define como el grado de concordancia existente entre la media aritmética de un gran número de resultados y el valor de referencia. La veracidad se relaciona con la presencia de errores de tipo sistemático, también llamado “sesgo”, que puede expresarse como se muestra en la Ecuación 18 (CENAM, 2008).

$$s = \frac{|\bar{x} - x_{ref}|}{x_{ref}} \times 100 \% \quad \dots(\text{Ecuación 18})$$

Donde x_{ref} es el valor de referencia a considerar, que en mediciones químicas suele asociarse a una concentración que se obtiene de un material de referencia.

3.6.4.1.7.2. Precisión

La precisión es el grado de concordancia entre los valores de una serie repetida de ensayos, utilizando una muestra homogénea, bajo condiciones establecidas (CENAM, 2008).

Por lo general, se expresa mediante parámetros estadísticos que describen la propagación de los resultados, típicamente la desviación estándar (o desviación estándar relativa) calculada a partir de los resultados obtenidos mediante la realización de mediciones repetidas en un material adecuado en condiciones específicas (Eurachem, 2016). Usualmente la precisión de un método es evaluada a través de la repetibilidad, repetibilidad intermedia y la reproducibilidad.

3.6.4.1.7.2.1. Repetibilidad

La repetibilidad es aquella donde los resultados analíticos independientes se obtienen bajo las mismas condiciones experimentales a corto plazo (CENAM, 2008). Las condiciones de repetibilidad incluyen: el mismo procedimiento, analista/observador, ubicación, instrumento y condiciones de medición. Por mediciones sucesivas se entiende aquellas mediciones repetidas dentro de un corto período de tiempo (CENAM, 2008). Se utiliza como parámetro estadístico para conocer la repetibilidad el CV, que es descrito en la ecuación 17.

3.6.4.1.7.2.2. Repetibilidad intermedia

La precisión bajo repetibilidad intermedia ofrece una estimación de la variación en los resultados cuando las mediciones se realizan en un solo laboratorio, pero en condiciones que son más variables que las condiciones de repetibilidad. Las

condiciones exactas utilizadas deben establecerse en cada caso (Eurachem, 2016) y no deben variar completamente como lo hacen en la reproducibilidad. Al igual que la repetibilidad, la repetibilidad intermedia utiliza el CV del conjunto de datos como parámetro estadístico.

3.6.4.1.7.2.3. Reproducibilidad

Este tipo de precisión es aquella donde los resultados analíticos independientes se obtienen bajos las mismas condiciones experimentales a largo plazo o bajo modificaciones de las condiciones experimentales (material, laboratorio, analista, instrumento analítico) independientes del método (CENAM, 2008). Para este parámetro, el CV del conjunto de datos resulta también necesario como parámetro estadístico.

3.6.4.1.8. Robustez

La robustez de un procedimiento analítico es una medida de su capacidad para permanecer no afectado por pequeñas variaciones premeditadas de los parámetros del método. La robustez proporciona una indicación de la confiabilidad del método durante su uso normal. Gracias a esto es posible identificar las variables en el método que tienen un efecto significativo y garantizar que, cuando se utilice, estarán controladas estrictamente (Eurachem, 2016).

Para evaluar la robustez teniendo en cuenta el efecto de la concentración del analito se recomienda evaluar el porcentaje de recuperación (%R) (Ecuación 19).

$$\%R = \frac{C_F - C_U}{C_A} \times 100 \% \quad \dots \text{(Ecuación 19)}$$

Donde:

- C_F =Concentración del analito en la muestra sin fortificar
- C_U =Concentración del analito en la muestra fortificada
- C_A =Concentración del analito adicionada a la muestra.

4. Metodología

4.1. Reactivos, materiales y equipos

En la Tabla 8 y 9 se muestran los reactivos, equipos y materiales utilizados.

Tabla 8. Reactivos.

Nombre	Marca	Características generales
Estándar de arseniatos (Na ₂ HAsO ₄ ·7H ₂ O)	High Purity Standards (HPS)	Concentración=1000 mgL ⁻¹
Estándar de NO ₃ ⁻ (NaNO ₃)	High Purity Standards (HPS)	Concentración=1000 mg L ⁻¹
Nitrato de sodio (NaNO ₃)	Meyer	Pureza= 99.0%
Carbonato de sodio (Na ₂ CO ₃)	Sigma Aldrich	Pureza= 99.5%
Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃)	Sigma Aldrich	Pureza= 99.5%
Agua ultrapura	MilliQ	Resistividad= 18 MΩcm ⁻¹
Ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄)	Meyer	Pureza= 95-98%

Tabla 9. Equipos y materiales de mayor interés.

Nombre	Marca	Características generales
Balanza Analítica	OHAUS	Carga máxima= 110 g, resolución= 0.0001 g.
Balanza Analítica	OHAUS	Carga máxima= 3100 g, resolución =0.01 g.
Cromatógrafo Iónico con detector de conductividad	Metrohm	Modelo 883 Basic IC plus
Auto-muestreador	Metrohm	Modelo 863 Compact Autosampler
Columna Cromatográfica	Metrohm	Modelo Metrosep A Supp 5-150/4.0
Baño ultrasónico	Auto Science	Modelo AS Serial AS5150B
Refrigerador	Ojeda	Modelo RVP-500, T= -2 a 5 °C

4.2. Método

El material de vidrio y plástico manejado en esta tesis fue usado después de un lavado analítico utilizando jabón libre de fosfatos y un baño de HCl al 10% m/m. Para enjuagar el mismo se utilizó tres baños de agua destilada y finalmente tres con agua tipo MilliQ (ultrapura).

4.2.1. Desarrollo del método

4.2.2. Selección de la fase móvil y concentración del supresor

Tomando como punto de partida las concentraciones establecidas por el fabricante para los componentes (n) del eluyente estándar (experimento No. 1- Tabla 10) y el aumento de estos en un 100%, se realizó un diseño de experimentos tipo factorial “2ⁿ” con el objetivo de conocer la fase móvil y la concentración del supresor adecuada para eluir al analito de interés (Tabla 10).

Tabla 10. Planeación de experimentos utilizando un diseño tipo factorial.

# de experimento	Concentración de NaHCO ₃ en la fase móvil (mmol L ⁻¹)	Concentración de Na ₂ CO ₃ en la fase móvil (mmol L ⁻¹)	Concentración del supresor H ₂ SO ₄ (mmol L ⁻¹)
1	1.0	3.2	50
2	1.0	3.2	150
3	3.0	3.2	50
4	3.0	3.2	150
5	3.0	9.6	50
6	3.0	9.6	150
7	1.0	9.6	50
8	1.0	9.6	150

Para la preparación de las fases móviles a la concentración correspondiente según el número de experimento (Tabla 10), se pesó la cantidad necesaria de cada una de las sales (carbonatos y bicarbonatos) en una balanza analítica. Posteriormente, las masas fueron depositadas en un matraz volumétrico Clase A de 1.0 L y llevadas a la marca del aforo con agua tipo MilliQ. En el caso del ácido

sulfúrico (útil para el supresor), con la ayuda de una micropipeta se tomaron los volúmenes adecuados y se adicionaron en un vaso de precipitados que contenía una cama de agua, para subsecuentemente trasvasarlo cuantitativamente a un matraz volumétrico Clase A de 1.0 L donde fue aforado utilizando agua tipo MilliQ. Todas las fases móviles y disoluciones de ácido sulfúrico fueron sonicadas por 20 minutos previamente a su introducción al sistema, ya que la presencia de burbujas afecta a la medición. Para asegurar menor incertidumbre en las mediciones, todas las disoluciones (muestras) se prepararon por adiciones gravimétricas utilizando agua tipo MilliQ y en frascos y tubos de polipropileno.

Debido a la fácil hidratación de los reactivos utilizados para las soluciones madre, y para evitar una baja confiabilidad en la exactitud de las concentraciones obtenidas, se decidió conocer la concentración real de las soluciones utilizando los estándares apropiados por Cromatografía Iónica (CI).

A partir de las disoluciones madre se preparó por triplicado e independientemente los patrones de medida que serían introducidas al sistema, teniendo una concentración final (solo de los aniones) de 3.0 mg L⁻¹ de arseniatos y 20.0 mg L⁻¹ de nitrato (relación encontrada en las muestras reales provenientes de isothermas de adsorción después de diluir, el NaNO₃ es adicionado para imponer una fuerza iónica en los sistemas de adsorción estudiados en el LGAM). La secuencia de análisis introducida al programa del equipo de CI se muestra en la Tabla 11, donde el blanco corresponde a agua tipo MilliQ.

Tabla 11. Secuencia de mediciones en cada experimento.

# de lectura	Tipo de tubo
1	Blanco
2	Tubo 1
3	Blanco
4	Tubo 2
5	Blanco
6	Tubo 3
7	Blanco

Para evaluar el desempeño de cada experimento, se tomaron en cuenta los resultados obtenidos para los parámetros cromatográficos de mayor relevancia (α , N, H y R_s). Y con ello, se seleccionó la fase móvil y la concentración del supresor que sería utilizada para la validación del método bajo las condiciones de trabajo requeridas.

4.2.3. Preparación de la muestra

Las muestras provenientes de las isothermas de adsorción sobre goethita están compuestas por dos fases, una de ellas es la goethita en estado sólido en suspensión y la segunda es la fase acuosa. El tratamiento consiste en la filtración del sobrenadante utilizando un sistema como el que se muestra en la Figura 9.

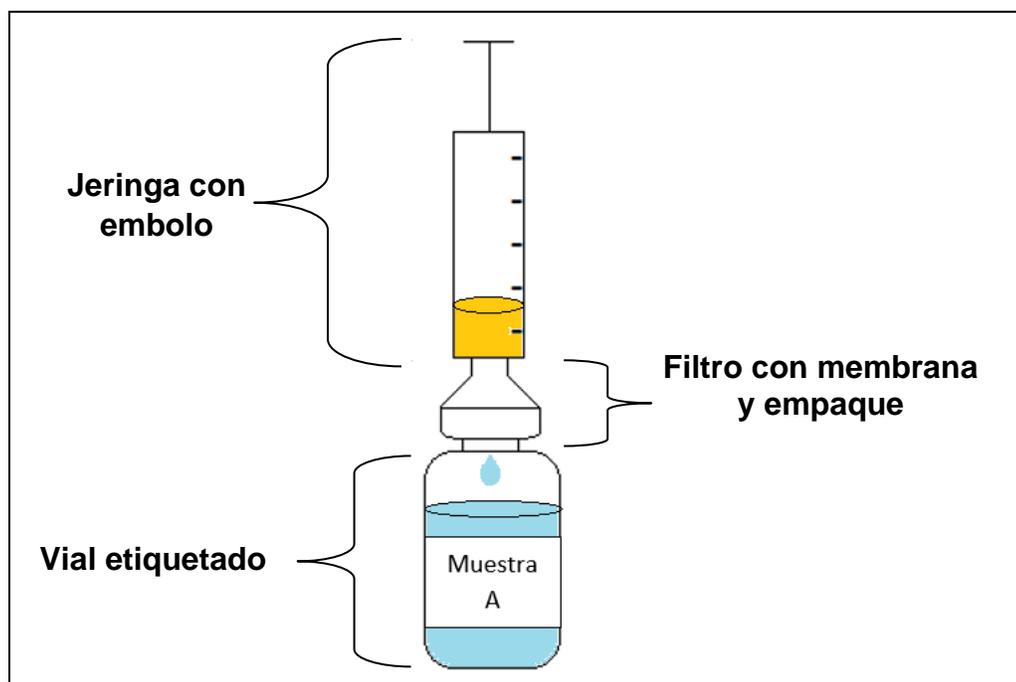


Figura 9. Sistema de filtración de muestras.

El sistema consta de una jeringa de 10 mL con su embolo conectada a un filtro swinnex-25 (Millipore), sellado previamente con una membrana de filtro de 0.05 μm VMWP (Millipore) y un empaque. El sistema se somete a presión manual de tal modo que la fase sólida queda retenida en el filtro y la fase acuosa pase a través de ella a un vial.

Para la conservación de las muestras después de su etiquetado, se cerraron, se les colocó Parafilm y se llevaron a refrigeración a 5 °C. Cuando se requirió analizar las muestras estas fueron atemperadas y, subsecuentemente, diluidas llevando 0.5 mL de muestra a un volumen total de 10.0 mL utilizando agua tipo MilliQ (adiciones gravimétricas).

4.2.4. Validación del método

4.2.4.1. Linealidad

Para conocer la linealidad se eligieron 9 niveles de concentración de arseniatos desde 0.5 mg L⁻¹ hasta 80.0 mgL⁻¹ de manera equidistante y por triplicado. Los resultados obtenidos se graficaron de forma individual (gráfico función respuesta) y para asegurar la calidad de las mediciones, entre cada análisis se leyó un blanco y cada muestra fue analizada por triplicado.

4.2.4.2. Intervalo de trabajo

Se determinó a través de las especificaciones requeridas para los experimentos de adsorción. Para evaluar el intervalo de trabajo se eligieron 9 niveles de concentración de arseniatos desde 0.5 mg L⁻¹ hasta 5.0 mg L⁻¹ de manera equidistante. Los resultados obtenidos se graficaron (gráfico función respuesta) y para asegurar la calidad de las mediciones, entre cada análisis se leyó un blanco y cada muestra fue analizada por triplicado.

4.2.4.3. Límite de detección (LOD)

Se realizaron 10 mediciones independientes de un blanco fortificado a la concentración mínima ($150 \mu\text{g L}^{-1}$) que presentó una señal representativa respecto a la señal-ruido. Entre cada blanco fortificado se leyó un blanco de muestra. Para determinar el límite de detección se utilizó la Ecuación 16.

4.2.4.4. Límite de cuantificación (LOQ)

Se realizaron 10 mediciones independientes de un blanco fortificado a la concentración mínima ($150 \mu\text{g L}^{-1}$) que presentó una señal representativa respecto a la señal-ruido. Entre cada blanco fortificado se leyó un blanco de muestra. Para determinar el límite de cuantificación se utilizó la Ecuación 17.

4.2.4.5. Sensibilidad

A partir de la regresión lineal de los datos obtenidos para la linealidad, se analizó la sensibilidad a través del valor numérico generado para la pendiente.

4.2.4.6. Selectividad

Se evaluó mediante el parámetro cromatográfico de resolución, en el cual se compararon los tiempos de retención y el ancho del pico a la base entre el analito de interés (arseniatos) y el presente en la matriz de la muestra debido a la imposición de la fuerza iónica (nitratos). Siendo el objetivo separar completamente los componentes en el menor tiempo posible. El procedimiento consistió en analizar por triplicado 5 muestras reales de isoterma de adsorción de arseniatos ($\text{pH}=7.0$ y una $I= 0.01 \text{ mol L}^{-1}$, características iniciales) utilizando un blanco entre cada lectura.

4.2.4.7. Exactitud

4.2.4.7.1. Veracidad

Se determinó a través del sesgo (Ecuación 18), para ello se realizaron 10 mediciones independientes, con una lectura de blanco entre cada análisis, a tres niveles de concentración (0.8, 1.5 y 3.0 mg L⁻¹) dentro del intervalo de trabajo. Donde la concentración de referencia es la esperada debido a las adiciones gravimétricas.

4.2.4.7.2. Precisión

4.2.4.7.2.1. Repetibilidad

Se realizaron 10 mediciones independientes con una lectura de blanco entre cada análisis a tres niveles de concentración (0.8, 1.5 y 3.0 mg L⁻¹) dentro del intervalo de trabajo. Estos experimentos fueron realizados en el mismo día, por el mismo analista y bajo las mismas condiciones de trabajo. Con los resultados obtenidos se determinó el coeficiente de variación (CV) haciendo uso de la Ecuación 15.

4.2.4.7.2.2. Repetibilidad intermedia

Se realizaron 10 mediciones independientes con una lectura de blanco entre cada análisis a tres niveles de concentración (0.8, 1.6 y 3.2 mgL⁻¹) dentro del intervalo de trabajo. Estos experimentos fueron realizados con mes y medio de diferencia, por diferente analista, con diferente estándar, con diferente fase móvil y disolución de supresor. Con los resultados obtenidos se determinó el coeficiente de variación (CV) haciendo uso de la Ecuación 15.

4.2.4.8 Robustez

La robustez del método fue evaluada de dos formas, realizando un diseño experimental (desarrollo del método) donde se tuvieron en cuenta tres variables de interés para la elución del analito (FM y supresor) y, a través del porcentaje de recuperación (% R) para conocer el efecto de la concentración de arseniatos. Para esto último, se adicionaron 3 niveles de concentración del anión (0.8, 1.6 y 3.2 mg L⁻¹, a partir del estándar) por separado a cinco disoluciones (0.5 mL de muestra llevada a 10.0 mL de disolución total, adiciones gravimétricas) hechas a partir de las muestras reales provenientes de isothermas de adsorción. Cada disolución ya fortificada fue analizada por triplicado utilizando un blanco entre cada lectura y el cálculo de %R se realizó utilizando la Ecuación 19.

5. Discusión de resultados

5.1 Desarrollo del método

5.1.1. Selección de la fase móvil y concentración del supresor

A partir de los experimentos de la Tabla 10, donde se trabajó con las tres variables de interés (concentración de carbonatos, bicarbonatos y ácido sulfúrico), se obtuvieron los parámetros cromatográficos α , N, H y R_s (Figuras 10-12) que sirvieron para seleccionar la fase móvil y la concentración del supresor adecuadas. En el caso del experimento 7 y 8, debido a que el analito de interés y el NO_3^- (único anión procedente de la matriz, por la imposición de la fuerza iónica) no presentan una resolución adecuada (>1.50), no fue posible determinar los demás parámetros cromatográficos, por lo que no se muestran sus resultados.

A partir de la Figura 10 los experimentos 5 y 6 presentan una selectividad menor a 1.00, indicando que el analito 2 (arseniatos) se retiene menos que el analito 1 (nitratos), permaneciendo mayor tiempo en la fase móvil que en la fase estacionaria (fenómeno no deseado). El experimento 2 presenta la mayor selectividad respecto a los experimentos restantes (Experimentos 1, 3 y 4, Figura 10), reteniendo 1.93 veces más a los arseniatos respecto a los nitratos.

Además, un aumento en las concentraciones de las sales presentes en la fase móvil influye negativamente en la selectividad (Experimentos 3, 4, 5 y 6 respecto a 1 y 2, Figura 10), siendo esto más notable al variar la concentración del carbonato de sodio respecto a la de bicarbonatos (Experimento 5 y 6 respecto a 3 y 4, Figura 10). Contrario a ello, se observa que una mayor concentración en el supresor favorece a la selectividad ($150 \text{ mmol L}^{-1} > 50 \text{ mmol L}^{-1}$), ya que los experimentos similares donde esta variable es la única diferencia así lo demuestran (Tabla 10, Figura 10).

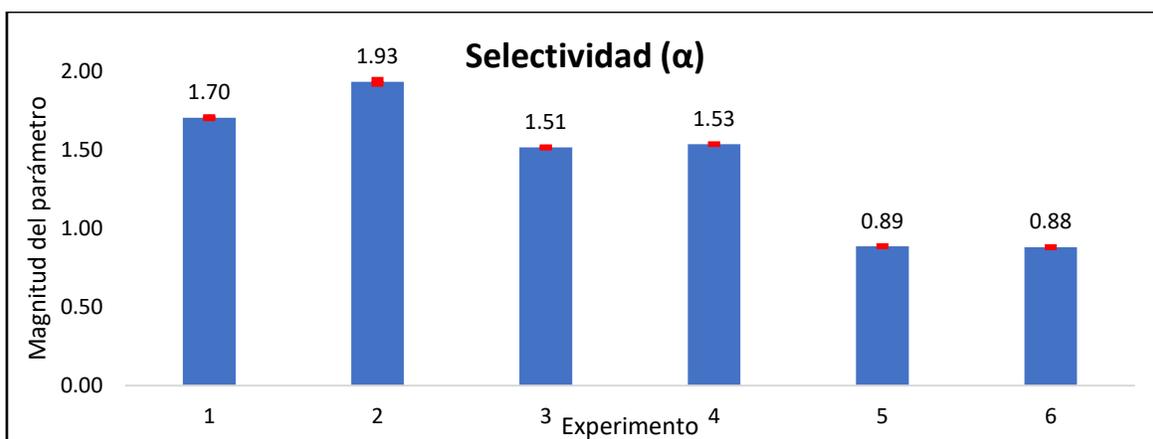


Figura 10. Gráfico de selectividad por experimento.

Las barras de error (CV) se indican en color rojo y el número superior a ellas es el valor promedio obtenido.

En la Figura 11 se muestran el número de platos teóricos obtenidos para los nitratos y los arseniatos en cada experimento, respectivamente. A pesar de tratarse de CI donde las señales/picos en muchos casos no son tan finas/ideales, los experimentos 1 y 3 presentan $N > 10,000$ para nitratos y arseniatos, siendo mayor el número para arseniatos respecto a nitratos, indicando que internamente existen más equilibrios durante su interacción con la FE para los arseniatos. A pesar de que los experimentos 5 y 6 presentan los valores menores para N en ambos analitos, sus valores son bastante mayores a 1,000, algo bueno para la CI donde es común observar cierta asimetría en las señales de analitos con relativamente elevadas masas molares.

Al comparar los experimentos 1 y 3 (donde es mayor la concentración de bicarbonatos en el segundo), se observa el mismo fenómeno que en los experimentos 2 y 4, donde N aumenta para los nitratos, pero disminuye para los arseniatos (Figura 11), por lo que se puede decir que no resulta favorable el aumento en la concentración de bicarbonatos en la fase móvil para este parámetro, y mucho menos el aumento de la concentración de carbonatos (experimento 5 y 6, Figura 11). Respecto a la concentración en el supresor, se observa que, de manera general, una concentración de 50 mmol L^{-1} permite tener un mayor número de equilibrios de los aniones en la FE (Figura 11).

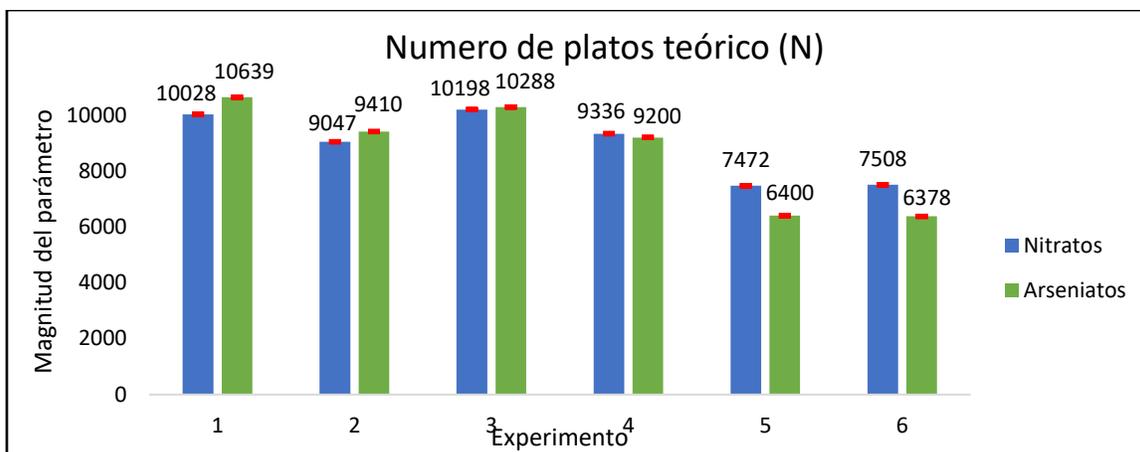


Figura 11. Gráfico de número de platos teóricos por experimento.

Las barras de error (CV) se indican en color rojo y el número superior a ellas es el valor promedio obtenido.

La eficiencia de la columna cromatográfica es evaluada a través de la altura equivalente de plato teórico (H), en la Figura 12 se presentan los resultados obtenidos para los nitratos y arseniatos en cada experimento, respectivamente. Tratándose de la misma columna (L= 150 mm), es de esperarse que las mejores eficiencias las obtengan los experimentos 1,2,3 y 4 (indicando que el equilibrio de los analitos entre fases se realiza en una fracción longitudinal menor), y que las peores eficiencias sean para 5 y 6 (Figura 12). En todos los experimentos se obtienen CV inferiores al 3.5% para ambos aniones, presentando las mayores diferencias para arseniatos en los experimentos 1 y 2.

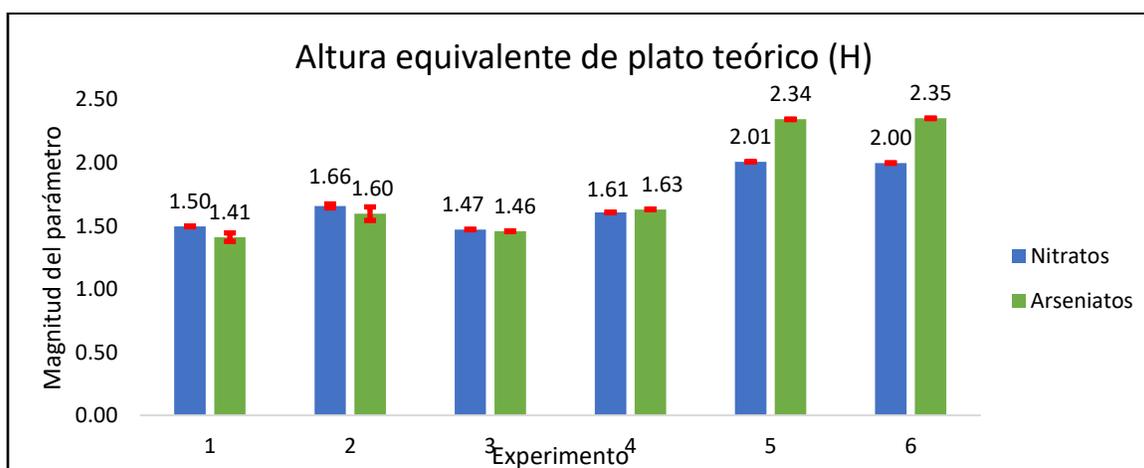


Figura 12. Gráfico de altura equivalente de platos teóricos por experimento.

Las barras de error (CV) se indican en color rojo y el número superior a ellas es el valor promedio obtenido.

La resolución (R_s) es una medida cuantitativa que indica el grado de separación entre 2 picos adyacentes, y los parámetros α y N (e indirectamente H) influyen en ella. Con base en la Figura 13, los experimentos 1 y 2 presentan la mayor resolución, mientras que los experimentos 5 y 6 tienen los menores valores de los seis experimentos (todos con un solapamiento de las señales menor al 0.3 %).

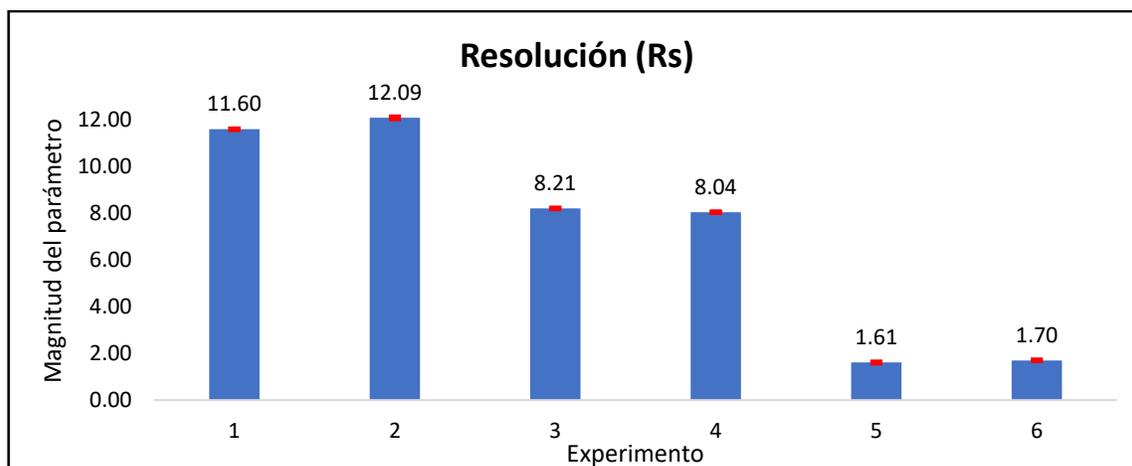


Figura 13. Gráfico de resolución por experimento.

Las barras de error (CV) se indican en color rojo y el número superior a ellas es el valor promedio obtenido.

La máxima eficiencia cromatográfica se logra con una interacción del analito con las fases donde se obtenga una mejor retención de este (α), un mayor número de equilibrios (N) y un menor número de dichos equilibrios respecto a una longitud (H), traduciéndose todo ello en una mayor separación (R_s). Por ello, considerando los valores obtenidos de estos parámetros en los experimentos, y conociendo la variabilidad que existe en las concentraciones de nitratos en los experimentos de adsorción (mayores si se desean mayores fuerzas iónicas), se eligió como la fase móvil adecuada a 1.0 mmol L^{-1} de NaHCO_3 + 3.2 mmol L^{-1} de Na_2CO_3 y una concentración en el supresor de H_2SO_4 igual a 150 mmol L^{-1} , ya que cumple con los objetivos dependientes del tipo de muestra generando una cuantificación confiable del analito de interés.

5.1.2. Flujo

Con base en las especificaciones de la columna (Metrosep A Supp 5 - 150/4.0), el flujo utilizado para el análisis fue el estándar (0.7 mL min^{-1}). Un aumento en el mismo haría llegar al flujo máximo permitido en la columna (0.8 mL min^{-1}), afectando su integridad, mientras que una disminución del flujo afectaría los tiempos de elución, aumentando el tiempo de análisis (modificación no deseada).

5.1.3. Condiciones seleccionadas para el análisis

La Tabla 12 muestra el resumen de las condiciones seleccionadas para el análisis de arseniatos en muestras acuosas que contienen nitratos.

Tabla 12. Condiciones de análisis de arseniatos.

Fase móvil	1.0 mmol L ⁻¹ de NaHCO ₃ + 3.2 mmol L ⁻¹ de Na ₂ CO ₃
Supresor	Tipo químico; 150 mmol L ⁻¹ de H ₂ SO ₄
Flujo	0.7 mL min ⁻¹
Modo	Isocrático
Columna	Metrosep A Supp 5 - 150/4.0
Detector	Conductimétrico (Modelo 850.901, Metrohm)
Cromatógrafo Iónico	Modelo 883 Basic IC plus, Metrohm (con automuestreador)

5.2. Validación del método

Para todos los parámetros analíticos a excepción de selectividad y robustez, se trabajó con disoluciones provenientes del estándar de arseniatos cuyo pH es cercano a la neutralidad.

Durante la determinación de todos los parámetros cromatográficos, el blanco alimentado entre cada análisis no presentó señales y obtuvo un cromatograma similar al de la Figura 14, donde se observa que el tiempo muerto es de 2.2 min, aproximadamente.

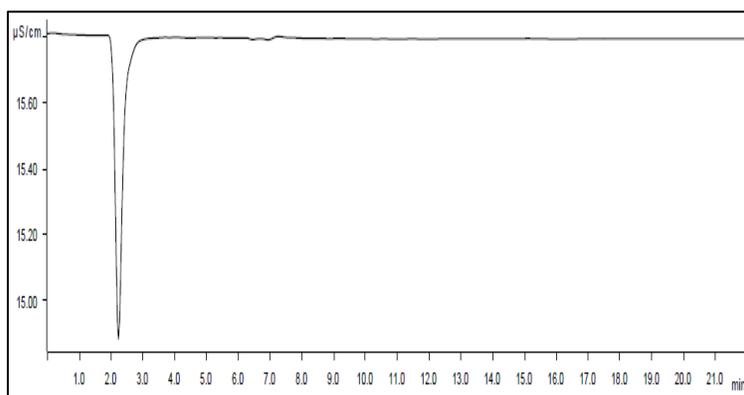


Figura 14. Cromatograma de un blanco analizado bajo las mismas condiciones que las muestras.

5.2.1. Linealidad

Para la linealidad se prepararon estándares de arseniatos a 9 niveles de concentración (0.5 mg L^{-1} – 80.0 mg L^{-1}) y se realizó un triplicado en las lecturas del análisis. En la Figura 15 se muestran los cromatogramas obtenidos al introducir estas nueve disoluciones.

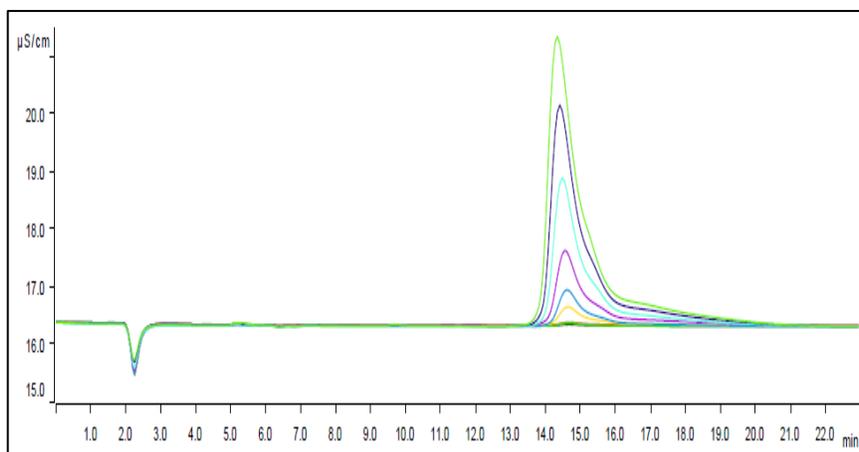


Figura 15. Cromatogramas obtenidos para determinar linealidad.

A partir de la integración del área bajo la curva de las diferentes disoluciones se elaboró el gráfico de calibración donde se relaciona el área ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ min}^{-1}$) respecto a la concentración de arseniatos (mg L^{-1}). Posteriormente, se realizó el análisis de regresión lineal de cada análisis por separado (Figura 16) y se aplicaron los respectivos cinturones de confianza a un 95 % con base en la Ecuación 20.

$$y_{\text{stdr}} = (m \cdot x_{\text{stdr}} + b) \pm t_{\alpha/2} \cdot s_e \cdot \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(x_{\text{stdr}} - \bar{x})^2}{S_{xx}}} \dots \text{(Ecuación 20)}$$

Donde y_{stdr} son los valores superior e inferior del cinturón, m es el valor de la pendiente, b el valor de la ordenada al origen, $t_{\alpha/2}$ en un valor de t de student al 95 % de confianza, n el número de mediciones, x_{stdr} la concentración obtenida, \bar{x} el valor promedio de la concentración obtenida. El cálculo de los valores de S_e y S_{xx} , se desglosa en el Anexo A, Modelo I.

Además, para conocer si la distribución de los datos experimentales fue aleatoria, se calcularon los residuos (e) con base en la Ecuación 21 y se elaboró su gráfico con respecto a cada concentración (Figura 16).

$$e = y - y^* \dots \text{(Ecuación 21)}$$

Donde “ y ” es el valor de la respuesta obtenida y “ y^* ” es el valor de la respuesta esperada calculada utilizando la ecuación de la recta.

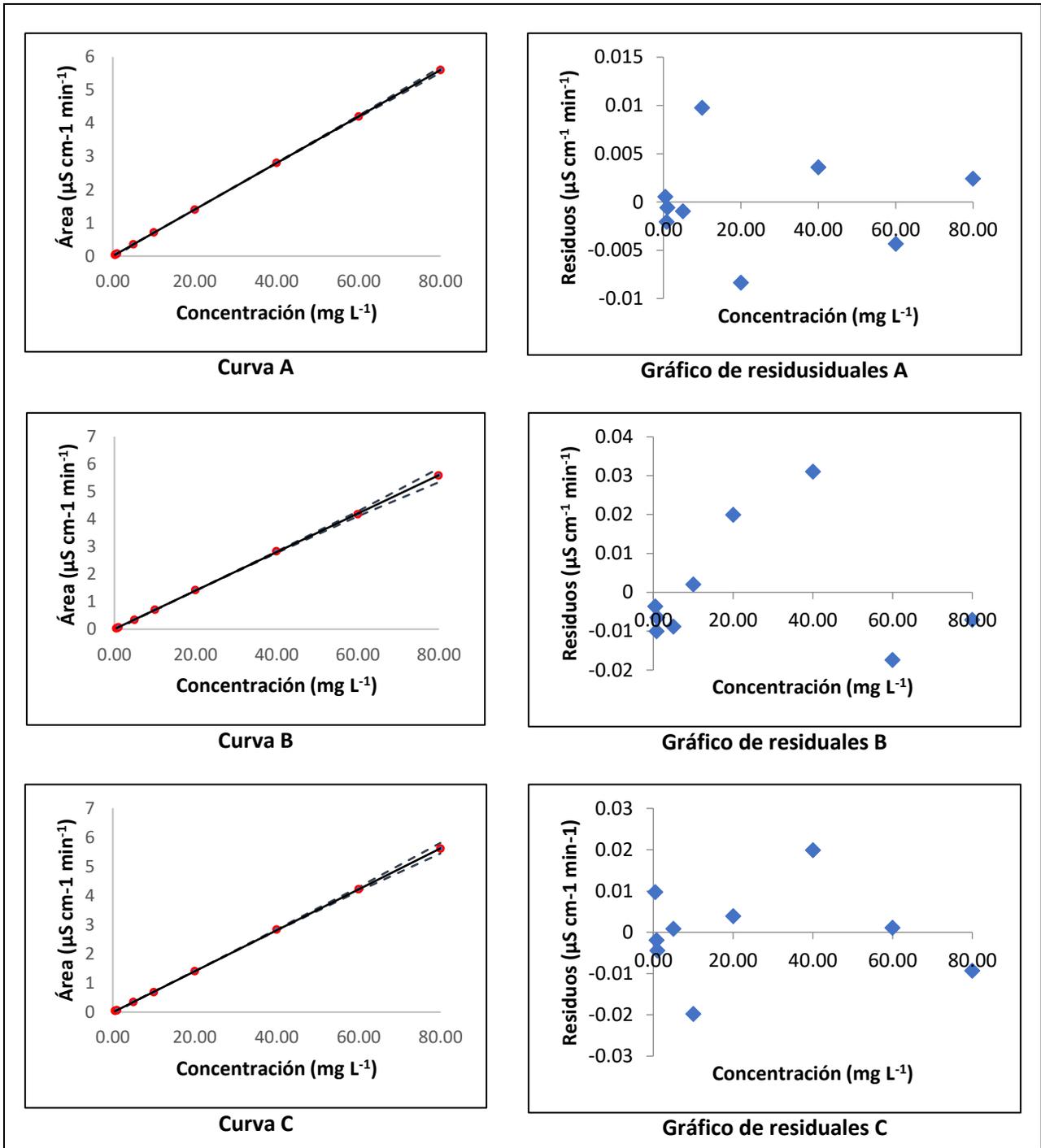


Figura 16. Curvas de calibración obtenidas para la linealidad con su gráfico de residuales.

Las líneas punteadas azules en las curvas de calibración corresponden a los cinturones de confianza al 95%.

En la Tabla 13 se presentan la ordenada al origen, la pendiente y los coeficientes de determinación y correlación obtenidos para la linealidad.

Tabla 13. Valores obtenidos en las curvas de calibración para la linealidad

Curva	Ordenada al origen (b)	Pendiente (m)	Coefficiente de correlación (r)	Coefficiente de determinación (r^2)	Linealidad (mg L ⁻¹)
A	-0.0010	0.0701	0.9999	0.9999	0.8-80.0
B	0.0053	0.0699	0.9999	0.9999	
C	-0.0007	0.0703	0.9999	0.9999	

Los resultados obtenidos muestran que existe una correlación adecuada de los datos al ser ajustados a una línea recta, ya que el criterio de aceptación para la linealidad (coeficiente de correlación “r”) se verifica mayor o igual a 0.995 (Tabla 13). Por lo tanto, el método presenta una respuesta lineal de la señal analítica (área) respecto a la concentración desde 0.5 mg L⁻¹ hasta 80.0 mg L⁻¹. Además, el modelo lineal propuesto (ecuación de la recta) es adecuado para describir los datos debido a que su $r^2 \geq 0.995$ (Tabla 13). Afirmación que se corrobora visualmente a través del gráfico y por la ausencia de datos experimentales afuera de los cinturones obtenidos a un 95% de confianza (Figura 16).

Como puede observarse en la Figura 16, los datos experimentales graficados en las curvas de calibración no siguen tendencias para los gráficos de residuales A y C. Mientras que en el gráfico B se puede observar que hasta 40.0 mg L⁻¹ parece que hay una tendencia que puede ser debido a las condiciones de análisis, ya que no se observa en los otros dos gráficos. Por lo tanto, se puede decir que, en general, se sigue una distribución aleatoria, existiendo homocedasticidad (dispersión constante de los datos).

5.2.2. Intervalo de trabajo

Para el intervalo de trabajo se prepararon estándares de arseniatos a 9 niveles de concentración (0.5 mg L⁻¹ – 5.0 mg L⁻¹), este intervalo fue seleccionado con base en los valores obtenidos al analizar muestras reales con este método. En la Figura

17 se muestran los cromatogramas obtenidos al introducir estas nueve disoluciones.

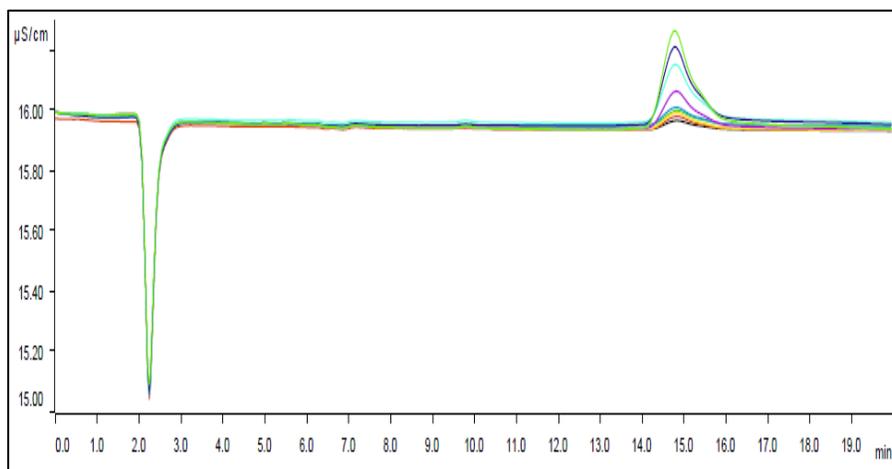


Figura 17. Cromatogramas obtenidos para el intervalo de trabajo.

A partir de la integración del área bajo la curva de las diferentes disoluciones se elaboró el gráfico de calibración donde se relaciona el área promedio obtenida ($n=3$) ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ min}^{-1}$) respecto a la concentración de arseniatos (mg L^{-1}). Posteriormente, se realizó el análisis de regresión lineal (Figura 18) y se aplicaron los respectivos cinturones de confianza a un 95 % con base en la Ecuación 20.

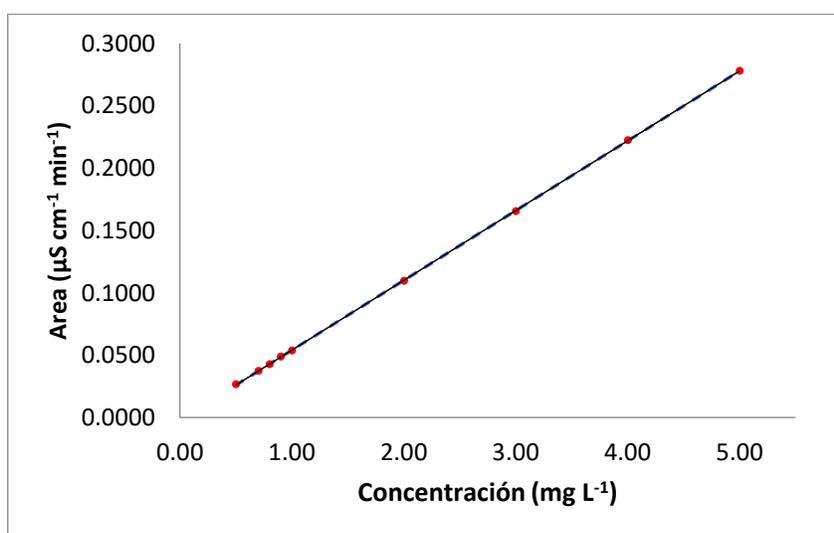


Figura 18. Curva de calibración obtenida para el intervalo de trabajo.

Las líneas punteadas azules corresponden a los cinturones de confianza al 95%.

En la Tabla 14 se presentan la ordenada al origen, la pendiente y los coeficientes de determinación y correlación obtenidos para la linealidad.

Tabla 14. Valores obtenidos en la curva de calibración para el intervalo de trabajo

Ordenada al origen (b)	Pendiente (m)	Coefficiente de correlación (r)	Coefficiente de determinación (r ²)	Intervalo de trabajo (mg L ⁻¹)
-0.0020	0.0560	0.9999	0.9999	0.5 - 5.0

Al igual que en la linealidad, los resultados obtenidos muestran que existe una correlación adecuada de los datos al ser ajustados a una línea recta, ya que el criterio de aceptación para la linealidad (coeficiente de correlación “r”) se verifica mayor o igual a 0.995 (Tabla 14). Además, el modelo lineal propuesto (ecuación de la recta) es adecuado para describir los datos debido a que su $r^2 \geq 0.995$ (Tabla 14). Afirmación que se corrobora visualmente a través del gráfico y por la ausencia de datos experimentales afuera de los cinturones obtenidos a un 95% de confianza (Figura 18).

5.2.3. Límite de detección (LOD)

Debido a que el blanco no presentó una señal diferenciable respecto a la señal-ruido, para el límite de detección se analizaron 10 blancos independientes fortificados con el estándar a una concentración de 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ de arseniatos. De estos análisis se integró el área, se aplicó la ecuación de la recta y, con base en la Ecuación 16, el LOD obtenido fue de (0.202 ± 0.018) mg L^{-1} utilizando un $k=2$ (factor de cobertura) para la incertidumbre¹ expandida.

¹ Estimación a partir del modelo planteado en el Anexo A, Modelo III.

5.2.4. Límite de cuantificación (LOQ)

Al igual que en LOD, debido a que el blanco no presentó una señal diferenciable respecto a la señal-ruido, para el límite de cuantificación se analizaron 10 blancos independientes fortificados con el estándar a una concentración de $150 \mu\text{g L}^{-1}$ de arseniatos. De estos análisis se integró el área, se aplicó la ecuación de la recta y, con base en la Ecuación 17, el LOQ obtenido fue de $(0.232 \pm 0.018) \text{ mg L}^{-1}$ utilizando un $k=2$ para la incertidumbre¹ expandida.

5.2.5. Sensibilidad

Para conocer la sensibilidad del método se tomó en cuenta las pendientes obtenidas en la linealidad (Tabla 13, Figura 16), teniendo valores de 0.0701, 0.0699 y $0.0703 \mu\text{S L cm}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Al ser un valor mayor a cero, este resultado indica que el detector es sensible a los cambios de concentración. Sin embargo, se desearía una mayor sensibilidad (mayor pendiente) ya que esto permitiría diferenciar mejor ciertas concentraciones.

5.2.6. Selectividad

Para la selectividad se analizaron por triplicado 5 muestras reales de isothermas de adsorción cuyas características iniciales (es decir, previas a su dilución) de pH y fuerza iónica son de 7.0 y 0.01 mol L^{-1} , respectivamente. En la Figura 19 se muestra un ejemplo del cromatograma obtenido para una de las muestras reales, la señal a 9.5 minutos aproximadamente corresponde a nitratos, mientras que la cercana a 15.0 min es la de arseniatos.

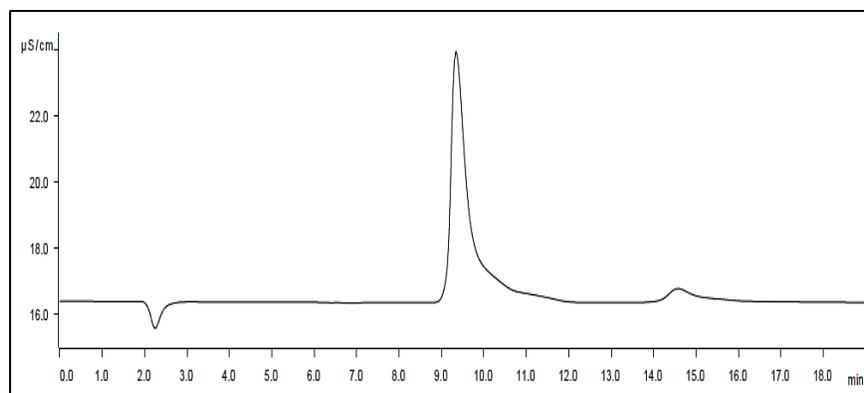


Figura 19. Cromatograma del análisis de una muestra proveniente de las isotermas de adsorción.

A los cromatogramas obtenidos se les obtuvo los tiempos de retención y el ancho del pico a la base para los dos aniones. Se determinó la resolución para cada muestra con ayuda de la Ecuación 7 (Tabla 15).

Tabla 15. Valores obtenidos en resolución para evaluar selectividad.

Muestra	(Resolución $\pm S_0$)
1	(6.75 \pm 0.08)
2	(7.07 \pm 0.10)
3	(7.22 \pm 0.04)
4	(7.28 \pm 0.01)
5	(7.28 \pm 0.03)

Como se puede observar todos los valores de resolución son mayores a 1.5 (criterio de aceptación), lo cual indica que las señales de nitratos y arseniatos no tienen un solapamiento mayor al 0.3 % entre ellas, de tal modo que el método también es selectivo ya aplicado en muestras reales. Afirmación que se puede corroborar visualmente con el cromatograma de la Figura 19. Las diferencias encontradas en este parámetro entre las muestras son debido a la concentración presente de arseniatos (que afecta en el ancho del pico a la base), ya que ésta varía dependiendo la muestra o punto de la isoterma de adsorción.

5.2.7. Exactitud

La exactitud fue determinada mediante la veracidad y la precisión.

5.2.7.1. Veracidad

Para el parámetro de veracidad se analizaron 10 mediciones independientes a tres niveles de concentración (0.8, 1.5 y 3.0 mg L⁻¹, concentración de referencia) dentro del intervalo de trabajo (ecuación de la recta). A las áreas generadas se les determinó su concentración promedio (concentración obtenida) y con ello y la Ecuación 18 se obtuvo el Sesgo (Tabla 16).

Tabla 16. Valores obtenidos para evaluar la veracidad a través del sesgo.

Concentración referencia (mg L ⁻¹)	Concentración obtenida ± U _(k=2) (mg L ⁻¹)	Sesgo (%)
0.8	0.775 ± 0.019	3.75
1.5	1.518 ± 0.021	1.34
3.0	3.068 ± 0.020	2.34

Los valores de sesgo obtenidos a los tres niveles de concentración son menores al 5.0 % (criterio de aceptación), por lo que el método genera resultados veraces respecto a la determinación de arseniatos bajo estas condiciones.

5.2.7.2. Precisión

La Precisión fue analizada mediante la repetibilidad y la repetibilidad intermedia.

5.2.7.2.1. Repetibilidad

Para la repetibilidad se realizaron 10 mediciones independientes a tres niveles de concentración (0.8, 1.5 y 3.0 mg L⁻¹) dentro del intervalo de trabajo. Con las concentraciones obtenidas se determinó el CV a través de la Ecuación 15 y los resultados generados se muestran en la Tabla 17 indicando la incertidumbre expandida² con un factor de cobertura k=2.

² Estimación a partir del modelo planteado en el Anexo A, Modelo III.

Tabla 17. Valores obtenidos para evaluar la precisión bajo repetibilidad.

Concentración obtenida $\pm U_{(k=2)}$ (mg L⁻¹)	CV (%)
0.775 \pm 0.019	1.45
1.518 \pm 0.021	1.37
3.068 \pm 0.020	0.99

Los coeficientes de variación obtenidos a los tres niveles de concentración son menores al criterio de aceptación establecido (CV < 3.0 %), por lo que el método tiene una alta precisión para analizar arseniatos bajo condiciones de repetibilidad (manteniendo todas las condiciones de análisis iguales). Además, el CV aumenta conforme disminuye la concentración, lo que resulta esperable debido a que el análisis de pequeñas cantidades conlleva una menor precisión respecto a las mayores.

5.2.7.2.2. Repetibilidad intermedia

Con el objetivo de tener condiciones de análisis diferentes a las de repetibilidad, cinco muestras a cada nivel de concentración fueron analizadas por un analista A utilizando una fase móvil, concentración del supresor y estándar diferentes a las otras cinco muestras, este segundo grupo de muestras fueron analizadas por otra persona (analista B) un mes y medio después del analista A.

Para repetibilidad intermedia se realizaron 10 mediciones independientes a tres niveles de concentración (0.8, 1.6 y 3.2 mg L⁻¹) dentro del intervalo de trabajo y ligeramente diferentes a las de repetibilidad. Con las concentraciones obtenidas se determinó el CV a través de la Ecuación 15 y los resultados generados se muestran en la Tabla 18 indicando la incertidumbre expandida³ con un factor de cobertura k=2.

³ Estimación a partir del modelo planteado en el Anexo A, Modelo III.

Tabla 18. Valores obtenidos para evaluar la precisión bajo repetibilidad intermedia.

Concentración $\pm U_{(k=2)}$ (mg L⁻¹)	CV (%)
0.806 \pm 0.019	3.27
1.590 \pm 0.018	3.75
3.199 \pm 0.018	3.48

Los coeficientes de variación a los tres niveles de concentración son menores al criterio de aceptación establecido (CV < 6.0%, el doble del valor dado para repetibilidad debido a las diferentes condiciones de trabajo que exige el parámetro), por lo que el método tiene una alta precisión para analizar arseniatos bajo las condiciones de repetibilidad intermedia estudiadas (diferente fase móvil, concentración de supresor, analista, tiempo y estándar).

5.2.8. Robustez

Una parte de la robustez del método fue analizada en el desarrollo de este, sin embargo, el efecto de la concentración del analito en muestras reales no, por lo que se planteó hacerlo a través de la Robustez.

Para conocer el porcentaje de recuperación (% R) se adicionaron 3 niveles de concentración de arseniatos por separado a cinco disoluciones preparadas a partir de las muestras provenientes de isothermas de adsorción en goethita. Cada muestra generada fue analizada por triplicado y con los resultados obtenidos y la Ecuación 19 se determinó el % R.

En la Tabla 19 se muestra las concentraciones⁴ de cada muestra y la concentración al fortificar las mismas con los tres niveles de concentración (con su respectiva incertidumbre expandida⁵ utilizando k=2). Los tres niveles de concentración de fortificación A, B y C son 0.8, 1.6 y 3.2 mg L⁻¹, respectivamente.

⁴ Las concentraciones obtenidas, son provenientes de una previa dilución. En el Anexo B se menciona la concentración real de cada muestra.

⁵ Estimación a partir del modelo planteado en el Anexo A, Modelo III.

Tabla 19. Valores obtenidos en los porcentajes de recuperación.

Muestra	Concentración de la muestra $\pm U_{(k=2)}$ (mg L ⁻¹)	Concentración obtenida de la muestra fortificada $\pm U_{(k=2)}$ (mg L ⁻¹)			Recuperación (%R)		
		A	B	C	A	B	C
1	0.92 \pm 0.10	1.70 \pm 0.10	2.47 \pm 0.10	4.06 \pm 0.10	97.4	96.5	98.0
2	1.28 \pm 0.10	2.07 \pm 0.10	2.95 \pm 0.10	4.46 \pm 0.10	99.1	104.5	99.6
3	1.95 \pm 0.10	2.78 \pm 0.11	3.62 \pm 0.11	5.15 \pm 0.11	103.2	103.6	99.8
4	3.16 \pm 0.10	3.99 \pm 0.11	4.76 \pm 0.11	6.34 \pm 0.11	103.3	100.2	99.2
5	4.37 \pm 0.10	5.18 \pm 0.12	5.92 \pm 0.12	7.44 \pm 0.12	101.6	97.1	95.9

El criterio de aceptación propuesto es de (100.0 \pm 5.0) % debido a la naturaleza de las muestras, por lo que los resultados de la Tabla 19 demuestran que el método no presenta problemas debido al aumento en la concentración del analito en las disoluciones, siendo robusto bajo el intervalo de 1.70 hasta 7.44 mg L⁻¹ de arseniatos.

6. Conclusiones

A través del diseño experimental y la evaluación de los parámetros cromatográficos de mayor interés (α , N, H y R_s), se desarrolló una metodología confiable para el análisis de arseniatos en muestras acuosas que tienen altos contenidos de nitratos. Las concentraciones seleccionadas para la fase móvil y el supresor fueron 3.2 mmol L^{-1} de Na_2CO_3 + 1.0 mmol L^{-1} de NaHCO_3 y 150 mmol L^{-1} de H_2SO_4 , respectivamente.

Con base en los parámetros de validación, las herramientas estadísticas elegidas y los criterios de aceptación aplicados, el método propuesto es adecuado para su propósito, ya que:

- Tiene un LOD de $(0.202 \pm 0.018) \text{ mg L}^{-1}$ y un LOQ de $(0.232 \pm 0.018) \text{ mg L}^{-1}$.
- Presenta un comportamiento lineal y homocedasticidad bajo las condiciones de trabajo ($r > 0.995$).
- Es sensible ($m > 0$) a las variaciones vistas en el método.
- Aplicado en las disoluciones elaboradas a partir de muestras reales es selectivo ($R_s > 1.5$) ante la presencia del ion nitrato ($5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, aproximadamente) a diferentes concentraciones de arseniatos.
- Es veraz ($S < 5.0\%$) a los tres niveles de concentración evaluados dentro del intervalo de trabajo.
- Presenta precisión bajo condiciones de repetibilidad ($CV < 3.0\%$) y repetibilidad intermedia ($CV < 6.0\%$) a los tres niveles de concentración evaluados para cada uno dentro del intervalo de trabajo.
- Y, es robusto pues presenta $\% R = 100.0 \pm 5.0$ bajo el intervalo de concentración de 1.70 a 7.44 mg L^{-1} de arseniatos en solución.

Además, y a pesar de no ser un parámetro de validación obligatorio, se estimó la incertidumbre de las mediciones realizadas con el método a partir del uso de modelos para el mensurando.

Por último, la aplicación de la metodología en cinco muestras reales permitió conocer los alcances del método ya que no se presentaron interferencias de matriz significativas ($\% R$), logrando determinar su concentración y su respectiva incertidumbre expandida ($k=2$) adecuadamente.

Anexo A. Modelos matemáticos

Modelo I. Cálculo de los valores S_e y S_{xx} para los cinturones de confianza.

$S_e = \sqrt{\frac{S_{yy} - \frac{(S_{xy})^2}{S_{xx}}}{n - 2}}$	$S_{xx} = \sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}$ $S_{yy} = \sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n}$ $S_{xy} = \sum xy - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}$
---	---

Donde los valores de “x” corresponden a las concentraciones y “y” corresponde a los valores de cada área de pico, correspondientes a cada punto en la curva de calibración.

Modelo II. Cálculo de la concentración de una disolución estándar y estimación de su incertidumbre.

Descripción del mensurando: Concentración de una disolución para curva de calibración, a partir de una disolución madre preparada con el estándar de arseniatos.

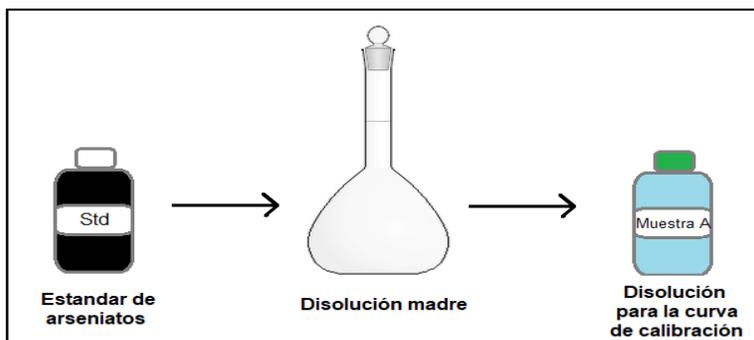


Figura 20. Esquema de preparación de disoluciones estándar.

Modelo para cálculo del mensurando

Ecuaciones:

$$C_M = \frac{C_{Std} \cdot m_{Std}}{m_{M_1}}$$

$$C_{Dis} = \frac{C_M \cdot m_{Dis}}{m_{M_2}}$$

Igualamos a partir de C_M obteniendo:

$$C_{Dis} = \frac{C_{Std} \cdot m_{Std} \cdot m_{M_2}}{m_{Dis} \cdot m_{M_1}}$$

Donde:

- C_M : Concentración de la disolución madre (mg L^{-1})
- C_{Std} : Concentración del estándar de arseniatos (1000 mg L^{-1})
- m_{Std} : Masa tomada del estándar (g)
- m_{M_1} : Masa total de la disolución madre (g)
- C_{Dis} : Concentración de la disolución para la curva de calibración (mg L^{-1})
- m_{Dis} : Masa total de la disolución para la curva de calibración (g)
- m_{M_2} : Masa tomada de la disolución madre (g)

Modelo para la estimación de la incertidumbre expandida

$$U_{C_{Dis}} = 2 \cdot C_{Dis} \cdot \sqrt{\left(\frac{u_{C_{Std}}}{C_{Std}}\right)^2 + \left(\frac{u_{m_{Std}}}{m_{Std}}\right)^2 + \left(\frac{u_{m_{M_2}}}{m_{M_2}}\right)^2 + \left(\frac{u_{m_{Dis}}}{m_{Dis}}\right)^2 + \left(\frac{u_{m_{M_1}}}{m_{M_1}}\right)^2}$$

Donde:

- u = Incertidumbre asociada a cada variable
- U = Incertidumbre expandida
- 2 = Factor de cobertura (k)

Modelo III. Cálculo de la concentración de una muestra y estimación de su incertidumbre a partir de una curva de calibración.

Descripción del mensurando: Concentración de una disolución a partir de una curva de calibración (Miller y Miller, 2002).

Modelo para el cálculo del mensurando

Considerando un modelo general de regresión lineal:

$$y = m x + b$$

Despejamos "x":

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Donde:

- y: Respuesta analítica – Área de pico ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ min}^{-1}$)
- m: Pendiente de la curva ($\mu\text{S L cm}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$)
- x: Concentración del analito (mg L^{-1})
- b: Ordenada al origen ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ min}^{-1}$)

Modelo para la estimación de la incertidumbre

$$S_{x_o} = \frac{S_{y/x}}{b} \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{1}{m} + \frac{(y_o - \bar{y})^2}{b^2 \cdot \sum(x_i - \bar{x})^2}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(y_i - \hat{y})^2}{n - 2}}$$

Donde:

- S_{x_o} : Incertidumbre de la concentración
- $S_{y/x}$: Incertidumbre aleatoria en y.
- b: Pendiente de la recta.
- n: Número de mediciones para cada punto de la recta.
- m: Número de mediciones en la muestra.
- y_o : Respuesta obtenida de la muestra.
- \bar{y} : Respuesta promedio de la muestra.
- x_i : Concentración calculada en la muestra.
- \bar{x} : Concentración promedio calculada en la muestra.
- y_i : Respuesta obtenida en cada punto de la curva de calibración.
- \hat{y} : Respuesta corregida obtenida en cada punto de la curva de calibración.

Anexo B. Datos de concentración real de las muestras.

Para la lectura de las muestras provenientes de las isothermas de adsorción, después del respectivo proceso de filtración se aplicó una dilución cuyo factor corresponde a 1/20 (0.5 mL de cada muestra en 10.0 mL de volumen total). Considerando este factor de dilución, en la Tabla 20 se muestran las concentraciones reales con su respectiva incertidumbre expandida con un factor de cobertura $k=2$.

Tabla 20. Concentraciones reales de las cinco muestras seleccionadas provenientes de las isothermas de adsorción.

Muestra	Concentración $\pm U_{(k=2)}$ (mg L⁻¹)
1	18.4 \pm 2.1
2	25.5 \pm 2.1
3	39.1 \pm 2.1
4	63.2 \pm 2.2
5	87.3 \pm 2.4

Anexo C. Glosario

Blancos de reactivos: Los reactivos utilizados durante el proceso analítico (incluyendo disolventes utilizados para extracción o disolución) que serán analizados para determinar si contribuyen a la señal de la medida (Eurachem, 2016).

Blancos de muestra. Se trata de muestras sin presencia de analito (Eurachem, 2016).

Blanco fortificado: Son materiales o soluciones en los que el analito(s) ha sido adicionado a valores conocidos. La adición no tiene que limitarse al analito de interés. Se pueden adicionar otros componentes para medir el efecto de la adición (Eurachem, 2016).

Cadena trófica: Cadena alimentaria, serie de especies existentes en todo ecosistema, a través del cual se transmiten la energía pues unos organismos se nutren de otros (Ramírez, 2006).

Escorrentía: Agua de lluvia que circula libremente sobre la superficie de un terreno.

Fase mineral: Es aquella porción de un sistema que es microscópicamente homogénea en cuanto a sus propiedades fisicoquímicas y se encuentra separada de otras porciones similares por regiones límites bien definidas, llamadas interfaces. Por nomenclatura, se diferencian dos fases de un mineral utilizando letras griegas previo a la fórmula química o después del nombre de este, por ejemplo, cuarzo- α o α -SiO₂ (CIDTA, 2020).

Horizontes: Serie de estratos horizontales que se desarrollan en el interior del suelo y que presentan diferentes características químicas, físicas y biológicas.

Intemperismo: También llamado meteorización, es la alteración de los materiales rocosos expuestos al aire, a la humedad y al efecto de la materia orgánica (Duque, 2020).

Perfil del suelo: Corte vertical en el suelo que va desde la superficie hasta la roca madre.

Paleosuelos: Suelos que se formaron en el pasado geológico bajo condiciones (factores de formación) distintas a las actuales. (Porta, 2019).

Pedogénesis: Proceso por el cual se crea un suelo.

Roca madre: Roca que mediante procesos de meteorización y erosión da lugar a la formación de la parte inorgánica del suelo (Oxford Languajes, 2021).

Suelos Hidromórficos: Suelos encontrados entre dos zonas caracterizadas por un exceso de humedad permanente. (ALEGSA, 2016).

Suelo Calcáreo: Son aquellos suelos que tienen un alto contenido de carbonato de calcio ya sea en forma de calcita (CaCO_3 sistema cristalino Romboédrico) o aragonita (CaCO_3 sistema cristalino Ortorrómbico).

Sustancia húmica: Definidas como macromoléculas orgánicas, con una estructura química compleja, distinta y estable que provienen de la degradación de plantas y animales, por la actividad enzimática de microorganismos y metamorfismo orgánico (López et. al., 2014).

Referencias

1. Acevedo Sandoval, O., Ortiz-Hernández, E., Cruz-Sánchez, M., y Cruz-Chávez, E. (2004). El papel de óxidos de hierro en suelos. *Terra Latinoamericana*, 22(4), 485-497.
2. Alarcón, T., Leal, L., Miranda, S., Benavides, A., y Martín, I. (2014). Arsénico en Agua: presencia, cuantificación analítica y mitigación. Centro de Investigación en Materiales Avanzados (Ed.), Centro de Investigación en Materiales Avanzados.
3. Alimentarius, C. (2002). Fortalecimiento de los Comités Nacionales del Codex y aplicación de las Normas del Codex alimentario. Sistema HACCP.
4. Arrieta S. M., Flores G. L. I., Galicia R. M. R., Huerta F. L., López G. M. L. (2017). Manual de Desarrollo Analítico (Laboratorio). Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
5. Buckman, H.O. (1991). Naturaleza y propiedades de los suelos. Nueva York, E.U.A. Limusa S.A. de CV
6. Castaño J. G., y Arroyave, C. (1998). La funcionalidad de los óxidos de hierro. *Revista de metalurgia*, 34(3), 274-280.
7. Castillo Aguilar, Beatriz, y González Hernández, Rolando. (1996). Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. *Revista Cubana de Farmacia*, 30(1) Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75151996000100009&lng=es&tlng=es.
8. Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico del Agua (CIDTA). (s. f.). Equilibrio entre fases. SIDTA. Recuperado 20 de agosto de 2020, de <https://www.scribbr.es/detector-de-plagio/generador-apa/new/webpage/>
9. Centro Nacional de Metrología. Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico (2008). Abril de 2018. México.

10. Chauhan, A., Mittu, B., y Chauhan, P. (2015). Analytical Method Development and Validation: A Concise Review. *J Anal BioanalTech* 6: 233. Recuperado de: <https://www.omicsonline.org/open-access/analytical-method-development-and-validation-a-concise-review-2155-9872-5-233.php?aid=40535>
11. Coria, I. (2007). Remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Centro de Altos Estudios Globales. Recuperado el 3 de Julio de 2020, de <http://www.sustentabilidad.uai.edu.ar/pdf/ing/UAIS-IGA-600-001>, 20.
12. Definiciones-de.com (2016). Definición de hidromórfico - ALEGSA. Recuperado el 15 de Julio de 2020 de: <https://www.definiciones-de.com/Definicion/de/hidromorfico.php>
13. Dipali P. Jasudkar, Aditi L. Tulankar, S.R Satone (2019). Arsenic and arsenic health effects. *AIP Conference Proceedings* Vol. 2104.
14. Domènech, X. (2012). Química ambiental de sistemas terrestres. Reverté.
15. Duque E. Gonzalo. Manual de Geología para ingenieros. Capítulo 8 "Intemperismo o meteorización". Recuperado el 10 de abril de 2020, de <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/3145/intemperismoometeorizacion.pdf?sequence=7&isAllowed=y#:~:text=Intemperismo%20o%20meteorizaci%C3%B3n%20es%20la,procesos%2C%20por%20regla%20general%20interact%C3%BAan>.
16. Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1ª ed. 2016). Disponible en www.eurachem.org
17. Facultad de Química, Química Analítica Instrumental II UNAM. Técnicas Cromatográficas. Diciembre 2007. México.
18. Fassbender, H. W., y Bornemisza, E. (1987). Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. Ilica.

19. García, S. (2013). Estudios de especiación de arsénico y acumulación de metales en muestras de interés medioambiental. Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica de Obras Públicas. Universidad Politécnica de Madrid.
20. Guía Técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean las técnicas de espectrofotometría de absorción atómica y de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente, EMA, revisión 00, 2004
21. Hlavay J., Prohaska T., Weisz M., Wenzel W.W. y Stingeder G.J. (2004). Determination of trace elements bound to soil and sediment fractions. *Pure Appl. Chem.* 76, 415–442.
22. Klein, C., y Hurlbut, C. S. (1997). Manual de mineralogía (Vol. 2). Reverté.
23. Litter, M. I., Armienta, M. A., & Farías, S. (2009). Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos. IBEROARSEN, CYTED, Buenos Aires, Argentina. Recuperado de: <https://docplayer.es/6722881-lberoarsen-metodologias-analiticas-para-la-determinacion-y-especiacion-de-arsenico-en-aguas-y-suelos.html>
24. López Salazar R., González-Cervantes G., Vázquez Alvarado R. E., Olivares Sáenz E., Vidales Contreras J. A., Carranza de la Rosa R., y Ortega Escobar M. (2014). Metodología para obtener ácidos húmicos y fulvicos y su caracterización mediante espectrofotometría infrarroja. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(SPE8), 1397-1407.
25. López M. Ossiel F. (2013). Propuesta de un método para el análisis de nimesulida por cromatografía de líquidos de alta resolución. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
26. Loredo J. Alan U. (2019). Caracterización de los sólidos formados al neutralizar el pH de sales eflorescentes de ambientes de residuos mineros con altos contenidos de Mg(II), Zn(II) y Cu(II). (Tesis de maestría). Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geología. Posgrado en ciencias de la tierra.
27. Martí, F. B. (2002). Química analítica cualitativa. Editorial Paraninfo.

28. Mejía Zamudio Flérida, Valenzuela García Jesús L., Aguayo Salinas Salvador, y Meza-Figueroa Diana. (2009). Adsorción de arsénico en zeolita natural pretratada con óxidos de magnesio. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 25(4). Recuperado el 25 de agosto de 2020, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992009000400002&lng=es&tlng=es.
29. Metrohm AG (2021). ¿De qué se trata la supresión en la cromatografía iónica? Aspectos teóricos y beneficios prácticos explicados. Recuperado el 10 de Julio de 2021 de: <https://www.metrohm.com/es-mx/compa%C3%B1a/noticias/news-suppression-in-ic/>
30. Miller, J. N., & Miller, J. C. (2002). *Estadística y quimiometría para química analítica* (No. 543.062: 519.23 MIL).
31. Minitab LLC. (2009). ¿Qué es un nivel de confianza? Minitab. Recuperado el 14 de Julio de 2020 <https://support.minitab.com/es-mx/minitab/18/help-and-how-to/statistics/basic-statistics/supporting-topics/basics/what-is-a-confidence-level/>
32. Napolitano H (2010). *Diseño de Experimentos. Educación en ciencias Químicas. Industria y Química*. Núm. 354.
33. National Research Council. (1977). *Arsenic: medical and biologic effects of environmental pollutants*. Recuperado el 23 de abril de 2020 de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK231018/pdf/Bookshelf_NBK231018.pdf
34. NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. *Diario Oficial de la federación. Estados Unidos Mexicanos*. Viernes 2 de marzo de 2007. Recuperada de: https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/1392/1/nom-147-semarnat_ssa1-2004.pdf
35. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-117-SSA1-1994. *Diario Oficial de la federación. Estados Unidos Mexicanos*. Viernes 2 de marzo de 2007. Recuperada de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/117ssa14.html#:~:text=Bienes%20y%20servicios->

,NORMA%20OFICIAL%20MEXICANA%20NOM%2D117%2DSSA1%2D1994%2C%20BIENES,POR%20ESPECTROMETR%C3%8DA%20DE%20ABSORCI%C3%93N%20AT%C3%93MICA.

36. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Recuperado el 8 de Abril de 2020, de <http://www.fao.org/3/w1309s/w1309s04.htm>.
37. Organización Mundial de la salud. Arsénico. Recuperado el 3 de Julio de 2020, de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/arsenic>
38. Porta, J., Poch, R. M., & López-Acevedo, M. (2019). Edafología: uso y protección de suelos. Mundi-Prensa Libros.
39. Ramírez Aza M. (Ed.). (2006). Manual abecedario ecológico: la más completa guía de términos ambientales (No. 6). Editorial San Pablo.
40. Rangel Montoya, E. A., Montañez Hernández, L. E., Luévanos Escareño, M. P., y Balagurusamy, N. (2015). Impacto del arsénico en el ambiente y su transformación por microorganismos. *Terra Latinoamericana*, 33(2), 103-118.
41. Rivas, Carlos F, Núñez, Oswaldo, Longoria, Francisco, y Gonzalez, Lucy. (2014). Isoterma de langmuir y freundlich como modelos para la adsorción de componentes de ácido nucleico sobre WO₃. *Saber*, 26(1), 43-49.
42. Roca madre. (2021). Definiciones de *Oxford Languages*. Recuperado de entrada en google "Roca madre".
43. Rossi, M. G. (2002). Evaluación y propuestas de remediación a suelos contaminados con metales pesados e hidrocarburos de procedencia industrial (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
44. S/A (10 de Mayo de 2020). Coeficiente de correlación Lineal de Pearson. Recuperado de: personal.us.es/vararey/adatos2/correlacion.pdf
45. Scheinost, A.C. (2005). Óxidos metálicos. En *Enciclopedia de suelos en el medio ambiente* (pp. 428-438). Elsevier Academic Press.

46. Skoog D. A. et. al. Principios de análisis instrumental. Sexta edición. CENGAGE Learning. México 2008.
47. Solano Marín, A. M. (2008). Movilización de metales pesados en residuos y suelos industriales afectados por la hidrometalurgia del cinc.
48. Sparks D. L., (1997) Environmental Soil Chemistry, 2nd ed., vol. 162, no. 3. USA: Elsevier Science.
49. Sposito, G. (2008). La química de los suelos. Prensa de la Universidad de Oxford.
50. Toomula N., Arun Kumar, Sathish Kumar and Vijaya Shanti Bheemidi (2011). Development and Validation of Analytical Methods for Pharmaceuticals. Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques Vol. 2:127.
51. Villacís-García, M., Ugalde-Arzate, M., Vaca-Escobar, K., Villalobos, M., Zanella, R., & Martínez-Villegas, N. (2015). Laboratory synthesis of goethite and ferrihydrite of controlled particle sizes. Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana, 67(3), 433-446.
52. Villalaz, C. C. (2005). Mecánica de suelos y cimentaciones/Mechanics of Grounds and Laying of Foundations. Editorial Limusa.
53. Virender K. Sharma, Mary Sohn (2009). Aquatic arsenic: Toxicity, speciation, transformations, and remediation. Environment International Journal Elsevier Vol. 35.
54. Zúñiga, F. B. (1999). Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados (Vol. 1). Uady.