



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**APLICACIÓN DE METODOLOGÍAS CROMATOGRÁFICAS PARA LA  
DETERMINACIÓN DE IONES MAYORITARIOS EN MUESTRAS DE SUELO**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO**

**PRESENTA**

**LUIS FRANCISCO SANTOS SUÁREZ**



**CD. MX.**

**AÑO 2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**                   **Profesor: José de Jesús García Valdés**  
**VOCAL:**                           **Profesor: José Luz González Chávez**  
**SECRETARIO:**               **Profesor: Olivia Zamora Martínez**  
**1er. SUPLENTE:**           **Profesor: Marcos Francisco Villanueva Hernández**  
**2º SUPLENTE:**               **Profesor: Harlem Haydeé Cruz Bailón**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**LABORATORIO DE CROMATOGRFÍA, DEPTO. DE CIENCIAS  
AMBIENTALES Y DEL SUELO, INSTITUTO DE GEOLOGÍA, UNAM.  
LABORATORIO NACIONAL DE GEOQUÍMICA Y MINERALOGÍA (LANGEM).**

**ASESOR DEL TEMA:**

---

**Dra. Olivia Zamora Martínez**

**SUSTENTANTE:**

---

**Luis Francisco Santos Suárez**

## **Agradecimientos**

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por su apoyo al Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía con el proyecto LN-299087, también a la Dra. Elizabeth Chávez García por el préstamo de las muestras de estudio.

## Abreviaturas

Departamento de Agricultura de Estados Unidos	USDA
Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura	FAO
Organización de las Naciones Unidas para la Educación, Ciencia y Cultura	UNESCO
Unión Internacional de las Ciencias del Suelo	IUSS
Sociedad de la Ciencia del Suelo de América	SSSA
Organización Internacional de Estándares	ISO
Sociedad Americana de Evaluación y Materiales	ASTM
Asociación de Químicos Analíticos Oficiales	AOAC
Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura	CCAYAC
Límite Líquido	LL
Límite Plástico	LP
Capacidad de Intercambio Catiónico	CIC
Capacidad de Intercambio Aniónico	CIA
Ion hexaaminocobalto	Cohex
Tiempo muerto	$t_0$
Tiempo de retención	$t_r$
Tiempo de retención ajustado	$t_r'$
Factor de retención	$k$
Factor de selectividad	$\alpha$
Ancho en la base	W
Ancho a la mitad del pico	$W_{1/2}$
Altura de plato	H
Longitud del relleno de la columna	L
Número de platos	N
Resolución	$R_s$

Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución	CLAR
Cromatografía de Intercambio Iónico	CI
Infrarrojo	IR
Material de referencia	MR
Trimetilamina	TMA
Dimetiletanolamina	DMEA
Sólidos Totales Disueltos	TDS
Promedio	$\bar{x}$
Desviación estándar	s
Pendiente	m
Ordenada al origen	b
Desviación estándar corregida por promedio	$s_0$
Media	$x_M$
Valor de referencia	$x_{ref}$
Valor medio de la muestra adicionada	$x_M'$
Valor de concentración añadida	$x_{adición}$
Límite de detección	LD
Límite de cuantificación	LC
Concentración	C
Área	A
Concentración molar	M
Concentración milimolar	mM
Concentración en porcentaje de masa	%m/m
Concentración en partes por millón	mg/L
Porcentaje de coeficiente de variación	%CV
Porcentaje de error	%E

Recobro	%R
Ion sodio	Na <sup>+</sup>
Ion amonio	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
Ion potasio	K <sup>+</sup>
Ion calcio	Ca <sup>2+</sup>
Ion magnesio	Mg <sup>2+</sup>
Ion flúor	F <sup>-</sup>
Ion cloro	Cl <sup>-</sup>
Ion bromo	Br <sup>-</sup>
Ion bicarbonato	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Ion carbonato	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>
Ion nitrato	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Ion fosfato	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>
Ion sulfato	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
Micrómetro	μm
Microlitro	μL
Micromol	μmol
Microequivalente	μeq
Microsiemens	μS
Milímetro	mm
Mililitro	mL
Miligramo	mg
Miliequivalente	meq
Milisiemens	mS
Centímetro	cm
Litro	L

Gramo	g
Libra por pulgada cuadrada	psi
Minuto	min
Siemens	S
Volt	V
Grado Celsius	°C
Kilohertz	KHz



## Índice

<i>Contenido</i>	<i>página</i>
<b>Resumen</b> .....	1
<b>Introducción</b> .....	2
<b>Capítulo 1. Objetivos</b> .....	3
<b>1.1 Objetivo general</b> .....	3
<b>1.2 Objetivos particulares</b> .....	3
<b>Capítulo 2. Antecedentes</b> .....	4
<b>2.1 Suelos</b> .....	4
<b>2.1.1 Estudio y definición de suelo</b> .....	4
<b>2.1.2 Formación, propiedades y clasificación de los suelos</b> .....	4
<b>2.1.3 Composición del suelo</b> .....	13
<b>2.1.4 Química del suelo</b> .....	14
<b>2.1.5 Importancia de los suelos</b> .....	19
<b>2.2 Cromatografía</b> .....	20
<b>2.2.1 Definición y clasificaciones</b> .....	20
<b>2.2.2 Parámetros cromatográficos</b> .....	22
<b>2.2.3 Cromatografía de líquidos</b> .....	28
<b>2.2.4 Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR)</b> .....	28
<b>2.2.5 Cromatografía de Intercambio Iónico (CI)</b> .....	35
<b>2.3 Validación y verificación</b> .....	49
<b>2.3.1 Definiciones</b> .....	49
<b>2.3.2 Validación y verificación</b> .....	49
<b>2.3.3 Características de desempeño</b> .....	52
<b>2.3.4 Herramientas de validación</b> .....	62
<b>2.3.5 Plan e informe de validación</b> .....	63

<i>Contenido</i>	<i>página</i>
<b>Capítulo 3. Parte experimental</b> .....	65
<b>3.1 Equipos y materiales</b> .....	65
<b>3.2 Reactivos y disolventes</b> .....	65
<b>3.3 Procedimiento experimental</b> .....	66
<b>3.3.1 Descripción y conservación de las muestras de trabajo</b> .....	66
<b>3.3.2 Preparación de las disoluciones saturadas de suelos</b> .....	67
<b>3.3.3 Determinación de pH, <math>\Lambda</math> y TDS</b> .....	67
<b>3.3.4 Análisis por cromatografía iónica</b> .....	68
<b>3.3.5 Determinación por valoraciones potenciométricas</b> .....	68
<b>3.3.6 Validación de la metodología utilizada para determinar <math>\text{Ca}^{2+}</math> y <math>\text{Mg}^{2+}</math></b> .....	69
<b>Capítulo 4. Resultados y discusión</b> .....	72
<b>4.1 Resultados y discusión de la determinación de pH, <math>\Lambda</math>, TDS y iones mayoritarios</b> .....	72
<b>4.1.1 Determinación de pH, <math>\Lambda</math> y TDS</b> .....	72
<b>4.1.2 Determinación de <math>\text{Na}^+</math>, <math>\text{NH}_4^+</math>, <math>\text{K}^+</math>, <math>\text{Ca}^{2+}</math> y <math>\text{Mg}^{2+}</math></b> .....	73
<b>4.1.3 Determinación de <math>\text{F}^-</math>, <math>\text{Cl}^-</math>, <math>\text{Br}^-</math>, <math>\text{NO}_3^-</math>, <math>\text{PO}_4^{3-}</math> y <math>\text{SO}_4^{2-}</math></b> .....	77
<b>4.1.4 Determinación de <math>\text{HCO}_3^-</math> y <math>\text{CO}_3^{2-}</math></b> .....	79
<b>4.2 Evaluación de la calidad de los resultados de cromatografía</b> .....	84
<b>4.2.1 Balance de cargas</b> .....	84
<b>4.2.2 Validación de la metodología de análisis de cationes con la columna C4</b> .....	86
<b>Capítulo V. Conclusiones</b> .....	96
<b>ANEXOS</b> .....	98
<b>Anexo I. Datos de pH, <math>\Lambda</math> y TDS de las 54 muestras de suelos</b> .....	98

<i>Contenido</i>	<i>página</i>
<b>Anexo II. Datos de área y concentración de los cationes determinados. ....</b>	<b>99</b>
<b>Anexo III. Datos de área y concentración de los aniones determinados. ....</b>	<b>103</b>
<b>Anexo IV. Datos obtenidos con el método de la primera derivada y gráficos de curvas de valoración de las 54 muestras analizadas.....</b>	<b>108</b>
<b>Anexo V. Gráficos de las curvas de calibración elaboradas para la evaluación del intervalo de linealidad.....</b>	<b>137</b>
<b>Anexo VI. Curvas de calibración utilizadas en la evaluación de exactitud. .</b>	<b>139</b>
<b>Anexo VII. Valores de área de los blancos de cada muestra.....</b>	<b>141</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>142</b>

## Índice de imágenes

<i>Número de imagen</i>	<i>página</i>
Imagen 1. Triángulo de textura.....	7
Imagen 2. Cromatograma mostrando dos picos separados.....	23
Imagen 3. Procesos de intercambio catiónico y aniónico.....	36
Imagen 4. Estructura de intercambiadores aniónicos con superficie funcionalizada y peliculares con enlace mecánico.....	44
Imagen 5. Extensión de la validación para diferentes métodos.....	51
Imagen 6. Curva de respuesta típica obtenida con un método instrumental y curva típica obtenida con un procedimiento de medición.....	55
Imagen 7. Relación entre conceptos fundamentales que describen la calidad de los resultados de medición .....	58
Imagen 8. Perfil de suelo en la zona de estudio.....	66
Imagen 9. Cromatograma de estándar de cationes de 10 mg/L.....	74
Imagen 10. Cromatograma obtenido con la columna C6 de una muestra diluida con un factor de dilución 1:60. ....	75
Imagen 11. Cromatograma obtenido con la columna C4 de una muestra diluida con un factor de dilución 1:10. ....	75
Imagen 12. Cromatograma de estándar de aniones de 100 mg/L. ....	77
Imagen 13. Cromatograma obtenido de una muestra analizada con un factor de dilución 1:10. ....	78
Imagen 14. Diagrama de coeficiente de especiación con respecto a pH del ácido carbónico.....	80
Imagen 15. Gráfico de primera derivada de la muestra T1. ....	82
Imagen 16. Cromatograma de estándar de cationes de 20 mg/L obtenido con la columna C4.....	87
Imagen 17. Gráfico de calibración de Na <sup>+</sup> original (0.02 -250 mg/L).....	88
Imagen 18. Gráfico de calibración de Na <sup>+</sup> obtenido mediante la prueba no paramétrica de rachas (5 -250 mg/L) .....	89
Imagen 19. Gráficos de calibración de Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Ca <sup>2+</sup> y Mg <sup>2+</sup> .....	90

<i>Número de imagen</i>	<i>página</i>
Imagen 20. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T1 .....	109
Imagen 21. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T2 .....	110
Imagen 22. Curva de valoración de y gráfico de primera derivada de la muestra T3 .....	110
Imagen 23. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T4 .....	111
Imagen 24. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T5 .....	111
Imagen 25. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T6 .....	112
Imagen 26. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T7 .....	112
Imagen 27. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T8 .....	113
Imagen 28. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T9 .....	113
Imagen 29. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T10 .....	114
Imagen 30. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T11 .....	114
Imagen 31. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T12 .....	115
Imagen 32. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T13 .....	115
Imagen 33. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T14 .....	116
Imagen 34. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T15 .....	116

<i>Número de imagen</i>	<i>página</i>
Imagen 35. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T16 .....	117
Imagen 36. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T17 .....	117
Imagen 37. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T18 .....	118
Imagen 38. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T19 .....	118
Imagen 39. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T20 .....	119
Imagen 40. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T21 .....	119
Imagen 41. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T22 .....	120
Imagen 42. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T23 .....	120
Imagen 43. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T24 .....	121
Imagen 44. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T25 .....	121
Imagen 45. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T26 .....	122
Imagen 46. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T27 .....	122
Imagen 47. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T28 .....	123
Imagen 48. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T29 .....	123
Imagen 49. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T30 .....	124

<i>Número de imagen</i>	<i>página</i>
Imagen 50. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T31 .....	124
Imagen 51. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T32 .....	125
Imagen 52. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T33 .....	125
Imagen 53. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T34 .....	126
Imagen 54. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T35 .....	126
Imagen 55. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T36 .....	127
Imagen 56. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T37 .....	127
Imagen 57. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T38 .....	128
Imagen 58. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T39 .....	128
Imagen 59. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T40 .....	129
Imagen 60. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T41 .....	129
Imagen 61. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T42 .....	130
Imagen 62. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T43 .....	130
Imagen 63. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T44 .....	131
Imagen 64. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T45 .....	131

<i>Número de imagen</i>	<i>página</i>
Imagen 65. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T46 .....	132
Imagen 66. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T47 .....	132
Imagen 67. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T48 .....	133
Imagen 68. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T49 .....	133
Imagen 69. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T50 .....	134
Imagen 70. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T51 .....	134
Imagen 71. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T52 .....	135
Imagen 72. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T53 .....	135
Imagen 73. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T54 .....	136
Imagen 74. Curvas de calibración de Na <sup>+</sup> .....	137
Imagen 75. Curvas de calibración de K <sup>+</sup> .....	137
Imagen 76. Curvas de calibración de Ca <sup>2+</sup> .....	138
Imagen 77. Curvas de calibración de Mg <sup>2+</sup> .....	138
Imagen 78. Curva de calibración de Na <sup>+</sup> utilizada en la evaluación de exactitud.139	139
Imagen 79. Curva de calibración de K <sup>+</sup> utilizada en la evaluación de exactitud..	139
Imagen 80. Curva de calibración de Ca <sup>2+</sup> utilizada en la evaluación de exactitud .....	140
Imagen 81. Curva de calibración de Mg <sup>2+</sup> utilizada en la evaluación de exactitud .....	140



## Índice de tablas

<i>Número de tabla</i>	<i>página</i>
Tabla 1. Intervalos de pH, conductividad y sólidos totales disueltos de las disoluciones saturadas de suelo analizadas. ....	72
Tabla 2. Criterios de clasificación de los suelos en función del pH. ....	72
Tabla 3. Clasificación de los suelos con respecto a su conductividad eléctrica. ...	73
Tabla 4. Intervalo de concentraciones de los cationes determinados. ....	76
Tabla 5. Intervalos de concentración de los aniones determinados. ....	78
Tabla 6. Datos de la curva de valoración y primera derivada de la muestra T1. ....	80
Tabla 7. 1er y 2do punto de equivalencia para la titulación de cada disolución saturada de suelo. ....	82
Tabla 8. Intervalos de concentración de $\text{HCO}_3^-$ y $\text{CO}_3^{2-}$ . ....	84
Tabla 9. Valores de $\Sigma$ cationes, $\Sigma$ aniones y % error obtenidos para todas las muestras analizadas. ....	85
Tabla 10. Resultados de la prueba no paramétrica de rachas (n = 3). ....	87
Tabla 11. Comparación de los resultados obtenidos de la prueba no paramétrica de rachas para $\text{Na}^+$ y $\text{K}^+$ sobre el intervalo de linealidad originalmente propuesto con respecto al finalmente utilizado (n = 3). ....	89
Tabla 12. Resultados del análisis de regresión (n = 3). ....	90
Tabla 13. Evaluación de precisión para $\text{Na}^+$ y $\text{K}^+$ (n = 6). ....	91
Tabla 14. Evaluación de precisión para $\text{Ca}^{2+}$ y $\text{Mg}^{2+}$ (n = 6). ....	91
Tabla 15. Evaluación de la exactitud para $\text{Na}^+$ y $\text{K}^+$ (n = 6). ....	92
Tabla 16. Evaluación de la exactitud para $\text{Ca}^{2+}$ y $\text{Mg}^{2+}$ (n = 6). ....	92
Tabla 17. Valores de LD y LC de $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{Ca}^{2+}$ y $\text{Mg}^{2+}$ (n = 7). ....	92
Tabla 18. Recobros de los niveles evaluados para $\text{Na}^+$ (n = 5). ....	93
Tabla 19. Recobros de los niveles evaluados para $\text{K}^+$ (n = 5). ....	94
Tabla 20. Recobros de los niveles evaluados para $\text{Ca}^{2+}$ (n = 5). ....	94
Tabla 21. Recobros de los niveles evaluados para $\text{Mg}^{2+}$ (n = 5). ....	95
Tabla 22. Valores de pH, $\Lambda$ y TDS de las muestras de suelo analizadas. ....	98

<i>Número de tabla</i>	<i>página</i>
Tabla 23. Áreas y concentraciones de Na <sup>+</sup> y K <sup>+</sup> determinados con la columna catiónica C6.....	99
Tabla 24. Áreas y concentraciones de Ca <sup>2+</sup> y Mg <sup>2+</sup> determinados con la columna C4.....	101
Tabla 25. Áreas y concentraciones de Cl <sup>-</sup> y NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> determinados con la columna aniónica IC-Pak HR.....	103
Tabla 26. Áreas y concentraciones de los aniones PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> y SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> determinados con la columna aniónica IC-Pak HR.....	104
Tabla 27. Concentraciones de HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> y CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> determinados mediante potenciometría.....	106
Tabla 28. Máximos y puntos de equivalencia obtenidos con el método de la primera derivada.....	108
Tabla 29. Valores de área de los blancos de 5 mg/L de cada muestra.....	141
Tabla 30. Valores de área de los blancos de 50 mg/L de cada muestra.....	141
Tabla 31. Valores de área de los blancos de 70 mg/L de cada muestra.....	141
Tabla 32. Valores de área de los blancos de 100 mg/L de cada muestra.....	141

## Índice de ecuaciones

<i>Número de ecuación</i>	<i>página</i>
Ecuación 1. Tiempo de retención ajustado .....	24
Ecuación 2. Factor de retención .....	24
Ecuación 3. Factor de selectividad .....	25
Ecuación 4. Factor de selectividad a partir de los factores de retención .....	25
Ecuación 5. Factor de selectividad a partir de los tiempos de retención ajustados .....	25
Ecuación 6. Altura de plato a partir de un cromatograma .....	26
Ecuación 7. Número de platos .....	26
Ecuación 8. Número de platos a partir del ancho en la base .....	27
Ecuación 9. Número de platos a partir del ancho a la mitad del pico .....	27
Ecuación 10. Resolución .....	27
Ecuación 11. Equilibrio de intercambio aniónico para el anión A <sup>-</sup> .....	36
Ecuación 12. Equilibrio de intercambio aniónico para el anión B <sup>-</sup> .....	36
Ecuación 13. Constante de equilibrio del intercambio aniónico .....	36
Ecuación 14. Equilibrio de intercambio entre la fase estacionaria y la fase móvil. ....	37
Ecuación 15. Constante de equilibrio termodinámica del intercambio entre fases. ....	38
Ecuación 16. Constante de distribución. ....	38
Ecuación 17. Concentración de E <sup>y-</sup> en función de la capacidad de intercambio y la carga. ....	38
Ecuación 18. Conductividad de una disolución. ....	41
Ecuación 19. Conductividad molar de una disolución. ....	41
Ecuación 20. Conductividad en función de las conductividades iónicas de las especies constituyentes. ....	41
Ecuación 21. Conductividad de una disolución considerando todos los electrolitos presentes .....	41
Ecuación 22. Variación de la conductividad a causa del analito. ....	41
Ecuación 23. Sesgo. ....	59
Ecuación 24. Sesgo porcentual .....	59

Ecuación 25. Recuperación relativa de adiciones. ....	59
Ecuación 26. Recuperación aparente. ....	59
Ecuación 27. Porcentaje del coeficiente de variación. ....	69
Ecuación 28. Porcentaje de error en la determinación de exactitud.....	70
Ecuación 29. Límite de detección.....	70
Ecuación 30. Límite de cuantificación. ....	70
Ecuación 31. Recobros. ....	71
Ecuación 32. Primer punto de equivalencia. ....	83
Ecuación 33. Segundo punto de equivalencia.....	83
Ecuación 34. Porcentaje de error con base en el principio de electroneutralidad. ....	85

## Resumen

Se realizó la caracterización de 54 muestras de suelo provenientes del ex lago de Texcoco, Estado de México, mediante diversas técnicas analíticas. Con tal propósito, se prepararon disoluciones saturadas de éstas a partir de la metodología propuesta por Van Reeuwijk (2002), ya que ésta permite obtener el pH en condiciones de campo, y por ende, no requiere de ningún tipo de corrección o ajuste. Una vez obtenidas las disoluciones saturadas de cada muestra, se determinaron el pH, la conductividad eléctrica y los sólidos totales disueltos con el fin de tener un panorama general de las condiciones de los suelos analizados. A partir de dicha determinación, y junto con lo establecido por la NOM-021-RECNAT-2000, se encontró que las muestras de suelo analizadas provienen de suelos fuertemente alcalinos y muy altamente salinos. Posteriormente, con motivo de tener un panorama más detallado de las condiciones de los suelos estudiados, se realizó la cuantificación de los iones mayoritarios presentes en las muestras. Para la determinación de  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $PO_4^{3-}$  y  $SO_4^{2-}$  se utilizó la metodología de cromatografía aniónica reportada por Ramírez (2018). La cuantificación de  $HCO_3^-$  y  $CO_3^{2-}$  se realizó mediante valoraciones potenciométricas con el propósito de distinguir entre ambos, pues la metodología de cromatografía aniónica sólo determina bicarbonatos totales. Con respecto a la información obtenida a partir de estas dos determinaciones, las muestras de suelo analizadas presentan altos valores de  $Cl^-$  y  $SO_4^{2-}$ , valores significativos de  $HCO_3^-$  y  $CO_3^{2-}$ , y muy bajos contenidos de  $NO_3^-$  y  $PO_4^{3-}$ , no se detectó la presencia de  $F^-$  ni  $Br^-$ . Se determinaron  $Na^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$  mediante cromatografía catiónica con dos tipos de columnas analíticas, para  $Na^+$ ,  $NH_4^+$  y  $K^+$  se usó la metodología reportada por Galindo (2016), mientras que para  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$  se utilizó una basada en ésta, pero con diferente columna. Los resultados obtenidos a partir de estas determinaciones indican que las muestras provienen de suelos con muy altas concentraciones de  $Na^+$  y  $K^+$ , en cambio, poseen muy bajos contenidos de  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$ , no se detectó la presencia de  $NH_4^+$ . La calidad de los resultados obtenidos mediante las diferentes metodologías cromatográficas se evaluó, en primera instancia, con un balance iónico, cuyo criterio de aceptación fue un porcentaje de error  $\leq 10\%$  <sup>(39)</sup>, todas las muestras lo cumplieron. Por último, se realizó la validación de la metodología empleada en la determinación de  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$ , con tal propósito, se evaluaron las figuras de mérito clásicas como el intervalo de linealidad, precisión, exactitud, límites de detección y cuantificación, y recobros. Con base en los resultados obtenidos mediante esta validación, se puede afirmar que dicho método es lineal, preciso, exacto y se encuentra libre de interferencias.

## Introducción

Los suelos son cuerpos naturales de suma importancia para el planeta, pues están involucrados en todos sus procesos ecológicos, tienen un papel significativo en la mayoría de los ciclos biogeoquímicos, y son el hábitat de un gran cantidad de organismos y microorganismos. Uno de los roles más importantes que desempeñan los suelos en pro del ser humano es el que tiene en el ciclo de nutrientes, pues éste está directamente relacionado con la agricultura, actividad que genera productos de vasta importancia en diversos sectores, tales como el alimenticio, el farmacéutico, el energético, entre otros.

Otro papel muy importante de los suelos es el que juega en el ciclo de carbono, ya que aquellos suelos sanos y utilizados de manera sustentable ayudan significativamente a mitigar el cambio climático al atrapar carbono, disminuyendo así la emisión de gases de efecto invernadero a la atmósfera. Por el contrario, aquellos suelos pobremente administrados y/o cultivados mediante prácticas agrícolas no sustentables forman parte del problema, pues promueven la emisión del carbono almacenado en forma de dióxido de carbono hacia la atmósfera. El problema se agrava aún más al considerar las importantes pérdidas del carbono del suelo a nivel mundial causada por la constante pérdida de áreas verdes. No obstante, la restauración de aquellos suelos deteriorados junto con la adopción de prácticas agrícolas sustentables, representan un necesario intento para disminuir la emisión de gases de efecto invernadero derivados de la agricultura, de esta forma, también se aumenta la capacidad de estos para almacenar carbono, generando así una mayor resiliencia al cambio climático.

Debido a lo anteriormente mencionado, es preciso contar con metodologías analíticas validadas que realicen una determinación rápida, sencilla y confiable de los iones mayoritarios presentes en los suelos, de tal forma que, con la información obtenida a partir de dicha determinación, y junto con otros parámetros de los suelos concernientes a su administración y cultivo (pH, salinidad, etc.), se puedan implementar técnicas agrícolas más sustentables y amigables con el medio ambiente.

## Capítulo 1. Objetivos

### 1.1 Objetivo general

- Aplicar diversas técnicas analíticas para la caracterización de disoluciones saturadas de muestras de suelo con altos contenidos salinos.

### 1.2 Objetivos particulares

- Determinar pH,  $\Lambda$  y sólidos totales disueltos para tener un panorama general de las condiciones de los suelos.
- Determinar las concentraciones de  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $PO_4^{3-}$  y  $SO_4^{2-}$  por medio de cromatografía aniónica con el propósito de tener un panorama más detallado de los suelos con respecto a su componente aniónica.
- Determinar las concentraciones de  $HCO_3^-$  y  $CO_3^{2-}$  mediante valoraciones potenciométricas para distinguir entre ambas especies.
- Determinar las concentraciones de  $Na^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$  por medio de cromatografía catiónica utilizando dos tipos de columnas analíticas, con el motivo de contar con un panorama más detallado con respecto a la parte catiónica
- Validar la metodología de análisis utilizada para determinar los contenidos de  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$  por medio de Cl catiónica (columna C4) para garantizar la fiabilidad de los resultados obtenidos.

## **Capítulo 2. Antecedentes**

### **2.1 Suelos**

#### **2.1.1 Estudio y definición de suelo**

Al estudio del suelo como recurso natural, incluyendo su formación, clasificación, cartografía y propiedades, se le conoce como ciencia del suelo. Ésta también se encarga del estudio de la relación de estas propiedades con su uso y mantenimiento. Las dos ramas principales de la ciencia del suelo son la pedología y la edafología, la primera se encarga del estudio de éste en su ambiente natural, la pedosfera, y la segunda lo estudia desde el enfoque de su interacción con los seres vivos.

Debido a que el estudio del suelo tiene diferentes enfoques, como aquel de la geología, la ecología o la ingeniería, es difícil dar una definición general que abarque cada uno de ellos. No obstante, en el presente trabajo se utilizará la siguiente: “Es todo aquel material mineral no consolidado y/o materia orgánica presente en la superficie terrestre, que debido a la acción de diferentes factores ambientales a lo largo del tiempo, deviene en un producto (suelo) con propiedades y características físicas, químicas, biológicas y morfológicas distintas a las del material original” <sup>(1)</sup>. Una definición más sencilla es la que lo considera como una mezcla compleja de minerales, materia orgánica, líquidos, gases e incontables organismos que en conjunto son el soporte de la vida en la tierra <sup>(2)</sup>.

Otro concepto importante es el de perfil de suelo, éste se refiere a los suelos constituidos por dos o más capas, conocidas como horizontes, éstas difieren entre sí en una o más propiedades y se clasifican utilizando las letras O, A, B, C y E. La mayoría de los suelos presenta tres horizontes principales: el horizonte principal (A), el subsuelo (B) y el sustrato (C). Algunos pueden presentar un horizonte orgánico (O) en la superficie, aunque éste también puede encontrarse en horizontes de mayor profundidad. Por último, la letra E es utilizada para denominar a todos los horizontes subterráneos que presentan una pérdida significativa de materiales (eluviación) <sup>(3)</sup>.

#### **2.1.2 Formación, propiedades y clasificación de los suelos**

En esta sección se trata la formación de los suelos considerando que el suelo y su perfil se someten a los mismos procesos. Un suelo será distinto a otro de acuerdo con el lugar y la manera en que se formó, por lo tanto, cada uno será único. En su formación interactúan 5 factores principales, cabe destacar que estos factores no son independientes uno del otro e interactúan entre sí en mayor o menor medida, se enlistan a continuación:

1. Material parental
2. Clima



3. Organismos
4. Topografía
5. Tiempo

El material parental es aquel a partir del cual se forma el suelo, sobre él actúan los otros factores y diferentes procesos asociados a éste para formarlo, los materiales parentales pueden ser <sup>(4)</sup>:

- Minerales de la roca madre. De este tipo los más comunes son: cuarzo ( $\text{SiO}_2$ ), calcita ( $\text{CaCO}_3$ ), ortoclasa ( $\text{KAlSi}_3\text{O}_8$ ) y biotita ( $\text{K}(\text{Mg,Fe})_3(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})(\text{OH})_2$ ) <sup>(4)</sup>.
- Materiales transportados. Se refiere a los materiales (arena, rocas, etc.) que han sido transportados desde otros lugares debido a factores ambientales, tales como corrientes de aire y/o marinas y la gravedad.
- Material pedogénico del lugar. El suelo y/o sus componentes en proceso de formación ya existentes en el lugar.
- Materia orgánica. Toda materia orgánica generada por macro y microorganismos que se encuentra en proceso de descomposición.
- Material antropogénico. Hace referencia a todo aquel material generado por el ser humano, como vertederos y residuos mineros.

El material parental es transformado mediante procesos físicos, químicos, biológicos y ambientales, tales como el desgaste y la erosión. Como información adicional, su desgaste puede darse mediante desintegración física, causada principalmente por su expansión y contracción a causa de fluctuaciones de temperatura, abrasión causada por aire, fuego o hielo, y raíces de plantas. También se puede dar por descomposición y transformación química, mediante reacciones de hidrólisis, hidratación, carbonatación, oxidación y reducción de sus componentes <sup>(5)</sup>. De manera general, las propiedades que hereda el suelo del material parental son: composición química y mineralógica, y propiedades físicas tales como tamaño de grano y grado de consolidación.

El clima se encarga de regular, mediante la temperatura y la precipitación, la velocidad de los procesos físicos, químicos y biológicos involucrados en la formación del suelo. A altas temperaturas, la velocidad de las reacciones químicas incrementa, en cambio, con una alta precipitación los productos generados por la descomposición pueden moverse más rápido hacia zonas de mayor profundidad en el perfil. Por ende, los suelos se forman más rápido si el clima es húmedo y templado, mientras que se desarrollan lentamente si el clima es árido o frío.

Los organismos vivos, tales como plantas, insectos y microorganismos, juegan un papel importante en la formación del suelo. Las plantas capturan carbono mediante

el proceso de fotosíntesis, siendo éste la fuente esencial de toda la materia orgánica, ésta a su vez es reprocesada por insectos y microorganismos. Las raíces de las plantas también exudan ácidos orgánicos que juegan un rol importante en la descomposición química de muchos minerales.

La principal influencia de la topografía (relieve), es el impacto que ésta tiene en el movimiento de material causado por la erosión desde zonas de alta inclinación hasta áreas más bajas en el terreno. En los lugares donde los productos del suelo son removidos por erosión, habrá perfiles de suelo menos profundos, en cambio, donde los productos de la erosión se depositan, se observarán perfiles de suelo más profundos. Otro rol importante de la topografía es la influencia que ésta tiene en las características del drenaje del suelo, y por lo tanto, en la cantidad de agua presente en éste. Para ejemplificar, en sitios con buen drenaje, como laderas medias y superiores, se da una remoción completa por lixiviación y translocación de los materiales del suelo, un rasgo característico de estas zonas es su coloración roja o marrón rojiza, generada por la presencia de hierro (Fe) en forma de ion férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Por el contrario, en sitios con pocas o muy pobres características de drenaje, como laderas basales, fondos de valles y depresiones, se da una acumulación total de estos materiales, dichos sitios pueden permanecer húmedos por largos periodos de tiempo, lo que causa la hidratación del hierro, limitándose así su oxidación, e incluso generando un ambiente reductor que produce coloraciones azules o verdes debido a la presencia del ion ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ).

Finalmente, todos estos factores interactúan con el tiempo, cuando ha pasado poco tiempo, el suelo tendrá propiedades muy similares a aquellas del material parental, y contendrá a la mayoría de los minerales originales. Por otro lado, cuanto más avance el tiempo, éste empezará a presentar diferencias físicas y químicas con respecto al material parental, pudiendo presentarse el caso de que los minerales originales se hayan alterado y otros nuevos compongan los horizontes de suelo. Cabe destacar que estos procesos de formación son continuos, los componentes sufren un constante cambio, al mismo tiempo que se añaden nuevos se eliminan otros. Como ya se habrá podido observar, los 5 factores ya mencionados interactúan entre sí de manera conjunta y presentan una relación simbiótica entre cada uno para poder formar los suelos.

El suelo puede ser descrito y manejado en función de sus propiedades. A continuación se enlistan sus propiedades más relevantes:

1. Textura
2. Estructura
3. Color
4. Consistencia
5. Permeabilidad

La textura se refiere a la propiedad dada por la combinación de las partículas que componen la parte mineral del suelo, éstas son: arena, arcilla y limo. Poseen los siguientes tamaños:

- Arena (0.05 a 2 mm)
- Arcilla (0.002 a 0.05 mm)
- Limo (menor a 0.002 mm)

La arena y el limo constituyen la parte inactiva de la matriz del suelo, ya que no contribuyen a la habilidad del suelo para retener agua y nutrientes, mientras que la arcilla es la parte activa, dado que posee una gran área superficial por unidad de masa, esto debido a su pequeño tamaño y estructura en forma de hoja. En todos los suelos con componentes minerales, la suma de estas partículas siempre da 100 % <sup>(6)</sup>. Los suelos se pueden clasificar por su textura, a estas clasificaciones se les conoce como clases de textura, y se agrupan en un triángulo de textura basado en el porcentaje de cada partícula, dicho triángulo se muestra a continuación:

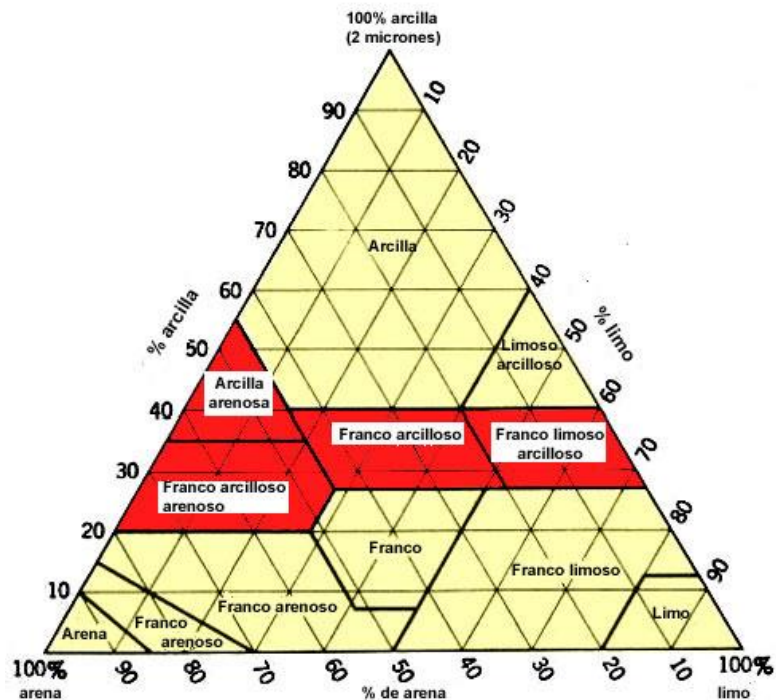


Imagen 1. Triángulo de textura. Imagen recuperada de [ftp://ftp.fao.org/fi/cdrom/fao\\_training/fao\\_training/general/x6706s/x6706s06.htm](ftp://ftp.fao.org/fi/cdrom/fao_training/fao_training/general/x6706s/x6706s06.htm)

En conjunto, estas partículas se conocen como la fracción de tierra fina y representan partículas inorgánicas del suelo menores a 2 mm de diámetro, cuando las partículas son más grandes se denominan fragmentos de roca. Como información adicional, aquellos suelos cuyo porcentaje de materia orgánica excede los valores dentro del intervalo de 20 - 35 % se les conoce como suelos orgánicos y no se pueden clasificar mediante este sistema <sup>(5)</sup>.

La estructura del suelo es el arreglo de las partículas de éste en unidades estructurales discretas conocidas como agregados o peds. Todas las partículas de suelo se unen para formar agregados, incluyendo a la materia orgánica <sup>(2)</sup>, estos tienen una forma específica que está en función de su composición y las

condiciones en las que se formaron. Se puede hacer una clasificación de los suelos de acuerdo con su estructura considerando la forma que estos presentan, ésta se muestra a continuación <sup>(5)</sup>:

- Granular. Los agregados presentan una forma aproximadamente esférica, se encuentran más comúnmente en horizontes A, donde las raíces de plantas, microorganismos y productos pegajosos generados por la descomposición de materia orgánica unen los granos de suelo en agregados granulares.
- Laminar. Los agregados tienen una forma laminar, se pueden encontrar en los horizontes A, B y C. En los horizontes A se forman principalmente por compactación.
- En bloques. Son agregados en forma de bloques aproximadamente cuadrados o angulares, cuyos bordes pueden tener una mayor o menor pronunciación. Este tipo de estructura es común en horizontes B, especialmente en suelos con un alto contenido de arcilla, son el resultado de la expansión y contracción de minerales arcillosos.
- Prismática y Columnar. Son agregados en forma de bloques largos elongados verticalmente, ya sea prismáticos o columnares. Por lo general se encuentran en horizontes arcillosos.

La estructura del suelo se correlaciona con la porosidad del suelo, pues ésta influye en la capacidad del suelo de permitir la retención y movimiento de fluidos como el agua y el aire. Para ejemplificar, suelos con estructura granular permiten que el agua circule fácilmente, mientras que suelos con estructura laminar dificultan su circulación <sup>(6)</sup>.

La coloración del suelo y la distribución de ésta en los perfiles de suelo son el producto de procesos químicos y físicos que actúan, de manera conjunta, sobre cuatro factores:

- Material mineral. Se refiere a los minerales provenientes del material parental, el hierro y manganeso son los de mayor importancia.
- Materia orgánica. La coloración del suelo también se ve afectada por el estado y la abundancia de la materia orgánica. Durante las distintas etapas de la descomposición de ésta, la coloración puede variar de café a negro. La coloración negra comúnmente es asociada a la última etapa de la materia orgánica (humus). Además, muchas bacterias reducen hierro y manganeso a partir de sus procesos metabólicos <sup>(7)</sup>.
- Naturaleza y abundancia de hierro. Los minerales de hierro son los que proveen la mayor y gran variedad de pigmentaciones en el suelo, éstas pueden ser roja, amarilla, verde, gris y variaciones de éste. Las diferentes

pigmentaciones dependerán de la naturaleza del hierro, si éste se encuentra en su forma oxidada ( $\text{Fe}^{3+}$ ) el suelo adquirirá coloraciones de tipo amarillo, café o rojo. En cambio, si se encuentra en su forma reducida ( $\text{Fe}^{2+}$ ), el suelo tendrá coloraciones verde, gris o gris azulado <sup>(5)</sup>.

- Contenido de humedad. La coloración del suelo oscurece conforme pasa de seco a húmedo, la coloración de los suelos y el cambio de ésta se relaciona con la cantidad de agua en el medio. En suelos con pobre drenaje, predominan coloraciones grises y gris-azulado, mientras que, en suelos con buen drenaje, predominan coloraciones uniformes y claras.

Los principales procesos son: erosión del material geológico, reacciones de oxidación y reducción en varios minerales, principalmente hierro y manganeso, y la bioquímica y descomposición de la materia orgánica <sup>(7)</sup>. Las principales pigmentaciones que puede adquirir un suelo son:

- Blanca. Adquirida principalmente por la presencia de silicio (proveniente de cuarzo) y/o sales.
- Roja. Generada principalmente por la acumulación de óxido de hierro.
- Café y Negro. Indica el tipo y el grado de descomposición de la materia orgánica, la pigmentación negra también puede ser causada por la acumulación de minerales de Mn <sup>(7)</sup>.

La coloración es un indicativo de la cantidad de minerales en los suelos y de sus propiedades, además, puede dar información acerca de los procesos que ocurren en estos, por ende, esta propiedad es de suma importancia al momento de clasificarlos y manejarlos. Para su estudio y descripción se utiliza la notación del sistema Munsell, pues ésta permite realizar una comparación directa en cualquier parte del mundo. El sistema consiste de tres componentes: tono (un color en específico), valor (claridad u oscuridad) y saturación (intensidad). Estos componentes se encuentran organizados en libros que contienen fichas de colores, de tal forma que un suelo pueda ser comparado con estas fichas para encontrar su color correspondiente, así como su notación <sup>(7)</sup>.

La consistencia es la resistencia que presenta el suelo a deformarse o romperse y está determinada por las propiedades cohesivas y adhesivas de sus agregados. Ésta depende del contenido de humedad, por lo que es posible hacer tres distinciones con respecto a ella: consistencia húmeda, mojada y seca, no obstante, estas descripciones se obtienen de acuerdo con la facilidad de los agregados a deformarse bajo la presión generada por un pulgar, razón por la que resulta un tanto cualitativa <sup>(5)</sup>. Para descripciones más exactas se utilizan los límites de Atterberg, que corresponden al contenido de humedad con el que una muestra de suelo cambia de una consistencia a otra, éstas se enlistan a continuación:

- Líquida. El suelo tiene forma de barro fluido o líquido.
- Plástica. El suelo se puede amasar o moldear.
- Semisólida. El suelo ya no se puede moldear y su volumen disminuye a medida que la muestra se seca.
- Sólida. El suelo es un sólido.

Los límites de Atterberg de mayor interés son: el límite líquido (LL), que se define como el porcentaje de contenido de humedad con el que un suelo cambia al disminuir ésta, de la consistencia líquida a la plástica, o al aumentar ésta, de la consistencia plástica a la líquida, y el límite plástico (LP), que es el porcentaje de contenido de humedad con el que un suelo cambia al disminuir ésta, de la consistencia plástica a la semisólida, o al aumentar ésta, de la semisólida a la plástica <sup>(9)</sup>. La consistencia de los suelos da indicios de su textura y es de suma importancia en aplicaciones agrícolas y de construcción.

Por último, la permeabilidad de un suelo es la propiedad que tiene éste para transportar agua y aire, y está determinada por el tamaño de poro, la textura y su estructura. Se mide en términos de velocidad o coeficiente de permeabilidad, y se expresa en cm por unidad de tiempo <sup>(8)</sup>.

Los suelos se clasifican de acuerdo con un rango de propiedades en común (sean físicas, químicas y/o biológicas) y al uso destinado del mismo. Los principales sistemas de clasificación son los siguientes:

- Taxonomía del suelo

Sistema de clasificación desarrollado por El Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA), publicado por primera vez en 1975 y sometido a varias revisiones desde entonces. Elaborado principalmente con fines agronómicos, trata de clasificar a todos los suelos del mundo, pero se enfoca principalmente en los suelos de Estados Unidos <sup>(10)</sup>. Tiene una amplia aceptación internacional, principalmente en países de Latinoamérica y Asia.

- Sistema FAO/UNESCO

Elaborado por La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO por sus siglas en inglés) en 1968. En 1988 se publicó una revisión de éste, siendo finalmente reemplazado por la Base de Referencia Mundial en 1998. Es un sistema muy simple, pero fue el primero en hacer una clasificación internacional, muchos de los términos de ésta son conocidos en muchos países y poseen significados similares. Este sistema estaba constituido por una clasificación de los suelos a escala continental <sup>(11)</sup>.

- Base de referencia mundial

Sistema de clasificación internacional avalado por La Unión Internacional de las Ciencias del Suelo (IUSS por sus siglas en inglés), se elaboró mediante colaboración internacional coordinada por el grupo de trabajo de dicha institución. Este sistema de clasificación toma conceptos tanto de la Taxonomía del Suelo como del sistema FAO/UNESCO, de tal forma que permite, en la medida de lo posible, correlacionarlos <sup>(12)</sup>.

En México se manejan los primeros dos sistemas, el primero con fines agronómicos y el segundo principalmente en cartografía <sup>(13)</sup>, a continuación se hará una descripción más detallada del primer sistema. La Taxonomía del suelo es un sistema de clasificación jerárquico de seis niveles:

- Orden

El orden de suelo es la clasificación más general y también la categoría más alta. Existen 12 órdenes, cada uno basado en una o dos propiedades dominantes (físicas, químicas y biológicas) que lo diferencian claramente de los demás.

- Suborden

Es el siguiente nivel de clasificación, se enfoca más en características como la humedad y otros factores ambientales, hay 47 subórdenes dentro de los 12 órdenes. Los nombres de los subórdenes están constituidos por dos sílabas, la primera connota las propiedades de diagnóstico, la segunda es el elemento formativo del nombre del orden del suelo.

- Gran Grupo

El siguiente nivel es el gran grupo, éste permite realizar descripciones más específicas de un suelo, puesto que denota el ordenamiento de los horizontes de éste, se han definido un total de 230 de estos niveles para los 47 subórdenes. El nombre de un gran grupo consiste del nombre del suborden y un prefijo que connota las propiedades de diagnóstico.

- Subgrupo

El subgrupo es el nivel que sigue, existen tres tipos de subgrupos:

1. El subgrupo típico que representa el concepto central de un gran grupo.
2. Los grados internos, que son formas transicionales a otros órdenes, subórdenes o grandes grupos.



3. Los grados externos, los cuales poseen propiedades que no son representativas de un gran grupo y no indican transiciones.

- Familias

Son el siguiente nivel, los suelos se clasifican en familias de acuerdo con la presencia o ausencia de propiedades químicas y físicas importantes para el crecimiento de plantas, y no son necesariamente indicativas de algún proceso en particular. Las propiedades incluyen: distribución del tamaño de partícula, mineralogía debajo de la capa de arado, régimen de temperatura y espesor de la zona de enraizado. Existen miles de familias.

- Series

Son el último nivel de clasificación y la categoría más baja, las series son agrupaciones de los suelos con base en propiedades estrictamente definidas y relacionadas al tipo y ordenamiento de los horizontes de suelo, como su color, textura, estructura y consistencia. También considera propiedades químicas y mineralógicas de los horizontes. A las series se les dan nombres de lugares locales y existen decenas de miles de ellas.

Como ya se mencionó, los órdenes son la categoría más alta de clasificación, por lo que se describirán con mayor detalle a continuación. Los órdenes tienen la terminación “sol”, ésta proviene del latín “solum”, cuyo significado es suelo o tierra, también tienen raíces que dan información acerca de un suelo en particular, por ejemplo “molisol”, cuya raíz latina es “mollis”, que significa suave. A continuación se enlistan los 12 órdenes de suelo <sup>(13)</sup>:

- Gelisol. Son los suelos de campos de hielo y montañas escarpadas.
- Histosol. Es el orden asignado a aquellos suelos jóvenes, ricos en materia orgánica, húmedos y frecuentemente ácidos.
- Spodosol. Es la denominación designada a los suelos jóvenes y ácidos, presentes en bosques de coníferas frescos y húmedos.
- Andosol. Son suelos de origen volcánico, son porosos.
- Oxisol. Es el orden dado a los suelos de trópicos húmedos y cálidos, están muy intemperizados y delgados, son ácidos e infértiles.
- Vertisol. Es la denominación asignada a suelos de mediana edad y arcillosos, que cuando están secos son quebradizos y se hinchan con la humedad.



- Aridisol. Son suelos de mediana edad que provienen de regiones secas, tienen coloraciones claras y son arenosos, poseen bajo contenido de materia orgánica.
- Ultisol. Es el orden designado para suelos muy viejos, con baja cantidad de nutrientes y altamente intemperizados, se encuentran en zonas montañosas.
- Molisol. Es la designación dada a aquellos suelos de migajón suave y coloración oscura, se forman en pastizales y tienen un alto contenido de materia orgánica.
- Alfisol. Son suelos de bosques, son relativamente fértiles, tienen color café y presentan altas cantidades de Al y Fe.
- Inceptisol. Es el orden asignado para suelos jóvenes de regiones árticas y/o montañosas, están ligeramente intemperizados.
- Entisol. Es la denominación atribuida a suelos jóvenes de clima seco o frío, son pálidos y tienen poco contenido de materia orgánica.

### **2.1.3 Composición del suelo**

De manera general, el suelo está constituido en un 50 % por sólidos y en el otro 50 % por espacios ocupados por agua y/o gases. Los suelos se componen de 4 constituyentes principales:

- Minerales. Proviene del material parental, su superficie sirve como sitio potencial para almacenamiento de nutrientes.
- Materia Orgánica. Generada mediante la descomposición de organismos y microorganismos. A la materia orgánica con mayor grado de descomposición se le conoce como humus y sirve como fuente de nutrientes.
- Agua. De la atmósfera y como producto de reacciones en el suelo (químicas, físicas y microbiales). Constituye el medio de transporte de los nutrientes en el suelo.
- Aire/Gases. Provenientes de la atmósfera y generados por reacciones efectuadas en las raíces de plantas, microorganismos y compuestos químicos en el suelo. Los principales gases presentes en el suelo son N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>, se toma al O<sub>2</sub> como ejemplo para ilustrar la importancia de estos, puesto que permite la respiración tanto de raíces de plantas como de microorganismos.

Por lo general, el porcentaje de cada componente en un suelo típico es: 45 % de minerales, 5 % de materia orgánica, 20 -30 % de agua y 20 -30 % de aire y/o gases.

La fase sólida del suelo (minerales y materia orgánica), generalmente es estable en el ambiente y no presenta variaciones significativas, mientras que la cantidad relativa de líquidos y gases en el suelo varía constantemente. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los suelos son cuerpos complejos y dinámicos, por lo que su composición puede variar diariamente, dicha variación depende de numerosos factores, tales como el suministro de agua, las prácticas de cultivo y el tipo de suelo <sup>(14)</sup>.

Los suelos se dividen en dos categorías de acuerdo con su contenido de materia orgánica, aquellos suelos que tienen menos de un 20 % de carbono orgánico se consideran suelos minerales, mientras que los que tienen más del 20 % de carbono orgánico se conocen como suelos orgánicos. Los suelos minerales ocupan el 95 % de la superficie terrestre mundial <sup>(15)</sup>.

#### **2.1.4 Química del suelo**

A la parte de la ciencia del suelo que estudia la composición, las propiedades y las reacciones químicas del suelo se le conoce como química del suelo. A continuación se mencionan y explican algunos conceptos importantes de esta rama.

##### **a. Coloides del suelo**

Los coloides son soluciones que contienen dos fases, una de ellas, denominada fase dispersa, está constituida por partículas dentro del intervalo de 1 - 1 000 nanómetros, éstas a su vez se encuentran suspendidas en otra sustancia conocida como fase continua. Las propiedades de los coloides contribuyen en gran medida a la química del suelo, debido a su pequeño tamaño, estos poseen una alta área superficial y tienen superficies cargadas (con cargas tanto positivas como negativas), esto les permite adsorber iones, mantener la estructura del suelo y retener agua. Las partículas de arcilla y el humus son ejemplos de coloides presentes en el suelo.

##### **b. Solución del suelo**

Al agua que se encuentra en el suelo se le denomina generalmente como solución del suelo. En ella se encuentran diversos materiales disueltos, como iones (cationes y aniones) y coloides. Dicha solución es el medio de transporte y almacenamiento de los nutrientes, también se encarga de renovar la cantidad de estos mediante el transporte de los nutrientes adsorbidos en los coloides hacia la solución.

##### **c. pH del suelo**

El pH es el cologaritmo de la actividad de los iones  $H^+$ , sin embargo, por cuestiones de practicidad, en este trabajo se definirá como el cologaritmo de la concentración molar de dichos iones, por ende, el pH de un suelo es exclusivamente aquel de la solución del suelo. El pH de un suelo depende del material parental y de los

procesos de desgaste que ocurrieron sobre él, tales como clima, vegetación, topografía y tiempo. Los suelos se pueden clasificar de acuerdo con su valor de pH, los suelos con valores de pH dentro del intervalo de 6.5 a 7.5 son considerados neutros, suelos cuyo valor de pH es menor a 6.5 son considerados ácidos, mientras que aquellos con valor de pH mayor a 7.5 se consideran alcalinos. El pH del suelo afecta en la cantidad de nutrientes y sustancias que se encuentran solubles en la solución del suelo, por lo cual la disponibilidad de estos varía en función del pH <sup>(17)</sup>.

#### **d. Determinación de pH**

El pH es una de las propiedades más comúnmente determinadas en análisis de rutina, pues éste se encarga de controlar una gran cantidad de reacciones. Por lo tanto, es de vital importancia determinarlo, ya sea para obtener un primer diagnóstico en términos de productividad o únicamente con fines de clasificación. La determinación de pH se realiza mediante potenciometría en una matriz acuosa, pudiendo ser ésta agua o una solución salina diluida, cabe destacar que la medición en agua proporciona el valor más cercano al valor de pH de la solución de suelo en condiciones de campo, especialmente en suelos con baja conductividad eléctrica y/o sin fertilizar. Sin embargo, éste puede variar con respecto a la dilución, es decir, la relación suelo:agua, siendo la más utilizada 1:2.5, como información adicional, para suelos con alto contenido de materia orgánica se utilizan otros factores de dilución, los más comunes son 1:5 o 1:10.

La determinación en una matriz salina diluida elimina el problema generado por el cambio considerable en el pH causado por la presencia de altos contenidos de sales, junto con aquel derivado del enmascaramiento de la variación estacional de pH, sin embargo, con la adición de la sal, éste disminuye aproximadamente 0.5 unidades en comparación con él medido en agua. Para ejemplificar aún más el punto anterior, en estudios de correlación de suelos, se prefiere utilizar una disolución de  $\text{CaCl}_2$  como matriz debido a que las mediciones serán menos dependientes del historial de fertilizaciones recientes. Es importante mencionar que el método adecuado para determinar el pH depende fuertemente del objetivo del análisis, por ejemplo, si se desean comparar datos obtenidos con aquellos de la literatura, estos deben obtenerse utilizando el mismo método, en cuyo caso se prefiere el método de  $\text{CaCl}_2$ , en cambio, si sólo se requiere conocer la cantidad de algún elemento de interés en condiciones de campo, el método predilecto es aquel con agua como matriz. Lo anteriormente expuesto es la razón por la que no existe un método más idóneo que otro, ni una ventaja decisiva al momento de elegir cuál utilizar. Finalmente, las disoluciones salinas más utilizadas son de  $\text{KCl}$  o de  $\text{CaCl}_2$  <sup>(18)</sup>. En el presente trabajo se utilizó como matriz agua en proporción 1:2.5, pues provee el valor de pH más cercano al del suelo en condiciones de campo, al mismo tiempo que da una idea de la posible especiación de los elementos de interés.

#### **e. Intercambio Iónico y Capacidad de Intercambio Catiónico y Aniónico**

Debido a las cargas presentes en las superficies de los coloides del suelo, estos tienen la capacidad de retener iones, ya sean cationes o aniones. En estos

predomina una carga negativa, por lo que poseen una mayor capacidad para retener cationes, pero también puede haber sitios con carga para retener aniones, aunque su retención será menor. Al intercambio establecido entre los iones adsorbidos en los coloides y aquellos que se encuentran en la solución de suelo se le conoce como intercambio iónico. Se denomina como Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) a la capacidad de un suelo para atraer, retener e intercambiar cationes, y representa una medida de su capacidad de suministrar nutrientes a la solución de suelo para su uso por las plantas, se reporta en miliequivalentes por cada 100 gramos de suelo (meq/100 g) <sup>(19)</sup>.

Los factores que influyen en la CIC de los suelos son <sup>(18)</sup>:

- Cantidad y tipo de partículas de arcilla. La CIC puede variar de acuerdo con el tipo de arcilla, pero de manera general, a mayor cantidad de arcilla, mayor es la CIC.
- Cantidad de materia orgánica. Mayor cantidad de materia orgánica implica una mayor CIC.
- pH. La CIC del suelo varía con el pH, al aumentar éste, también aumenta el número de cargas negativas en los coloides del suelo, lo que incrementa la CIC.

Un suelo con mayor valor de CIC no es necesariamente más fértil, puesto que la CIC también puede estar dada por cationes ácidos como el  $Al^{3+}$  y el  $H^+$ . Sin embargo, en conjunto con otras medidas de fertilidad de los suelos, ésta es un buen indicador de la calidad y productividad de un suelo. Como información adicional, al porcentaje de cationes básicos que contribuyen a la CIC, usualmente  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$  y  $Na^+$ , se le conoce como saturación de base. Aquellos suelos con altas saturaciones de base son considerados más fértiles, puesto que los cationes que contribuyen a ella son nutrientes requeridos por las plantas. Por lo general, la saturación de base es 100 % cuando el pH es mayor a 6.5 <sup>(18,19)</sup>.

En contraste a la CIC, la Capacidad de Intercambio Aniónico (CIA) es la capacidad de un suelo de atraer, retener e intercambiar aniones, y se reporta de la misma forma que la CIC (meq/100 g). El factor que más influye en la CIA es el pH, la mayoría de las partículas de arcilla contienen sitios de intercambio negativos, por lo que únicamente a valores bajos de pH pueden presentar CIA. La materia orgánica tiene sitios de intercambio tanto positivos como negativos, y por lo general presenta CIA a valores de  $pH \leq 2$ . El pH de la mayoría de los suelos productivos por lo general es demasiado alto, por lo que la CIA juega un rol menor en el suministro de nutrientes para las plantas. Los nutrientes que generalmente son suministrados en forma de aniones son: nitrógeno ( $NO_3^-$ ), fósforo ( $HPO_4^{2-}$ ), azufre ( $SO_4^{2-}$ ), cloro ( $Cl^-$ ) y molibdeno ( $MoO_4^-$ ) <sup>(18)</sup>.

## **Determinación de iones intercambiables y de la capacidad de intercambio iónico**

El principio de los métodos para determinar los iones intercambiables, y por ende, la capacidad de intercambio iónico de los suelos, es el de saturar dicho intercambio con un ion capaz de forzar la migración de los iones presentes en la superficie del suelo hacia la solución de suelo. En la determinación de los iones intercambiables, la elección del ion de saturación dependerá de los iones a cuantificar, sin embargo, estos deben reemplazar de manera efectiva a aquellos presentes en los sitios de intercambio y no deben interferir con análisis subsecuentes.

Para la mayoría de los suelos el KCl es un buen extractante si no se requiere determinar  $K^+$ , también se puede utilizar NaCl. Otra opción es el  $CH_3COONH_4$ , éste resulta útil en determinaciones espectrométricas porque ambos iones volatilizan, y por lo tanto, no se acumulan en los quemadores. El  $BaCl_2$  es una alternativa viable para extraer simultáneamente  $NH_4^+$  y  $K^+$ . Para metales traza, como Pb y Cu, se utilizan extractantes especiales que no se mencionarán en este trabajo, no obstante, para la mayoría de cationes ( $NH_4^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , etc.) y aniones ( $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$ , entre otros), cualquiera de los extractantes mencionados funciona adecuadamente. Debido al principio ya mencionado, es posible determinar los iones intercambiables con diferentes técnicas analíticas, por lo tanto, la elección de cuál utilizar dependerá de quien requiera el análisis. Sin embargo, existen las siguientes consideraciones: para los iones  $NH_4^+$ ,  $NO_3^-$  y  $Si^{IV+}$  se recomienda el uso de técnicas colorimétricas, cromatografía de iones para  $SO_4^{2-}$  y espectrometría de absorción atómica o de emisión atómica para otros cationes.

En cuanto a la capacidad de intercambio iónico (aniónico o catiónico), ésta puede calcularse mediante la suma de las concentraciones de los iones individuales, tales métodos se conocen como métodos de suma, o por medio del desplazamiento del ion de saturación con una disolución concentrada de una sal, de tal forma que el intercambio iónico es la cantidad del ion desplazado, a dichos métodos se les conoce como métodos de desplazamiento. En análisis de rutina y comparación usualmente se utilizan los métodos de suma <sup>(18,19)</sup>.

## **Determinación de la CIC y cationes intercambiables**

Por lo mencionado en el apartado anterior, los métodos reportados en la literatura para determinar la CIC también permiten determinar los cationes intercambiables (de ser necesario). Determinar la CIC es complicado, pues esta propiedad se ve afectada por el pH y la fuerza iónica de la solución de suelo, especialmente en suelos altamente erosionados y/o ricos en óxidos e hidróxidos de Al y Fe, y arcilla. Los métodos tradicionales, como el método de acetato de amonio, ajustan el pH a 7, lo que puede dar valores erróneos, en cambio, el método de intercambio con  $BaCl_2$  evita los problemas relacionados con el pH y la fuerza iónica, pero es muy laborioso <sup>(19)</sup>. A continuación se tratarán con mayor detalle estos métodos, junto con una alternativa viable para realizar esta determinación.

## **Método del acetato de amonio**

Este método fue propuesto por Metson en 1956 <sup>(20)</sup>, y es uno de los más ampliamente utilizados alrededor del mundo, pues es de fácil implementación para la mayoría de los laboratorios de análisis de suelos. El método ha sufrido varias adaptaciones desde entonces, principalmente en cuanto al número de extracciones y al uso de filtración, o centrifugación, para separar las fases generadas. Éste consiste en mezclar el suelo con un exceso de disolución de acetato de amonio 1 M, esto resulta en un intercambio de los cationes presentes en el suelo por  $\text{NH}_4^+$ , cuyo exceso se remueve con etanol, de tal forma que la cantidad de  $\text{NH}_4^+$  intercambiado representa la CIC <sup>(21, 22)</sup>. Su principal desventaja es que ajusta el pH del suelo a 7, por lo que sólo dará valores “exactos” para suelos con dicho valor de pH. En suelos ácidos y/o con dependencia de la CIC con el pH, dará valores por encima de la CIC del suelo, en cuyo caso se recomienda el uso de otros métodos <sup>(23)</sup>.

En cuanto a la determinación de los cationes intercambiables, el método establece que estos se pueden determinar después de la primera extracción, las técnicas más utilizadas son espectrometría de absorción y/o emisión atómica <sup>(24)</sup>.

## **Método de intercambio con $\text{BaCl}_2$**

Una primera versión de este método fue propuesta por Gillman (1979), y fue modificada por él y Sumpter en 1986, tras varias adaptaciones, el método fue estandarizado en 1994 bajo la referencia ISO 11260. Éste consiste en saturar el suelo con una disolución 0.1 M de  $\text{BaCl}_2$ , las fases generadas se separan mediante centrifugación, posteriormente, se satura la fase sólida con  $\text{MgSO}_4$  para generar el intercambio de Ba por Mg y la precipitación del primero como  $\text{BaSO}_4$ , el contenido residual de éste se determina mediante espectrometría de absorción atómica y se resta del valor inicial, obteniéndose así la CIC <sup>(23)</sup>. De ser necesario, el sobrenadante se puede colectar para determinar los cationes intercambiables mediante espectrofotometría.

Este método es el que recomienda la Sociedad de la Ciencia del Suelo de América (SSSA por sus siglas en inglés) debido a su alta repetibilidad, precisión y cuantificación directa de la CIC de un suelo, siendo su principal ventaja la de determinarla al pH y fuerza iónica del suelo. La desventaja es que es un método con largos tiempos de análisis y genera residuos peligrosos, tampoco es fácilmente adaptable a la mayoría de los laboratorios de análisis de suelos y puede que sólo sea ofrecido por laboratorios académicos <sup>(23)</sup>.

## **Método del tricloruro de hexaaminocobalto**

El uso del ion hexaaminocobalto (Cohex) como ion de desplazamiento fue descrito por Morel (1957) <sup>(25)</sup>, y desde entonces ha sido adaptado para su uso con fines agronómicos para el análisis de suelos tropicales, incluso fue estandarizado en Francia en 1985. En este apartado se mencionan las generalidades del método con base en los resultados obtenidos por H. Ciesielski et al. (1997) <sup>(24)</sup>. En dicho método, el intercambio se lleva a cabo agitando la porción de muestra en el reactivo (ion



Cohex), se recomienda que para 100 mL de reactivo se usen muestras de suelo de 2.5 - 10 g, de tal forma que haya un exceso suficiente del ion en disolución, éste puede ser determinado por espectrocolorimetría sin la necesidad de ningún pretratamiento químico de la disolución, la pérdida de dicho ion representa la CIC de la muestra. Los cationes intercambiables se determinan mediante espectrometría de absorción y/o emisión atómica de flama.

De acuerdo con un estudio comparativo de estos tres métodos llevado a cabo por H. Ciesielski et al. (1997) <sup>(21)</sup>, los métodos que utilizan BaCl<sub>2</sub> y el ion Cohex como agentes de intercambio son equivalentes, por lo que este último resulta ser una alternativa viable.

## **Determinación de la CIA y aniones intercambiables**

A diferencia de la CIC, la CIA juega un rol muy poco significativo en la administración de nutrientes a las plantas, por lo que la mayoría de los métodos reportados en la literatura para determinar la CIC son utilizados también en la determinación de la CIA. Estos sugieren los mismos tratamientos de muestra, seguidos de una posterior cuantificación de los aniones mediante diferentes técnicas instrumentales (cromatografía iónica es la más común), lo que permite determinar la CIA mediante el método de suma. Sin embargo, son escasos los métodos reportados en la literatura para determinar aniones intercambiables y la CIA, y en el mejor de los casos, estos se enfocan en cuantificar algún elemento en particular, como P o B, así como a su CIA. Por esta razón, y por el papel poco significativo que juega la CIA en el suministro de nutrientes a las plantas, no se tratarán con mayor detalle.

### **2.1.5 Importancia de los suelos**

Los suelos son de gran importancia para todos los procesos ecológicos del planeta. Participan significativamente en la mayoría de los ciclos biogeoquímicos, por ejemplo, en el ciclo del agua funge como medio de infiltración, almacenamiento y transpiración, en el ciclo del nitrógeno, éste es convertido por las bacterias del suelo en compuestos de mayor utilidad para los seres vivos, en el ciclo del carbono juega un rol vital, pues la mayoría del carbono en la atmósfera proviene de procesos biológicos del suelo, finalmente, en el ciclo de nutrientes se encarga del almacenamiento, transporte y conversión de estos en formas útiles para las plantas <sup>(26)</sup>. Además de lo ya mencionado, los suelos proveen una gran variedad de servicios al ecosistema y al ser humano, algunos de los cuales se enlistan a continuación <sup>(1,26)</sup>:

- Proveen un medio para el crecimiento de vida vegetal.
- Fungen como sistemas de filtración y remediación de contaminantes.
- Son sistemas de suministro y purificación del agua.
- Reciclan nutrientes y materia orgánica.
- Constituyen el hábitat de una gran variedad de organismos y microorganismos.
- Sirven como medio de ingeniería.

Uno de los roles del suelo de mayor interés para el ser humano es aquel que desempeña en el ciclo de nutrientes, pues éste está directamente relacionado con la agricultura, actividad que genera productos de suma importancia en diversos sectores de la sociedad (alimenticio, farmacéutico, energético, etc.). Los nutrientes de mayor importancia para el crecimiento de las plantas son 17, tres de ellos son el C, H y O, estos se encuentran en el aire y el agua, mientras que los 14 restantes provienen del suelo, siendo los de mayor demanda el N, P y K (macronutrientes primarios), seguidos por Mg, Ca y S (macronutrientes secundarios), y los ocho faltantes son el B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni y Zn (micronutrientes), cabe destacar que en su mayoría se suministran en forma iónica. Otro factor de interés en el crecimiento de las plantas es la salinidad del suelo, ésta está dada por los iones  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Cl}^-$ , cuanto mayor sea la salinidad, mayor será su efecto negativo en el crecimiento de las plantas. Considerando todo lo ya mencionado, es evidente la importancia de contar con metodologías confiables y sencillas para determinar aniones y cationes en suelos, no sólo para estimar y/o optimizar su productividad, sino también para utilizar los datos generados con fines de clasificación. La conservación, restauración y optimización de los suelos constituye uno de los mayores retos para la humanidad en el siglo XXI <sup>(26)</sup>.

## 2.2 Cromatografía

### 2.2.1 Definición y clasificaciones

La cromatografía es un método físico de separación en el que los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales es fija (fase estacionaria), mientras que la otra se mueve en una dirección definida (fase móvil). La separación se efectúa mediante alguno de los siguientes mecanismos: adsorción, partición, intercambio iónico, exclusión molecular y afinidad. Sin importar mediante qué mecanismo se dé la separación, ésta se logra debido a la afinidad de los componentes por la fase estacionaria y/o la fase móvil <sup>(27)</sup>.

A continuación, se trata con mayor detalle cada una de las fases anteriormente mencionadas <sup>(27)</sup>:

- **Fase Estacionaria.** Es una de las dos fases que constituyen el sistema cromatográfico, puede ser un sólido, líquido o gel. De ser líquido, se puede encontrar distribuido sobre un sólido que puede que sea parte del proceso de separación. El líquido también puede estar enlazado químicamente al sólido, en cuyo caso es una fase enlazada, o puede estar inmovilizado sobre éste, teniéndose así una fase inmovilizada. En ocasiones se utiliza el término lecho cromatográfico para referirse a las diferentes formas en las que se encuentra la fase estacionaria.
- **Fase Móvil.** Es la otra fase del sistema cromatográfico, ésta se filtra a través o a lo largo de la fase estacionaria con una dirección definida. Puede ser un líquido, en cuyo caso a la técnica cromatográfica se le conoce como



cromatografía de líquidos, un gas, en este caso se le denomina como cromatografía de gases, o un fluido supercrítico, cuyo nombre es cromatografía de fluidos supercríticos.

Las técnicas cromatográficas también se pueden clasificar en función del procedimiento de separación, dicha clasificación se muestra a continuación <sup>(27)</sup>:

- **Cromatografía Frontal.** Procedimiento en el que la muestra se suministra continuamente en el lecho cromatográfico, no hace uso de fase móvil adicional.
- **Cromatografía de Desplazamiento.** Es el procedimiento donde la fase móvil contiene un compuesto (el desplazador) más fuertemente retenido que los componentes de la muestra a examinar. La muestra se suministra al sistema en una sola adición.
- **Cromatografía de Elución.** Consiste en el procedimiento en el que la fase móvil se hace pasar de manera continua a través o a lo largo del lecho cromatográfico, la muestra se suministra al sistema en una sola adición.

Existe una clasificación con base en la forma de la fase estacionaria, ésta se menciona a continuación <sup>(27)</sup>:

- **Cromatografía en columna.** Técnica de separación cuya fase estacionaria se encuentra dentro de un tubo. Si las partículas de ésta ocupan todo el volumen del tubo, se tiene una columna empacada. En cambio, si éstas están concentradas sobre o a través de la pared interior del tubo de tal forma que hay un camino abierto y libre para la fase móvil a la mitad, se trata de una columna tubular abierta.
- **Cromatografía plana.** Consiste en la técnica de separación cuya fase estacionaria se encuentra como o sobre un plano, éste puede ser un papel impregnado con una sustancia que funge como fase estacionaria, o una capa de partículas sólidas dispersas sobre un soporte. Ejemplos de cada caso son la cromatografía en papel y en capa fina, respectivamente.

También existe una clasificación con base en el mecanismo de separación, a continuación se describe brevemente cada uno de ellos <sup>(28)</sup>:

- **Cromatografía de adsorción.** La cromatografía de adsorción fue la primera técnica cromatográfica, está constituida por una fase estacionaria sólida y una fase móvil que puede ser líquida o gaseosa. Los solutos se separan conforme a su adsorción en la fase estacionaria y su solubilidad en la fase móvil, aquel que esté mejor adsorbido, o el menos soluble, se transportará más lentamente, dándose así la separación. Cabe destacar que la

interacción del soluto con ambas fases se encuentra en equilibrio. Un ejemplo de este tipo de cromatografía es la cromatografía en capa fina.

- **Cromatografía de partición o de reparto.** En este tipo de cromatografía la fase estacionaria es un líquido no volátil soportado en forma de capa delgada (o película) sobre la superficie de un sólido inerte, mientras que la mezcla a separar es transportada por la fase móvil, líquida o gaseosa. Los componentes se distribuyen en ambas fases y la separación se da de acuerdo con la diferencia de solubilidades de los componentes en las mismas, siendo el más soluble en la fase móvil el primero en salir del sistema cromatográfico. Un ejemplo de este tipo de cromatografía es la cromatografía en papel.
- **Cromatografía de intercambio iónico.** Similar a la cromatografía de reparto con respecto a la fase estacionaria. Ésta es una resina de intercambio iónico cuyo arreglo está constituido por iones enlazados de manera covalente a ella, junto con iones de la carga opuesta enlazados de manera electrostática a la superficie. Cuando la fase móvil (siempre líquida) pasa a través de la resina, los iones enlazados electrostáticamente se liberan conforme son reemplazados por otros iones, la separación se da con base en las diferentes afinidades a dicho intercambio de cada componente de la muestra. En la actualidad, a la cromatografía de intercambio iónico que hace uso de columnas de alta eficiencia y de detectores conductimétricos o espectroscópicos, se le conoce como cromatografía de iones. Este tipo de cromatografía se tratará con mayor detalle en otro apartado.
- **Cromatografía de exclusión molecular.** Este tipo de cromatografía difiere de las anteriormente descritas ya que no existe un estado de “equilibrio” entre la fase estacionaria y el soluto. En cambio, la mezcla a separar, ya sea en forma de gas o líquida, pasa a través de un gel poroso. El tamaño de poro está diseñado para permitir el libre paso de moléculas grandes de soluto y retrasar el avance de las más pequeñas, entre más pequeñas sean, más tardarán en salir del sistema cromatográfico, generándose así la separación.
- **Cromatografía de afinidad.** En este tipo de cromatografía la separación se realiza de acuerdo con las interacciones altamente específicas entre un tipo de moléculas y una segunda molécula unida covalentemente (inmovilizada) a la fase estacionaria. Este tipo de cromatografía se utiliza frecuentemente en la separación y purificación de proteínas.

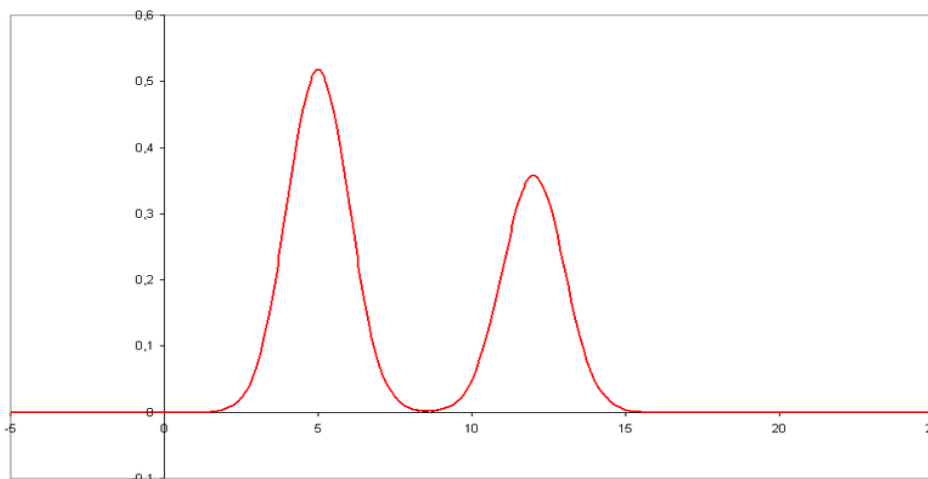
## 2.2.2 Parámetros cromatográficos

Un análisis ideal por cromatografía es todo aquel que se realiza en el menor tiempo posible y con la mejor resolución posible, por lo que es necesario considerar los parámetros relacionados al comportamiento del sistema cromatográfico, ya sean aquellos relacionados con la interacción de los analitos con la fase estacionaria, y/o

los involucrados en la eficiencia de la columna. Algunos conceptos importantes se mencionan a continuación <sup>(29)</sup>:

- Cromatograma

Si al final de una columna se coloca un detector capaz de responder a la concentración del analito y se registra su señal en función del tiempo o volumen de fase móvil añadido, se obtiene un gráfico como el que se muestra a continuación:



*Imagen 2. Cromatograma mostrando dos picos separados. Imagen recuperada de [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Rt\\_5\\_12.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Rt_5_12.png)*

A dicho gráfico se le conoce como cromatograma y resulta de gran utilidad en análisis cualitativo como cuantitativo, por ejemplo, los picos en el eje del tiempo pueden utilizarse para identificar componentes en una muestra, mientras que el área bajo los mismos proporciona una medida cuantitativa de la cantidad de cada componente. A partir del cromatograma se pueden obtener los parámetros cromatográficos típicos.

- Rendimiento de la columna.

Para dos especies A y B que se separan por cromatografía, donde B es el componente más retenido, se observará que conforme descienden por la columna, la distancia entre las bandas correspondientes a cada uno aumenta, al mismo tiempo, se da un ensanchamiento de ambas zonas, lo que disminuye la eficiencia de la columna. Dicho ensanchamiento es inevitable, pero se pueden encontrar condiciones en las que éste ocurra más lentamente, por lo general es posible distinguir claramente a las especies, siempre y cuando la columna sea lo suficientemente larga. Con el fin de lograr mejores separaciones es necesario optimizar tanto las variables que incrementan la velocidad de separación de la banda como aquellas que disminuyen la velocidad de ensanchamiento de ésta, dichas variables son conocidas como parámetros cromatográficos, los cuales se mencionan a continuación <sup>(29)</sup>:

- Tiempo muerto ( $t_0$ )

A menudo la muestra o fase móvil contienen una especie que no es retenida por la columna, de ser el caso, esta especie puede añadirse para facilitar la identificación de los picos. Se denomina tiempo muerto al tiempo necesario para que la especie no retenida recorra la columna y llegue al detector, constituye una medida de la velocidad de migración promedio de la fase móvil, razón por la que es un parámetro importante para identificar los picos del analito. En otras palabras, es el tiempo en el que la fase móvil recorre la columna.

- Tiempo de retención ( $t_r$ )

Es el tiempo en el que la fase móvil, junto con los componentes de la muestra, recorre la columna y llega al detector, es decir, es el tiempo de elución de los componentes siendo transportados por la fase móvil. Se conoce como tiempo de retención ajustado ( $t_r'$ ) al producto que se obtiene de la siguiente ecuación:

$$t_r' = t_r - t_0$$

*Ecuación 1. Tiempo de retención ajustado.*

$t_r'$  representa el tiempo de interacción de cada componente de la muestra con la fase estacionaria.

- Factor de retención ( $k$ )

El factor de retención es un parámetro experimental de gran importancia, y es utilizado frecuentemente para comparar las velocidades de migración de los solutos en las columnas. Su gran utilidad se debe a que, para una combinación dada de soluto, fase móvil y fase estacionaria, cualquier columna de cualquier forma que funcione a cualquier tasa de flujo de fase móvil dará el mismo factor de retención. Este factor se puede obtener a partir de un cromatograma utilizando la siguiente ecuación:

$$k = \frac{t_r - t_0}{t_0}$$

*Ecuación 2. Factor de retención.*

Un factor de retención menor a la unidad es evidencia de que el soluto emerge de la columna en un tiempo cercano al tiempo muerto, es decir, el soluto casi no se retiene. Por otro lado, factores de retención del orden de 20

a 30 (o mayores) conllevan tiempos de elución excesivamente largos. Para efectuar la separación, se recomienda que ésta se realice en condiciones en las que los factores de retención para los solutos en una mezcla oscilen entre 1 y 10.

- Factor de selectividad ( $\alpha$ )

El factor de selectividad representa la capacidad de una columna de diferenciar a los componentes en una muestra, para una columna que separa dos solutos A y B, dicho factor está dado por la siguiente ecuación:

$$\alpha = \frac{K_B}{K_A}$$

*Ecuación 3. Factor de selectividad.*

Donde  $K_B$  es la constante de distribución para la especie más fuertemente retenida (B), y  $K_A$  es la constante de distribución para la especie menos retenida (A), en consecuencia,  $\alpha$  es siempre mayor a la unidad, de ser igual a 1, es indicio de que la columna no es capaz de diferenciar a los componentes. Es posible obtener  $\alpha$  de un cromatograma haciendo uso de la siguiente ecuación:

$$\alpha = \frac{k_b}{k_a}$$

*Ecuación 4. Factor de selectividad a partir de los factores de retención.*

Donde  $k_b$  y  $k_a$  son los factores de retención de B y A, respectivamente. Al sustituir  $k$  dado por la ecuación 2 y eliminar los términos en común, se obtiene la siguiente expresión:

$$\alpha = \frac{(t_r)_B - t_0}{(t_r)_A - t_0}$$

*Ecuación 5. Factor de selectividad a partir de los tiempos de retención ajustados.*

- Pico Cromatográfico

Se puede observar en la imagen 2 que los picos de elución son muy similares a las curvas de error normal, donde las últimas pueden entenderse al suponer que la incertidumbre asociada con cualquier medición individual es la suma de un gran número de pequeñas incertidumbres, aleatorias e individualmente indetectables, donde cada una tiene igual probabilidad de ser positiva o negativa. En analogía, la forma característica del pico cromatográfico se atribuye a la combinación aditiva de los movimientos aleatorios de las

diversas moléculas a medida que descienden por la columna. Los parámetros relacionados al pico cromatográfico son el ancho en la base (W) y el ancho a la mitad del pico ( $W_{1/2}$ ), ambos se pueden obtener directamente del cromatograma. En el análisis cuantitativo se prefiere el uso del área del pico sobre la altura de éste como medida de la concentración de los componentes en una mezcla, esto debido a que las áreas son independientes de los efectos de ensanchamiento.

- Altura de plato (H)

El origen de este término y el de la cantidad de platos teóricos (N), surgió del estudio teórico realizado por Martin y Synge, en éste consideraron a la columna cromatográfica como una columna de destilación constituida por numerosas capas angostas, distintas pero contiguas, que nombraron platos teóricos. En esta teoría se proponía un estado de equilibrio del soluto entre las fases móvil y estacionaria, de tal forma que su descenso por la columna fuera una transferencia por etapas de fase móvil equilibrada de un plato al siguiente. La teoría explica satisfactoriamente la forma gaussiana de los picos cromatográficos y su velocidad de desplazamiento por la columna, pero no justifica el ensanchamiento de los picos de una forma mecanicista. Ésta se sustituyó por la teoría de velocidad, pues ésta explica las formas y anchos de las bandas de elución en términos cuantitativos, considerando un mecanismo de avance aleatorio para la migración de las moléculas a través de la columna. Por no ser el propósito de este texto, no se describirá con mayor detalle dicha teoría. Cabe destacar que al estar la fase móvil en constante movimiento no es posible alcanzar un estado de equilibrio. La altura de plato se puede obtener a partir de un cromatograma utilizando la siguiente ecuación:

$$H = \frac{LW^2}{16t_r^2}$$

*Ecuación 6. Altura de plato a partir de un cromatograma.*

Donde L es la longitud del relleno de la columna (cm), W es el ancho de base y  $t_r$  es el tiempo de retención. Para finalizar, este parámetro indica la distancia a la que el analito establece una interacción con la columna.

- Número de platos (N)

El número de platos o cantidad teórica de platos indica el número de interacciones de los analitos con la columna, y se relaciona con la altura de plato mediante la siguiente ecuación:

$$N = \frac{L}{H}$$

*Ecuación 7. Número de platos.*

Es posible obtener este parámetro a partir de un cromatograma utilizando las siguientes ecuaciones:

$$N = 16 \left( \frac{t_r}{W} \right)^2$$

*Ecuación 8. Número de platos a partir del ancho en la base.*

$$N = 5.54 \left( \frac{t_r}{W_{\frac{1}{2}}} \right)^2$$

*Ecuación 9. Número de platos a partir del ancho a la mitad del pico.*

Algunos investigadores consideran más adecuado utilizar la ecuación 9 para calcular N, no obstante, es importante señalar que las ecuaciones dadas para calcular H y N se basan en picos cromatográficos gaussianos, por lo que sólo son aproximaciones. Finalmente, la eficiencia de una columna aumenta cuanto mayor es el número de platos y cuanto menor es la altura del plato.

- Resolución ( $R_s$ )

La resolución de una columna indica que tan separadas están dos bandas en relación con sus anchos, es decir, la distancia entre los picos cromatográficos, y proporciona una medida cuantitativa de la capacidad de la columna para separar dos analitos A y B. Este parámetro se puede obtener con la siguiente ecuación:

$$R_s = \frac{2[(t_r)_B - (t_r)_A]}{W_A + W_B}$$

*Ecuación 10. Resolución.*

La resolución ideal es de 1.5, puesto que permite una separación esencialmente completa de A y B, donde el traslape de los picos cromatográficos para ambas especies es de 0.3 %. Para una fase estacionaria dada, se puede mejorar la resolución al aumentar el largo de la columna, sin embargo, también incrementan los tiempos de separación.

La separación cromatográfica se mejora al variar las condiciones experimentales hasta que los componentes de una mezcla se separan con claridad en el menor tiempo posible. Los experimentos de optimización tienen como objetivo reducir el ensanchamiento de banda, o modificar las velocidades relativas de la migración de los componentes. En la búsqueda de las condiciones óptimas para la mejor separación, es necesario considerar que los parámetros fundamentales  $\alpha$ ,  $k$ , N o H, pueden ajustarse en mayor o menor medida de manera independiente. Por lo general, la manera más fácil de modificar  $\alpha$  y  $k$  es variando la temperatura o cambiando la composición de la fase móvil, otra opción menos conveniente es

cambiar el relleno de la columna, en cuanto a N, resulta evidente que habrá una mejor resolución si se aumenta el número de platos, no obstante, esto puede generar tiempos más largos de análisis.

### **2.2.3 Cromatografía de líquidos**

La cromatografía de líquidos tiene como fase móvil un líquido, mientras que la fase estacionaria es usualmente un sólido inerte como sílica gel o alúmina, empaquetado en tubos de acero de determinado diámetro y longitud. En esta técnica se utiliza un amplio número de disolventes como fase móvil, incluyendo hidrocarburos, compuestos aromáticos, alcoholes, cetonas, ésteres, etc., y mezclas de ellos, la elección del disolvente ideal se hace mediante experimentos a pequeña escala con cromatografía en capa fina. La eficiencia de la separación aumenta al disminuir el tamaño de partícula de la fase estacionaria, pues el componente se equilibra más rápido con ambas fases, no obstante, a menor tamaño, mayor será la acción capilar. Al perfeccionarse la técnica para producir y utilizar empaques de tamaño de partícula del orden de 3 a 10  $\mu\text{m}$ , se consiguió un aumento significativo en la eficiencia de las columnas, pero también aumentó la presión necesaria para filtrar la fase móvil a través de la columna. Con el fin de diferenciar estos procedimientos que trabajan con altas presiones de los métodos originales, se les dio la denominación de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR). Es importante mencionar que desde este punto cada que se hable de cromatografía de líquidos será del tipo CLAR, ésta se tratará con mayor detalle en el siguiente apartado <sup>(28,29)</sup>.

### **2.2.4 Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR)**

La cromatografía de líquidos es la técnica de separación más utilizada, esto se debe a su sensibilidad, capacidad de realizar determinaciones cuantitativas exactas, facilidad de automatización, aplicabilidad en especies no volátiles o termolábiles, y principalmente en sustancias de gran importancia en la industria, ciencia y en la sociedad en general. Como ya se mencionó, este tipo de cromatografía utiliza fases estacionarias con muy pequeños tamaños de partícula, esto genera que la separación sea tan eficiente que sea innecesario utilizar columnas largas, por lo general, éstas tienen una longitud de 10 a 30 cm, con un diámetro interno de 4 mm <sup>(44)</sup>. Con el fin de alcanzar flujos razonables con rellenos de tamaño de partícula entre 3 y 10  $\mu\text{m}$ , se requieren presiones de cientos o miles de atmósferas, razón por la que el equipo necesario para la cromatografía de líquidos tiende a ser más complejo y caro que el utilizado en otros tipos de cromatografía, a continuación se enlistan los componentes básicos de un sistema de CLAR <sup>(29)</sup>:

- Recipientes para almacenamiento de la fase móvil y sistemas de tratamiento del disolvente y forma de entrega

Un aparato moderno de CLAR está equipado con uno o más recipientes de vidrio o plástico que contienen a la fase móvil o disolvente. Suelen contar con un sistema para eliminar los gases disueltos y el polvo de los líquidos, pues



estos ocasionan flujos inestables, ensanchamiento de bandas e interfieren con el funcionamiento de la mayoría de los detectores. Los desgasificadores pueden ser sistemas de bombeo por vacío, sistemas de destilación, dispositivos para calentar y agitar los disolventes, o bien, sistemas de purga, frecuentemente, estos contienen un dispositivo de filtración para evitar dañar la bomba, los sistemas de inyección o la obturación de la columna. Sin embargo, no es necesario que ambos sean parte del sistema de CLAR, los disolventes pueden filtrarse a través de una membrana de tamaño de poro muy pequeña (0.45  $\mu\text{m}$ ) antes de introducirlos en el recipiente, eliminando así los gases y la materia en suspensión.

Existen diversas formas de suministrar la fase móvil, al tipo de elución que utiliza un solo disolvente o mezcla de estos, cuya composición es constante a lo largo de todo el proceso cromatográfico, se le conoce como elución isocrática. A la elución que hace uso de dos o más sistemas de disolventes, cuya diferencia en polaridad es notable y varían en composición durante la separación, se le denomina elución con gradiente. En esta última, la variación se hace de manera programada, puede ser de manera continua o en una serie de etapas, los instrumentos modernos usualmente están equipados con válvulas de alimentación que introducen los disolventes desde dos o más recipientes a una velocidad que varía de forma continua. Por último, la relación de volumen de los disolventes se puede modificar lineal o exponencialmente con el tiempo.

- **Sistemas de bombeo**

Los requisitos que deben de cumplir las bombas en CLAR se enlistan a continuación:

1. Generación de altas presiones de hasta 6 000 psi.
2. Salida libre de pulsos.
3. Tasas de flujo de 0.1 a 10 mL/min.
4. Reproducibilidad del flujo de 0.5 % relativo o mejor.
5. Componentes resistentes a la corrosión.

En CLAR se utilizan dos tipos de bombas, la del tipo jeringa accionada por tornillo (de desplazamiento) y la del tipo reciprocante, esta última se utiliza en la mayoría de los cromatógrafos modernos. Las bombas de desplazamiento por lo general están constituidas por grandes cámaras similares a las de una jeringa, equipadas con un émbolo que se activa mediante un mecanismo de tornillo accionado por medio de un motor de etapas. Estas bombas producen flujos que tienden a ser independientes de la viscosidad del disolvente y de la contrapresión de la columna, además de estar libres de pulsos. Como desventajas tienen su limitada capacidad de disolvente (~250 mL) y las dificultades que presenta al cambiar del mismo. En cuanto a las bombas reciprocantes, éstas consisten de una pequeña cámara en la que el disolvente se impulsa por el movimiento de vaivén de un pistón accionado

por un motor. Con el motivo de controlar el flujo, estas bombas cuentan con dos válvulas de globo unidireccionales que se abren y cierran de manera alternada. Es importante mencionar que en este tipo de bomba el disolvente está en contacto directo con el pistón. Una desventaja de estas bombas es la de producir un flujo pulsado que se tiene que amortiguar porque los pulsos se manifiestan como ruido en la línea base del cromatograma, en la actualidad los instrumentos de CLAR están equipados con cabezas dobles para las bombas o levas elípticas para reducir al mínimo dichos pulsos. Las ventajas que presentan estas bombas son su pequeño volumen interno (35 a 400  $\mu$ L), sus altas presiones de salida (hasta 10 000 psi), su fácil adaptación a la elución con gradiente, su gran capacidad de disolvente y sus flujos constantes, que son prácticamente independientes de la contrapresión y de la viscosidad.

Como parte del sistema de bombeo, muchos instrumentos comerciales cuentan con dispositivos controlados por computadora que permiten medir la tasa de flujo mediante la determinación de la caída de presión a través de un constrictor colocado en la salida de la bomba. Cualquier posible diferencia entre la señal y un valor preestablecido se utiliza para aumentar o disminuir la velocidad del motor de la bomba. De la misma forma, la mayoría de los instrumentos pueden variar la composición del disolvente de manera continua o escalonada.

- Sistemas de inyección de muestra

Uno de los factores limitantes en la precisión de las mediciones en cromatografía es la reproducibilidad con la que se pueden inyectar las muestras, dicho problema se acentúa por el ensanchamiento de banda relacionado con el tapón o sobrecarga de inyección. Por lo cual, los volúmenes de muestra deben de ser muy pequeños ( $\mu$ L), además de que es necesario introducirla sin despresurizar el sistema. El medio más utilizado para realizar esta tarea se basa en los rizados de muestreo, con frecuencia estos dispositivos forman parte del equipo cromatográfico, existen rizados intercambiables que permiten la elección de tamaños de muestra desde 1 hasta 100  $\mu$ L o más, con dichos rizados es posible introducir la muestra a presiones de hasta 7 000 psi con una desviación estándar relativa de unas décimas porcentuales.

En la actualidad, la mayor parte de los cromatógrafos se venden con autoinyectores capaces de inyectar muestras en el cromatógrafo a partir de frascos colocados en un carrusel o desde placas microtituladoras. Dichas unidades comúnmente contienen rizados de muestreo y una bomba de jeringa para inyectar volúmenes desde menos de 1  $\mu$ L hasta más de 1 mL. Algunos también poseen medios controlados por temperatura para facilitar el almacenamiento de la muestra y efectuar reacciones de derivación antes de inyectarla. La mayoría de los equipos se pueden programar para facilitar las inyecciones automáticas en el sistema cromatográfico.

- Columnas para CLAR

Por lo general, las columnas utilizadas en CLAR se construyen con tubos de acero inoxidable de diámetro uniforme, en algunas ocasiones se fabrican con tubos de vidrio de paredes resistentes o con polímeros como el poliétercetona, también existen columnas de acero inoxidable cuyo interior está recubierto con los materiales ya mencionados. Existen diversas columnas de diferentes precios y rellenos, aquellas que no son para un uso especial y cuyas dimensiones son estándares, pueden costar entre 200 a más de 500 dólares, en cambio, las columnas con un uso específico, como las quirales, pueden llegar a costar más de 1 000 dólares.

#### *Columnas analíticas*

La gran mayoría de las columnas para CLAR miden de 5 a 25 cm de largo, su forma es invariablemente recta, y en ocasiones es posible alargarlas acoplando dos o más de ellas. Por lo regular, el diámetro interior de las columnas analíticas es a menudo de 3 a 5 mm, y los tamaños de partícula de los rellenos más comunes son de 3 ó 5  $\mu$ m. Las columnas más utilizadas tienen dimensiones de 10 a 15 cm de longitud y 4.6 mm de diámetro interno, con rellenos de tamaño de partícula de 5  $\mu$ m, este tipo de columna es capaz de generar de 40 000 a 70 000 platos/metro (alrededor de 10 000 platos/columna).

Existen también microcolumnas cuyas dimensiones varían de 3 a 7.5 cm de longitud de 1 a 4.6 mm de diámetro interior, con rellenos de tamaño de partícula de 3 a 5  $\mu$ m. Dichas columnas alcanzan hasta 100 000 platos/metro y presentan la ventaja de la rapidez y el consumo mínimo del disolvente en el análisis. La última propiedad es de considerable importancia, puesto que los disolventes de alta pureza requeridos para esta técnica son caros y se desechan después de usarse.

#### *Precolumnas*

Con motivo de aumentar la vida de la columna analítica, por lo regular se coloca una precolumna, la cual elimina tanto la materia en suspensión y los contaminantes de los disolventes, como los componentes de la muestra que se unen de manera irreversible a la fase estacionaria. La composición del relleno de la precolumna debe ser semejante al de la columna analítica, pero el tamaño de partícula es mayor para minimizar la caída de presión. Al contaminarse la precolumna, ésta se vacía y se rellena de nuevo, o se reemplaza por una nueva del mismo tipo, sacrificándose así para proteger a la columna analítica de mayor precio.

En la mayoría de las aplicaciones no es necesario tener un control riguroso de la temperatura, razón por la que las columnas trabajan a temperatura ambiente. Sin embargo, en muchas ocasiones es posible obtener mejores cromatogramas, más reproducibles, cuando la temperatura de la columna se mantiene constante. Por

este motivo, la mayoría de los instrumentos comerciales modernos están equipados con calentadores que controlan la temperatura de la columna con décimas de grado, desde la ambiental hasta 150 °C. También se puede controlar la temperatura con precisión al colocar las columnas en camisas con agua proveniente de un baño a temperatura constante. Muchos operadores de cromatógrafos consideran que el control de la temperatura es un factor esencial para lograr separaciones reproducibles.

- Tipos de relleno de la columna

En CLAR se utilizan dos tipos básicos de rellenos, pelicular y de partícula porosa. Las partículas peliculares originales eran cuentas esféricas de vidrio o de polímero no porosas cuyos diámetros característicos eran de 30 a 40  $\mu\text{m}$ , en la superficie de éstas se depositaba la fase estacionaria, ya fuera una fina capa porosa de sílice, de alúmina, o bien, una resina de intercambio iónico. Éstas fueron remplazadas completamente por las micropartículas porosas, sin embargo, en años recientes se han reintroducido los rellenos peliculares para separar proteínas y biomoléculas grandes. Los rellenos de partículas porosas característicos en CLAR están formados por micropartículas porosas cuyos diámetros varían entre 3 y 10  $\mu\text{m}$ , las partículas pueden ser de sílice, alúmina, de resinas sintéticas de poliestireno-divinilbenceno o de resinas de intercambio iónico. La sílice es el material de relleno más común en cromatografía de líquidos.

- Detectores

Las características de un detector ideal para CLAR se enlistan a continuación:

1. Sensibilidad adecuada.
2. Buena estabilidad y reproducibilidad.
3. Respuesta lineal para los solutos que se extiende a varios órdenes de magnitud.
4. Tiempo de respuesta corto independiente de la tasa de flujo.
5. Compatibilidad con el flujo de líquidos.
6. Volumen interno mínimo.
7. Alta confiabilidad y manejo sencillo.
8. No debe destruir la muestra.

Desafortunadamente, no existe un detector que cubra con todas estas características. En CLAR existen dos tipos básicos de detectores, están aquellos sensibles a una propiedad de la fase móvil, como el índice de refracción, la constante dieléctrica, la densidad, etc., y es modulada por la presencia de los solutos. Por otra parte, los detectores basados en una propiedad del soluto responden a alguna característica de éste, como la absorbancia UV, fluorescencia o corriente de difusión, las cuales no son

inherentes de la fase móvil. Los detectores más comúnmente utilizados en CLAR se mencionan a continuación:

#### *Detectores de absorción UV-visible*

Estos detectores pueden ser de un solo haz o de doble haz, también se pueden clasificar en detectores de absorción con filtros y detectores de absorción con capacidad de barrido, sin embargo, en la actualidad los primeros han sido completamente reemplazados por los segundos. En cuanto a la región de trabajo, existen los que se limitan a la radiación ultravioleta, y hay aquellos que abarcan la radiación ultravioleta y visible.

#### *Detectores de absorción en el infrarrojo*

Comercialmente se ofrecen dos tipos de detectores en el infrarrojo, de filtro y de transformada de Fourier, los segundos siendo de una instrumentación mucho más compleja. Varios fabricantes de instrumentos IR con transformada de Fourier ofrecen accesorios que permiten su uso como detectores en CLAR, sus principales limitaciones son: la baja transparencia de los disolventes utilizados, el rápido deterioro de los materiales de la celda por la fase móvil, y los deficientes límites de detección de muchos de los solutos.

#### *Detectores de fluorescencia*

Los detectores de fluorescencia para CLAR son similares en diseño a los fluorómetros y espectrofluorómetros utilizados de manera independiente. Los detectores más sencillos hacen uso de una fuente de excitación de mercurio y uno o más filtros para aislar una banda de la radiación emitida, mientras que los instrumentos más complejos están constituidos por una fuente de xenón y emplean un monocromador de red para aislar la radiación fluorescente. La fluorescencia inducida por rayo láser también se usa debido a su sensibilidad y selectividad. Una ventaja inherente a los métodos de fluorescencia es su alta sensibilidad, la cual es un orden de magnitud mayor que la de los procedimientos de absorción.

#### *Detectores de índice de refracción*

En un detector diferencial de índice de refracción, el disolvente en su camino hacia la columna pasa por la mitad de la celda, mientras que el eluyente de la columna pasa por la otra mitad, ambos compartimentos se encuentran separados por una placa de vidrio montada a un ángulo tal que se produce una desviación del haz incidente si las dos disoluciones tienen distintos índices de refracción. Las ventajas de este tipo de detectores son que responden a casi todos los solutos, son confiables y no dependen de la tasa de flujo. Sin embargo, son muy sensibles a los cambios de temperatura, razón por la cual tienen que estar a temperatura constante hasta unas pocas

milésimas de grado, no son tan sensibles como otros detectores y son incompatibles con los métodos de elución con gradiente.

#### *Detector de la dispersión de la luz tras la evaporación*

Es uno de los detectores más reciente para CLAR, en éstos el efluente de la columna pasa a un nebulizador donde se transforma en una fina niebla mediante un flujo de nitrógeno o aire. Las finas gotitas se conducen por un tubo a temperatura controlada, donde ocurre la evaporación de la fase móvil, generando así finas partículas del analito, la nube de dichas partículas pasa a través de un haz láser y finalmente la radiación dispersada se detecta en dirección perpendicular al flujo por medio de un fotodiodo de silicio. Las ventajas de estos detectores son su respuesta casi igual para todos los solutos y su sensibilidad notablemente mayor que la del detector de índice de refracción. La desventaja es que las composiciones de la fase móvil están limitadas sólo a componentes volátiles.

#### *Detectores electroquímicos*

Actualmente los fabricantes de instrumentos ofrecen detectores electroquímicos de varios tipos, como amperométricos, voltamperométricos, coulombimétricos y conductimétricos. Aunque los procedimientos electroanalíticos no han sido explorados tanto como los ópticos, en muchos de los casos ofrecen una elevada sensibilidad, sencillez, conveniencia y una inmensa aplicabilidad. Sin embargo, su principal limitación es su incompatibilidad con la elución con gradiente. Los detectores conductimétricos se tratan con mayor detalle a continuación por ser el medio de detección utilizado en el presente trabajo.

#### *Detectores conductimétricos*

Los detectores conductimétricos son el detector de elección en cromatografía de intercambio iónico, el sensor de dicho detector es el más simple de todos, éste consiste de dos electrodos situados en una celda de flujo adecuada. En un circuito eléctrico, estos están ordenados como el componente de impedancia en un brazo de puente de Wheatstone, cuando los iones se mueven dentro del sensor de la celda, la impedancia eléctrica cambia, y la señal fuera de balance se suministra a un circuito eléctrico adecuado. Esta señal no tiene una relación inherentemente lineal con la concentración del ion en la celda, por lo que, el circuito eléctrico modifica la respuesta del detector para proveer una señal que esté linealmente relacionada con la concentración del ion. Es importante mencionar que es necesario aplicar un voltaje de corriente alterna en los electrodos, esto con fin de evitar la polarización de estos, puesto que si ésta ocurriese, no sería posible determinar la conductividad. Por lo general, la frecuencia del potencial de corriente alterna es de 10 kHz <sup>(30)</sup>.



## *Detectores espectrométricos de masas*

En espectrometría de masas se requiere de una muestra en fase gaseosa, razón por la que al aplicarse en conjunto con la cromatografía de líquidos, es necesario eliminar la mayor parte del disolvente, considerando esto, se han desarrollado varios dispositivos para resolver el problema del retiro del disolvente y de la interferencia de la columna. Las fuentes de ionización más comunes son la ionización por electroaspersión y la ionización química a presión atmosférica. La combinación de CLAR con espectrometría de masas resulta en una alta selectividad, dado que los picos no resueltos se pueden aislar al supervisar sólo una masa seleccionada, también proporciona huellas dactilares de un producto particular sometido a elución en vez de confiar en el tiempo de retención, por último, dicha combinación permite obtener masa molecular, información estructural y análisis cuantitativo exacto.

En CLAR el tipo de cromatografía más ampliamente utilizado es la cromatografía de reparto, sin embargo, también se aplican otros tipos de cromatografía como la cromatografía de exclusión por tamaño, de afinidad, y de intercambio iónico, esta última se trata en el siguiente apartado.

### **2.2.5 Cromatografía de Intercambio Iónico (CI)**

- **Definición**

La cromatografía iónica (CI) se refiere a todos los métodos cromatográficos del tipo CLAR de intercambio iónico, de exclusión de iones y de formación de par iónico. En la actualidad a la cromatografía de intercambio iónico se le conoce como cromatografía iónica, mientras que los otros dos métodos se consideran como aplicaciones más especializadas de ésta. En el presente trabajo sólo se tratará la cromatografía de intercambio iónico por ser la técnica de análisis utilizada. Ésta se basa en los procesos de intercambio iónico establecidos entre los iones de una disolución y una sustancia sólida de elevada masa molecular esencialmente insoluble que contiene grupos funcionales capaces de retenerlos. Estas sustancias se conocen como intercambiadores iónicos, pueden ser naturales, como las arcillas y las zeolitas, o resinas sintéticas. Los sitios activos más comunes presentes en las resinas de intercambio catiónico son los grupos de ácido sulfónico ( $-\text{SO}_3^- \text{H}^+$ ) y de ácido carboxílico ( $-\text{COO}^- \text{H}^+$ ), mientras que los intercambiadores aniónicos por lo general contienen grupos amino terciarios fuertemente básicos ( $-\text{NR}_3^+ \text{OH}^-$ ) o grupos amino primarios débilmente básicos ( $-\text{NH}_3^+ \text{OH}^-$ ).

- **Fundamento**

En teoría, los iones con la misma carga pueden ser intercambiados de manera completamente reversible entre las dos fases, este proceso de intercambio genera una condición de equilibrio, en el que el desplazamiento hacia un lado u otro dependerá de la afinidad de los iones participantes hacia los grupos funcionales de la fase estacionaria. Debido a la condición de electroneutralidad, siempre existe un

contraion de la carga opuesta enlazado al grupo funcional de dicha fase, dicho ion usualmente proviene de la fase móvil y por lo tanto se le conoce como ion eluyente. A continuación se presenta un diagrama que ejemplifica los procesos de intercambio catiónico y aniónico, los iones del analito están marcados como A<sup>+</sup> y A<sup>-</sup>, y los iones eluyentes como E<sup>+</sup> y E<sup>-</sup>:

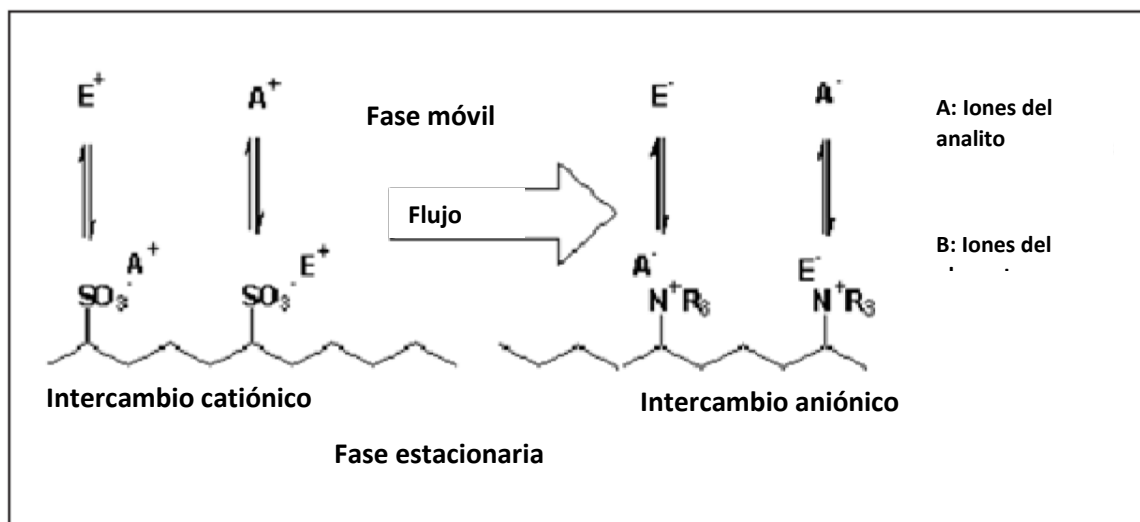
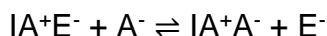
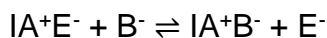


Imagen 3. Procesos de intercambio catiónico y aniónico. Imagen recuperada de IC Practical Metrohm pdf (31).

Si a una resina de intercambio aniónico (los grupos funcionales se representan como IA<sup>+</sup> para mayor facilidad) se añade una muestra que contiene iones A<sup>-</sup> y B<sup>-</sup>, estos desplazarán brevemente a los iones eluyentes E<sup>-</sup> y serán retenidos por los grupos funcionales de la resina antes de ser intercambiados nuevamente por iones E<sup>-</sup>, este proceso genera los siguientes equilibrios:



Ecuación 11. Equilibrio de intercambio aniónico para el anión A<sup>-</sup>.



Ecuación 12. Equilibrio de intercambio aniónico para el anión B<sup>-</sup>.

La diferencia entre las afinidades de A<sup>-</sup> y B<sup>-</sup> hacia los grupos funcionales permite su separación, la constante de equilibrio K es conocida también como factor de selectividad y se expresa de la siguiente forma:

$$K = \frac{[IA^+A^-][E^-]}{[IA^+E^-][A^-]} = \frac{[A^-]_E[E^-]_M}{[A^-]_M[E^-]_E} = \frac{[A^-]_E}{[A^-]_M}$$

Ecuación 13. Constante de equilibrio del intercambio aniónico.

Los subíndices E y M indican la fase en la que se encuentra la especie, estacionaria y móvil, respectivamente. Si la concentración de los iones eluyentes es



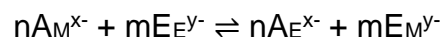
significativamente mayor a la de los analitos, se puede considerar que ésta es constante en ambas fases, lo que permite obtener la constante de distribución (ec. 13), y por ende, los demás parámetros cromatográficos. Cabe destacar que de manera estricta, dichos cálculos sólo se pueden realizar si las concentraciones corresponden a las actividades. En el caso de intercambiadores iónicos de baja capacidad y fases móviles con electrolitos muy diluidos, las actividades no se consideran, no obstante, para el caso de intercambiadores iónicos de alta capacidad y eluyentes concentrados, se observan variaciones con respecto al comportamiento "ideal". Todo lo aquí descrito concerniente al intercambio aniónico puede aplicarse de manera similar al intercambio catiónico.

### *Modelos de retención*

De manera ideal, la retención de un analito en cromatografía iónica está únicamente en función de la afinidad de éste hacia los grupos funcionales del intercambiador iónico, dicha afinidad puede describirse mediante la formulación de una reacción química, la reacción de intercambio iónico, y puede explicarse mediante la ley de acción de masas. Los modelos de retención intentan hacer predicciones acerca del comportamiento de retención de los analitos involucrados bajo condiciones cromatográficas específicas basadas en la ley de acción de masas, dichos modelos permiten la optimización de un sistema de elución para un problema de separación en particular. A continuación, se describe el modelo de retención utilizado en cromatografía aniónica, el cual aplica de forma similar para cromatografía catiónica.

### *Modelo de retención para eluyentes con un solo anión*

Bajo el principio de electroneutralidad, la descripción más simple de un modelo de retención para un desplazamiento isoiónico es aquel en el cual un anión eluyente  $E^{y-}$  compite con un anión del analito  $A^{x-}$  por los grupos funcionales de la fase estacionaria, donde la concentración de los aniones  $E^{y-}$  permanece constante con respecto al tiempo (elución isocrática). Al inicio del proceso cromatográfico, los sitios de intercambio de una columna de separación con una capacidad  $Q$  están ocupados por aniones  $E^{y-}$ , si se añade una muestra que contiene aniones  $A^{x-}$ , se establece un equilibrio de intercambio entre la fase estacionaria y la fase móvil (subíndices  $E$  y  $M$ , respectivamente) como el que se ilustra a continuación:



### *Ecuación 14. Equilibrio de intercambio entre la fase estacionaria y la fase móvil.*

Donde  $n$  y  $m$  corresponden a los coeficientes estequiométricos de  $A$  y  $E$ , respectivamente. De acuerdo con la ley de acción de masas, este equilibrio está descrito por una constante de equilibrio termodinámica, la cual se describe a continuación:

$$K_{eq} = \left( \frac{[A_E^{x-}]^n [E_M^{y-}]^m}{[A_M^{x-}]^n [E_E^{y-}]^m} \right) \left( \frac{Y^n A_E^{x-} * Y^m E_M^{y-}}{Y^n A_M^{x-} * Y^m E_E^{y-}} \right)$$

*Ecuación 15. Constante de equilibrio termodinámica del intercambio entre fases.*

Donde Y corresponde al coeficiente de actividad, y debido a que las actividades no pueden determinarse en las fases estacionaria y móvil, la actividad en la fase estacionaria no se considera y se establece como la unidad. Esto permite calcular la constante de distribución a partir de la siguiente ecuación:

$$K_A = \frac{[A]_E}{[A]_M}$$

*Ecuación 16. Constante de distribución.*

Dado que la concentración de los aniones  $E^{y-}$  es mucho mayor que aquella de los aniones  $A^{x-}$  por varios órdenes de magnitud, se puede asumir que todos los grupos funcionales se encuentran ocupados por aniones  $E^{y-}$ , bajo esta consideración, la concentración de  $E^{y-}$  en la fase estacionaria puede describirse mediante parámetros más accesibles como la capacidad de intercambio Q y la carga (y) del anión eluyente, se muestra a continuación la ecuación que relaciona dichos parámetros:

$$[E_E^{y-}] = \frac{Q}{y}$$

*Ecuación 17. Concentración de  $E^{y-}$  en función de la capacidad de intercambio y la carga.*

Gracias a esta consideración, y a la facilidad con la que se puede obtener a partir de un cromatograma el factor de retención  $k_A$  del anión analito, es posible describirlo en función de parámetros más accesibles como la concentración del eluyente y la capacidad de intercambio. A continuación se enlistan algunas consideraciones importantes incluidas dentro de este modelo:

- Un incremento en la concentración del eluyente  $[E^{y-}]$  acelera la elución.
- Los analitos multivalentes  $A^{nx-}$  se retienen con mayor fuerza que los monovalentes, a esto se le conoce como electroselectividad.
- Eluyentes multivalentes  $E^{ny-}$  presentan mayor fuerza de elución que los monovalentes.
- Para dos analitos con la misma carga, la selectividad depende únicamente de los coeficientes de selectividad y de las respectivas cargas.
- En el caso anterior, cuando el coeficiente de selectividad es constante, la selectividad no está en función de la concentración o la constitución química del anión eluyente.
- Para dos analitos con diferente carga, la selectividad está en función del factor de retención de alguno de los dos analitos.

- Los factores de retención de cada analito no son independientes uno del otro.

### *Modelos de retención para eluyentes con varios aniones*

Aunque el modelo previamente mencionado resulta efectivo cuando se tiene un solo anión eluyente, por lo general, siempre habrá más de una especie eluyente, tal es el caso de buffers de carbonatos o disoluciones de ácidos polipróticos, como el ácido fosfórico, cuya disociación y distribución de especies depende fuertemente del pH. Únicamente en el caso en el que la concentración y/o fuerza de elución de los otros aniones eluyentes pueda ser ignorada, es posible utilizar el modelo de retención para eluyentes monoaniónicos. En la literatura existen varios modelos que describen a los eluyentes polianiónicos, los cuales se mencionan a continuación:

1. Modelo del equilibrio dominante
2. Modelo de la carga efectiva
3. Modelo de múltiples especies eluyentes

Tanto el primer como el segundo consideran una carga particular para el anión eluyente, incluso si hay más de una especie, en cuyo caso se puede utilizar el modelo de retención monoaniónico. Para un eluyente constituido por fosfatos, donde la especiación ( $\text{H}_2\text{P}^-$ ,  $\text{HP}^{2-}$  y  $\text{P}^{3-}$ ) depende del pH, el modelo de equilibrio dominante asume que el  $\text{P}^{3-}$  se enlaza más fuertemente a la fase estacionaria que sus dos otras formas, pues su carga es mayor, por lo que sólo éste jugará un papel decisivo en la elución, siendo así la carga del anión eluyente -3. Es importante mencionar que en la práctica este modelo funciona de manera adecuada sólo si se tienen analitos multivalentes. En el modelo de la carga efectiva, ésta se calcula considerando el valor de pH y las fracciones molares de  $\text{H}_2\text{P}^-$ ,  $\text{HP}^{2-}$  y  $\text{P}^{3-}$ , para esto es necesario que las selectividades de cada una de las especies eluyentes con respecto al analito no varíen significativamente entre sí, este modelo se aplica en el caso de analitos monovalentes. En la realidad, el modelo de múltiples especies eluyentes es el más adecuado para la descripción de eluyentes cuyos componentes se derivan químicamente uno del otro, en este modelo es necesario considerar la posible disociación del analito, la concentración total de las especies eluyentes ( $[\text{C}]_{\text{T}} = [\text{H}_3\text{P}] + [\text{H}_2\text{P}^-] + [\text{HP}^{2-}] + [\text{P}^{3-}]$ ) y la extensión de las interacciones entre éstas y los grupos funcionales. Finalmente, para especies eluyentes que no presentan especiación, se tiene un modelo desarrollado a partir de buffer de fosfatos y iones perclorato, en éste se hacen consideraciones similares a las ya descritas, sin embargo, es necesario considerar un equilibrio de intercambio para un ion eluyente monovalente. Para este modelo los cálculos generan expresiones muy complicadas del factor de retención, no obstante, éstas se simplifican significativamente para eluyentes neutros y ácidos. Este modelo tiene muy buena concordancia con lo observado experimentalmente.

### *Modelos de retención en cromatografía catiónica*

La cromatografía catiónica se divide en dos grupos con base en el modelo de retención, uno para cationes alcalinos y alcalinotérreos con elución por

desplazamiento isoiónico, en cuyo caso se aplica el modelo de retención de un solo anión eluyente. El otro para cationes con carga mayor a 1, donde se requiere usar agentes complejantes para separarlos. A continuación se detallarán brevemente las principales características de éste último.

### *Modelo de retención para la elución en presencia de agentes complejantes*

Los agentes complejantes más utilizados son ácidos dicarboxílicos, tales como el ácido tartárico, oxálico, piridindicarboxílico y cítrico. Los analitos forman compuestos de coordinación de diferentes estabilidades con los aniones de dichos agentes, cuya estequiometría también difiere. Como resultado del proceso de formación de dichos compuestos, la carga efectiva del analito disminuye, aunado a esto, la cinética de la reacción de formación y las constantes de estabilidad de los compuestos incrementan la selectividad, lo que hace posible la separación de analitos similares. Es importante destacar que además del propio proceso de intercambio iónico, la formación de complejos juega un papel vital en la separación de cationes metálicos con cargas altas. Para considerar la influencia de los complejos se introduce una variable que permite describir su grado de formación con respecto al analito, ésta puede calcularse a partir de las constantes de formación, la constante de disociación del ácido carboxílico y el pH del eluyente. A partir de esta variable, y la concentración del analito en las fases estacionaria y móvil, se puede calcular el coeficiente de distribución. La expresión que permite su cálculo no se trata en este trabajo por estar fuera de su alcance. En la presencia de más de una especie catiónica del mismo metal ( $M^{n+}$ ,  $M^{n-1}L$ ,  $M^{n-2}L_2$ , etc.), por lo general se observará un solo pico en el cromatograma correspondiente a cada uno de los analitos involucrados, el número de picos que se pueda obtener dependerá de la cinética de formación y de los equilibrios de disociación en la fase móvil. Se obtiene un único pico si el equilibrio de formación se da más rápido en la fase móvil en comparación con el tiempo de residencia del complejo en la fase estacionaria, en el caso contrario, se pueden presentar múltiples picos o picos asimétricos.

- **Métodos de detección**

El método de detección más ampliamente utilizado en CI es el de conductividad. El arreglo y fundamento de los detectores conductimétricos ya se describió en apartados anteriores, a continuación se discutirán brevemente las bases de la detección conductimétrica. Este tipo de detección no es selectiva, por lo que puede utilizarse en determinaciones con detección tanto directa como indirecta. Puesto que es común el uso de electrolitos acuosos como fase móvil en CI, el detector debe responder a los pequeños cambios de conductividad causados por el analito. Las técnicas de supresión permiten reducir drásticamente la conductividad inherente de ciertos eluyentes, lo que incrementa considerablemente la sensibilidad. La conductividad ( $K$ ) es el recíproco de la resistencia ( $R$ ) que un líquido produce entre dos electrodos con un área ( $A$ ) y a una distancia ( $l$ ), en el cálculo de  $K$  se utiliza más comúnmente el inverso de la resistencia, mejor conocido como conductancia eléctrica ( $L$ ), la ecuación se muestra a continuación:

$$K = \frac{Lxl}{A}$$

*Ecuación 18. Conductividad de una disolución.*

Donde K se expresa como S cm<sup>-1</sup>, L como S, l en cm y A en cm<sup>2</sup>, cabe destacar que al inverso del cociente l/A se le conoce como constante de celda y por lo general las mismas están diseñadas de tal forma que dicha constante sea la unidad. La conductividad molar de una disolución puede calcularse entonces con la siguiente expresión:

$$\Lambda = \frac{K}{C}$$

*Ecuación 19. Conductividad molar de una disolución.*

Donde C es la concentración y se expresa en mol L<sup>-1</sup>, por lo cual  $\Lambda$  tiene unidades de S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. La conductividad de un electrolito puede calcularse al despejar K de la ecuación 19 y considerar la conductividad molar del mismo como una contribución de las conductividades iónicas ( $\lambda$ ) de cada una de las especies constituyentes, la expresión para el cálculo se muestra a continuación:

$$K = C (v_+ \lambda_+^0 + v_- \lambda_-^0)$$

*Ecuación 20. Conductividad en función de las conductividades iónicas de las especies constituyentes.*

Donde v es el coeficiente estequiométrico del ion y  $\lambda$  se expresa en S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>, los valores de  $\lambda$  para varios iones se encuentran reportados en la literatura. Con el fin de considerar a todos los electrolitos presentes en una disolución se tiene la siguiente expresión:

$$K = \frac{\sum \Lambda_i C_i}{1\ 000}$$

*Ecuación 21. Conductividad de una disolución considerando todos los electrolitos presentes.*

Donde  $\Lambda$  corresponde a la conductividad molar del electrolito (ec. 20) y 1 000 proviene del hecho de que 1 L equivale a 1 000 cm<sup>3</sup>. Es importante mencionar que los detectores conductimétricos monitorean la resistencia eléctrica de la fase móvil (o conductancia considerando su inverso), la cual puede expresarse como conductividad mediante el uso de la constante de celda.

El cambio en la conductividad causado por el analito es proporcional a su concentración en el eluato, se tiene la siguiente expresión:

$$\Delta K = \frac{\Lambda_A - \Lambda_E}{1\ 000}$$

*Ecuación 22. Variación de la conductividad a causa del analito.*

Donde los subíndices A y E corresponden al analito y al ion eluyente, respectivamente. Resulta conveniente mantener la conductividad de fondo lo más baja posible, pues esto genera un aumento en la sensibilidad. Los otros detectores mencionados anteriormente también pueden utilizarse en CI, sin embargo, la mayoría suelen tener una aplicación limitada o sólo se usan en casos muy específicos, razón por la cual el detector conductimétrico sigue siendo el más utilizado.

La necesidad de utilizar altas concentraciones de electrolito para eluir a la mayoría de los iones del analito en un tiempo razonable genera que la conductividad de los componentes de la fase móvil sea enmascarada por la de los analitos, lo que reduce considerablemente la sensibilidad del detector. En la actualidad se utilizan dos tipos de CI, de detección directa (o de una sola columna) y de detección con supresores (o basada en inhibidores). Se diferencian por como evitan que la conductividad del eluyente interfiera con la medición de la conductividad del analito, se describen a continuación.

#### *Cromatografía iónica con inhibidores*

Para resolver el problema generado por la alta conductividad de los eluyentes, se introdujo una columna inhibidora inmediatamente después de la de intercambio iónico. Ésta está rellena con una segunda resina de intercambio capaz de convertir eficazmente los iones del disolvente en especies moleculares de ionización limitada, sin afectar la conductividad causada por los iones del analito. Por ejemplo, en la separación y determinación de cationes, por lo general el reactivo eluyente es ácido clorhídrico, en este caso, la columna inhibidora contiene una resina de intercambio aniónica de hidróxidos, de tal forma que el producto de reacción sea agua, cabe destacar que los cationes del analito no se retienen. En la separación de aniones, donde el bicarbonato o carbonato de sodio son el eluyente, el relleno de la columna inhibidora es la forma ácida de una resina de intercambio, en cuyo caso el producto de reacción es ácido carbónico, éste no contribuye de manera significativa en la conductividad.

#### *Cromatografía iónica con una sola columna*

Para aumentar las pequeñas diferencias de conductividad entre los iones de la muestra y los iones del eluyente dominantes, se usan intercambiadores de baja capacidad, pues permiten eluir con disoluciones de bajas concentraciones de electrolito, también se eligen eluyentes de baja conductividad. Este tipo de CI presenta la ventaja de no requerir de equipo especial para la inhibición, pero también es menos sensible.

- **Fases estacionarias**

Con el fin de obtener una separación eficiente en CI, se debe contar con columnas cuyo relleno esté hecho de partículas muy pequeñas, cuya forma sea tan esférica como sea posible y con un intervalo limitado de distribución de tamaño de partícula.

Se utilizan partículas con diámetros de 2 a 10  $\mu\text{m}$ , aunado a esto, los intercambiadores deben tener una cinética de intercambio iónico tan rápida como sea posible. Existe un amplio rango de materiales adecuados para su uso en CI, la característica que tienen en común es que en su superficie contienen grupos funcionales capaces de intercambiar iones. A continuación se muestra una lista de algunos de estos materiales:

- Resinas de polímeros orgánicos modificadas
- Sílica-gel modificada
- Sales inorgánicas
- Vidrios
- Zeolitas
- Óxidos metálicos
- Derivados de celulosa

Los materiales más utilizados en CI son aquellos basados en resinas de polímeros orgánicos modificadas y sílica-gel modificada. Los rellenos constituidos por sílica gel presentan una muy buena capacidad de separación y una excelente estabilidad mecánica, sin embargo, sólo pueden usarse dentro de un intervalo de pH de 2 a 7. En contraste con estos, los rellenos basados en resinas de polímeros orgánicos modificadas poseen una gran estabilidad química a cualquier valor de pH, no obstante, presentan una estabilidad mecánica limitada, lo cual limita la longitud de la columna o la tasa de flujo máxima del eluyente.

En la actualidad se utilizan dos tipos de fase estacionaria en CI. Éstas se diferencian por su diseño, pueden estar constituidas de intercambiadores iónicos funcionalizados en la superficie o intercambiadores iónicos peliculares. En los primeros los grupos funcionales están localizados directamente en la superficie del polímero o en los poros. Los segundos poseen partículas muy pequeñas (también funcionalizadas en la superficie) enlazadas a partículas centrales más grandes, el enlazamiento puede ser mecánico o producto de interacciones electrostáticas o hidrofóbicas. En la siguiente imagen se muestran estos dos arreglos para intercambiadores aniónicos:



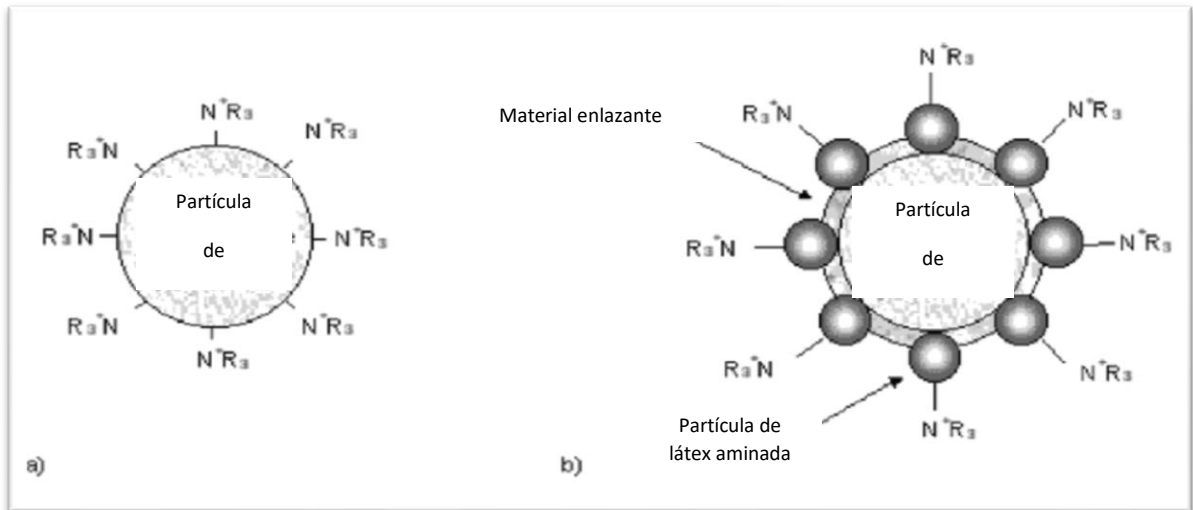


Imagen 4. Estructura de intercambiadores aniónicos con superficie funcionalizada (a) y peliculares con enlace mecánico (b). Imagen recuperada de IC Practical Metrohm (31).

Los intercambiadores iónicos peliculares se caracterizan por tener una mejor eficiencia cromatográfica, esto debido a que los caminos de difusión se mantienen muy cortos a causa de la mayor distancia de los grupos funcionales con el material base, lo cual resulta en una excelente transferencia de masa. No obstante, la estabilidad química de estas fases es considerablemente menor a aquellas con materiales funcionalizados en la superficie.

#### Fases estacionarias para cromatografía aniónica

El grupo funcional utilizado para cromatografía aniónica se produce normalmente al convertir un grupo de anclaje con una amina adecuada, lo que genera iones amonio fijados en la superficie del polímero. Los grupos funcionales basados en nitrógeno son prácticamente los únicos utilizados en CI, pues poseen una inusual estabilidad química y una inmensa variedad de sustituyentes en el átomo de nitrógeno. Los sustituyentes (R) sobre el átomo de nitrógeno varían dentro de un amplio intervalo, en el más sencillo de los casos, R es un átomo de hidrógeno, lo que forma un ion amonio primario, sin embargo, éste puede perder su carga si el pH es básico. Con este tipo de rellenos, la capacidad de intercambio depende del pH del eluyente, por lo que se denominan como débilmente básicos. Incluso si se sustituyen los átomos de hidrógeno por grupos alquílicos para formar iones amonio secundarios o terciarios, estos también se desprotonan. Para obtener un intercambiador aniónico fuertemente básico todos los sustituyentes deben ser grupos alquílicos, pues sólo así la capacidad de intercambio será independiente del pH. Por lo general, sólo se utilizan materiales completamente alquilados, no obstante, en aplicaciones especiales, tales como análisis de proteínas o técnicas de preconcentración, se utilizan rellenos débilmente básicos.

Los dos grupos funcionales más importantes en cromatografía aniónica se derivan de la trimetilamina (TMA o tipo I) y de la dimetiletanolamina (DMEA o tipo II), la



mayoría de los materiales de separación disponibles comercialmente contienen uno de estos grupos.

### *Fases estacionarias para cromatografía catiónica*

Para cromatografía catiónica se utilizan tanto los materiales basados en polímeros, como los basados en sílica-gel, pues en contraste con la cromatografía aniónica, las condiciones de este tipo de cromatografía permiten su uso.

- Intercambiadores catiónicos basados en sílica gel

Los intercambiadores catiónicos basados en sílica-gel se dividen en dos clases, aquellos con materiales directamente funcionalizados, y aquellos recubiertos por un polímero. Los primeros consisten en intercambiadores fuertemente ácidos con grupos sulfónicos, tienen una buena eficiencia cromatográfica, sin embargo, no son aptos para determinar simultáneamente metales alcalinos y alcalinotérreos, pues presentan grandes diferencias en afinidad. En los recubiertos por un polímero, la superficie del silicato se encuentra recubierta con éste, el cual se inmoviliza mediante entrelazamiento cruzado. Se pueden obtener diferentes tipos de intercambiadores con funcionalizaciones posteriores. Gracias a la delgada capa de polímero (1 a 5  $\mu\text{m}$ ) se obtienen caminos cortos de difusión del analito, lo que resulta en un alto grado de eficiencia cromatográfica.

Existen un gran número de aplicaciones para estas fases, una de ellas es la determinación simultánea de metales alcalinos y alcalinotérreos, también es posible separar metales de transición y iones de metales pesados. No obstante, varias desventajas no permiten el uso universal de los intercambiadores iónicos de sílica-gel, las principales son su poca estabilidad química y el intervalo de pH de trabajo (2 a 7).

- Intercambiadores catiónicos basados en polímeros orgánicos

Las resinas producidas por la copolimerización de estireno-divinilbenceno son las más utilizadas como matriz. Los intercambiadores catiónicos basados en estas resinas pueden utilizarse en todo el intervalo de pH, no obstante, su resistencia a la presión es menor que la de aquellos basados en sílica-gel. La mayoría de los intercambiadores catiónicos utilizan grupos de ácidos sulfónicos como grupos funcionales, estos pueden enlazarse directamente al sistema aromático o mediante un espaciador cuya longitud varía. Los intercambiadores de ácido sulfónico con espaciadores tienen una mejor eficiencia cromatográfica, sin embargo, no son adecuados para la determinación simultánea de los metales alcalino y alcalinotérreos debido a sus grandes diferencias en afinidad.

- Intercambiadores catiónicos peliculares

También se encuentran disponibles los intercambiadores catiónicos peliculares, estos poseen una alta eficiencia de separación, sin embargo, su desventaja es su sensibilidad a los disolventes orgánicos y a las fases móviles con una alta fuerza iónica. Se puede realizar el análisis simultáneo de metales alcalinos y alcalinotérreos, no obstante, se requieren largos tiempos de análisis.

### *Capacidad de los intercambiadores iónicos*

A lo largo de este apartado se ha mencionado el concepto de capacidad de intercambio sin hacer una descripción más detallada de éste, ésta se realizará a continuación. La capacidad de intercambio es una cantidad decisiva en la caracterización de los intercambiadores iónicos, pues provee información acerca del número de lugares disponibles para llevar a cabo el intercambio iónico. Normalmente se expresa en micromoles o microequivalentes por gramo del material seco ( $\mu\text{mol/g}$  o  $\mu\text{eq/g}$ ). Para fines analíticos, los intercambiadores iónicos se clasifican en función de su capacidad de intercambio:

- Materiales de baja capacidad ( $Q < 100 \mu\text{mol/g}$ )
- Materiales de mediana capacidad ( $100 < Q < 200 \mu\text{mol/g}$ )
- Materiales de alta capacidad ( $Q > 200 \mu\text{mol/g}$ )

La definición previamente dada se basa en un equilibrio completo alcanzado entre la fase móvil y la fase estacionaria, por lo que se le conoce como capacidad estática. En contraste, la capacidad dinámica (o efectiva), se define como el número de grupos funcionales realmente disponibles durante el proceso cromatográfico, ésta es siempre menor a la capacidad estática.

La capacidad de intercambio puede determinarse de diferentes formas, algunas se enlistan a continuación:

- Mediante titulación
- Por análisis elemental
- A través de los tiempos de retención

Todos los métodos proveen diferentes valores de  $Q$  para el mismo material. En la práctica, los métodos volumétricos son los más utilizados. Para ejemplificar, en el caso de intercambiadores aniónicos, a una columna o cantidad definida de resina se le adiciona una disolución de cloruro, éste puede eluirse con nitrato de forma tal que la cantidad de cloruro eluido sea la capacidad estática bajo condiciones de equilibrio, finalmente, éste puede determinarse con una titulación con nitrato de plata.

La dependencia de pH de los intercambiadores iónicos puede descartarse en algunos casos, por ejemplo, con los intercambiadores catiónicos, la capacidad de

los grupos de ácido carboxílico sólo se da a valores altos de pH, mientras que la de los grupos de ácido sulfónico es independiente del pH.

Los materiales de baja capacidad de intercambio son adecuados para llevar a cabo el análisis de muestras con una baja fuerza iónica, sin embargo, a fuerzas iónicas más altas, se sobrecarga y alcanza rápidamente sus límites. Dicha sobrecarga se debe al bajo número de grupos funcionales, lo que genera picos deformados y una drástica disminución de la eficiencia. También se presentan problemas si los analitos se encuentran en diferentes concentraciones, como en el caso de análisis de ultratrazas.

- **Eluyentes**

Al igual que en las demás separaciones por cromatografía de líquidos, en CI, la fase móvil es el parámetro más fácil de alterar si se desea optimizar la separación. La elección del sistema de elución adecuado se realiza considerando las siguientes variables:

- Compatibilidad con el método de detección
- Naturaleza química y concentración del ion eluyente
- pH
- Capacidad de amortiguamiento
- Contenido de disolventes orgánicos (modificadores)

Los eluyentes se pueden clasificar de acuerdo con la técnica de detección, ya sea con o sin el uso de supresores. En el caso de la cromatografía aniónica sin supresores con intercambiadores de baja capacidad, se tiene una amplia variedad de eluyentes con diferentes características químicas, con concentraciones del orden de mmol/L o menores, los más comunes se enlistan a continuación:

- Ácidos carboxílicos aromáticos
- Ácidos carboxílicos alifáticos
- Ácidos sulfónicos
- Hidróxidos alcalinos
- Ácidos inorgánicos

Los ácidos carboxílicos aromáticos y sus sales son los compuestos más utilizados, pues cuentan con un alto poder de elución además de su baja conductividad inherente. En el caso de ácidos polipróticos, el poder de elución se controla a través del pH, no obstante, éste debe ser muy preciso. Los ácidos aromáticos tienen una alta absorción en el espectro UV, por lo que pueden utilizarse en detección indirecta en el espectro UV-VIS. En cuanto a los ácidos sulfónicos aromáticos, lo ya mencionado aplica de la misma forma, aunado a esto, dichos ácidos siempre se encuentran desprotonados, por lo que no poseen capacidad amortiguadora, en este caso, el poder de elución se controla únicamente a través de la concentración.

Los ácidos carboxílicos alifáticos tienen una alta conductividad inherente, pero son transparentes en UV, por lo que pueden utilizarse en este tipo de detección. Lo

mismo aplica en el caso de ácidos sulfónicos alifáticos. Los homólogos mayores de ambos tipos de ácidos tienen conductividades más bajas, lo que ofrece la posibilidad de utilizarlos en conjunto con detección directa conductimétrica.

Los hidróxidos alcalinos tienen un uso muy limitado en cromatografía aniónica sin supresores, pues el ion hidroxilo es muy poco afín a los grupos amonio cuaternarios, como resultado, se requieren altas concentraciones de eluyente, lo que en el mejor de los casos, sólo permite el uso de detección indirecta conductimétrica.

En el caso de los ácidos inorgánicos o sus sales, su completa disociación y alta conductividad sólo permiten el uso de detectores espectrofotométricos, si se utilizan fosfatos o ácido fosfórico, su capacidad amortiguadora y poder de elución pueden controlarse por medio del pH del eluyente. La mayoría de los eluyentes aquí mencionados también permiten el uso de sistemas de detección amperométricos, fluorimétricos o técnicas acopladas.

Con respecto a los eluyentes utilizados en cromatografía aniónica con supresores, los más utilizados son:

- Hidróxidos alcalinos
- Carbonatos y bicarbonatos alcalinos
- Boratos
- Aminoácidos

En la práctica, sólo los dos primeros son de gran importancia, lo que significa que la elección de fase móvil es muy limitada.

Debido a que el ion hidroxilo es un ion eluyente extremadamente débil, incluso con materiales de baja capacidad, es necesario utilizar altas concentraciones de éste. Si se hace uso de grupos funcionales polares, se logra incrementar considerablemente el poder de elución de  $\text{OH}^-$ . Con este tipo de eluyentes la manipulación de los tiempos de retención o selectividades sólo se logra controlando la concentración.

Los carbonatos y bicarbonatos alcalinos son sistemas de elución más flexibles, pues el bicarbonato tiene un poder de elución más bajo que el ion  $\text{OH}^-$ , mientras que el carbonato es un eluyente relativamente fuerte. Por lo general, ambos iones se utilizan en conjunto, lo que genera un eluyente con efecto amortiguador fácilmente controlable con la concentración. Al igual que los eluyentes de hidróxidos alcalinos, la elución puede acelerarse considerablemente mediante el uso de fases estacionarias con grupos funcionales polares.

Para la separación de metales alcalinos, iones amonio y aminas alifáticas de cadena corta con fases estacionarias con grupos funcionales de ácido sulfónico, los eluyentes más utilizados son ácidos inorgánicos como el HCl y el  $\text{HNO}_3$ , la concentración de estos en el eluyente depende del tipo y la capacidad de intercambio, por lo general es del orden de mmol/L. En el caso de cationes divalentes, se utilizan bases orgánicas como la etilendiamina. En cuanto a la determinación simultánea de metales alcalinos y alcalinotérreos mediante

intercambiadores catiónicos fuertemente ácidos, los eluyentes más comunes contienen ácido clorhídrico y ácido 2,3-diaminopropiónico.

## **2.3 Validación de métodos analíticos**

### **2.3.1 Definiciones**

La ISO 9000 define a la validación como: “la confirmación, a través de la aportación de evidencia objetiva, de que se han cumplido los requisitos para un uso o aplicación específico previsto” <sup>(32)</sup>. La validación de un método es básicamente el proceso para definir un requisito analítico, y la confirmación de que cuenta con capacidades consistentes para las aplicaciones requeridas. Cabe destacar que no basta con evaluar las características de desempeño del método, sino también es de gran importancia considerar su idoneidad.

El desarrollo y validación de un método están estrechamente relacionados, muchas de las características de desempeño (selectividad, precisión, etc.) estudiadas durante la evaluación también lo son en el desarrollo del método, sin embargo, es importante considerar la necesidad de realizar la validación formal de la versión final del método (el procedimiento documentado). En algunos sectores se utilizan los conceptos de validación primaria y secundaria, el primero refiriéndose a lo ya mencionado, y el segundo a la verificación del método, el último término se trata brevemente a continuación.

En la ISO 9000 también se encuentra la definición de verificación, ésta se considera como: “la confirmación, a través de la aportación de evidencia objetiva, de que se cumplen los requisitos especificados”. Para facilitar la comprensión de la diferencia entre los dos términos se utiliza a manera de ejemplo el siguiente escenario: Un laboratorio adopta un procedimiento validado publicado por una norma, en cuyo caso el trabajo de validación básica ya se realizó, no obstante, éste debe confirmar a partir de evidencia objetiva su capacidad de aplicar el método, lo que implica trabajo experimental para demostrar que el método funciona adecuadamente en el laboratorio, a este proceso se le conoce como verificación. Es importante destacar que la carga de trabajo será considerablemente menor en este caso si se compara con la validación de un método desarrollado por el laboratorio. Entonces, la gran importancia de la validación de un método recae en la capacidad de demostrar, con evidencia objetiva y confiable, que éste es adecuado para su uso previsto.

### **2.3.2 Validación y verificación**

Una vez comprendida la diferencia entre ambos conceptos, es importante mencionar cuando se realiza una u otra acción. Un método debe ser validado cuando es necesario demostrar que sus características de desempeño son adecuadas para el uso previsto, de acuerdo con la norma ISO/IEC 17025, el laboratorio debe validar:

- Métodos no normalizados

- Métodos diseñados y/o desarrollados por el laboratorio
- Métodos normalizados utilizados fuera de su ámbito de aplicación
- Ampliaciones o modificaciones de métodos normalizados

La validación deberá ser tan amplia como sea necesaria para cumplir con los requisitos en relación con su uso o aplicación. La extensión (alcance) de la validación estará en función de su aplicación, la naturaleza de los cambios realizados, y de las circunstancias de uso del método. También se valida cuando es necesario demostrar la equivalencia de los resultados obtenidos por dos métodos, por ejemplo, un método desarrollado recientemente y un método normalizado ya existente.

En cuanto a la verificación de un método, si es un método normalizado, como los publicados por la Organización Internacional de Estándares (ISO por sus siglas en inglés) o por la Sociedad Americana de Evaluación y Materiales (ASTM por sus siglas en inglés), y otras entidades internacionales y nacionales, no es necesario validar el método utilizado por el laboratorio, no obstante, éste debe verificar el desempeño del método, es decir, debe confirmar que es capaz de operar adecuadamente los métodos normalizados antes de introducir los ensayos o calibraciones. También es preciso verificar el método cuando hay cambios importantes, como el uso de un equipo nuevo, traslado de equipos, etc.

- **¿Cómo se valida un método?**

Para la validación de un método existen dos estrategias fundamentales, a saber, el uso de resultados interlaboratorios y la validación del laboratorio individual, en cualquier caso, es responsabilidad del laboratorio que usa el método asegurar su adecuación. A continuación se tratan con mayor detalle ambas estrategias:

#### *Resultados interlaboratorios*

En la literatura existen muchas publicaciones con respecto al uso de comparaciones entre laboratorios (estudios colaborativos) como herramienta de validación. También existen numerosos protocolos, como los de La Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC por sus siglas en inglés) y la familia de normas ISO 5725, reconocida como aplicable de forma general. En caso de que se esté desarrollando un método de amplio alcance, puede preferirse el uso de un estudio colaborativo entre varios laboratorios como forma de validación, pues un método publicado validado por este medio proporciona gran robustez. La información publicada contiene normalmente información sobre la repetibilidad, y en algunos casos, una estimación del sesgo del método. Cuando el método ha sido validado por una organización internacional, como ISO o AOAC, el usuario sólo necesita verificar los datos de desempeño publicados, o establecer y confirmar sus propios valores de desempeño. Esta aproximación también reduce la carga de trabajo del laboratorio.

A partir de datos individuales del laboratorio

No siempre los métodos requeridos por el laboratorio se encuentran publicados como normas, si el método se desarrolló para uso exclusivo del laboratorio, ya sea porque no es de interés general o por cuestiones competitivas, el enfoque de validación a partir de datos individuales del laboratorio es el indicado.

### Extensión de la validación

El laboratorio debe decidir cuáles son las características de desempeño a investigar para validar el método, y en algunos casos, el grado de detalle para una característica particular. Cuando el alcance del trabajo de análisis está bien definido y sus aplicaciones son similares en el tiempo, es posible que una organización o sector emitan guías generales para la extensión de las validaciones, en la siguiente imagen se muestra un ejemplo de guía emitido por la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CCAYAC) en México <sup>(32,34)</sup>:

Parámetro	Métodos normalizados			Métodos no normalizados
	Fisicoquímicos	Físicos		Fisicoquímicos
		Cuantitativos	Cualitativos	
Intervalo lineal y de trabajo				
Límite de detección				
Límite de cuantificación				
Recuperación				
Sesgo				
Repetibilidad				
Reproducibilidad				
Incertidumbre				
Sensibilidad				
Selectividad				
Robustez				

Imagen 5. Extensión de la validación para diferentes métodos. Imagen recuperada de la guía emitida por la CCAYAC (34).

La validación de un método siempre es un equilibrio entre costos, riesgos, y posibilidades técnicas. El laboratorio debe realizar esto de la mejor manera posible, considerando las limitaciones impuestas, los requisitos legales y de los clientes, las experiencias y herramientas disponibles, y la necesidad de compatibilidad metrológica con otros métodos similares en uso, tanto dentro como fuera del laboratorio.



### 2.3.3 Características de desempeño

Los parámetros típicos evaluados durante la validación de un método se enlistan a continuación:

- Selectividad
- Límite de detección y límite de cuantificación
- Intervalo de trabajo e intervalo de linealidad
- Veracidad (sesgo y recuperación)
- Precisión (repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad)
- Incertidumbre de medida
- Robustez

Es importante destacar que, en sentido estricto, la incertidumbre de medida no es una característica de desempeño de un procedimiento de medida particular, sino que se asocia a los resultados obtenidos al utilizar dicho procedimiento. Los parámetros ya mencionados se tratarán con mayor detalle a continuación.

#### **Selectividad**

La selectividad analítica está relacionada con el grado en el que un método puede ser utilizado para determinar analitos particulares en mezclas o matrices sin interferencia de otros componentes de comportamiento similar, es decir, es la capacidad del método de determinar específicamente al analito aun en presencia de componentes similares.

Es crucial establecer que la propiedad medida sólo debe ser causa del analito y no de algún otro componente química o físicamente similar, ya que esto puede causar un sesgo en el resultado de la medición. Las interferencias pueden causar un sesgo al exacerbar o disminuir la señal atribuida al mensurando, el grado en el que ocurre este efecto para una matriz particular es proporcional a la señal, y por lo tanto, se le denomina como efecto proporcional o rotacional, éste cambia la pendiente de la función de calibración pero no la ordenada al origen. Un efecto traslacional, o fijo, se origina a partir de una señal producida por las interferencias presentes en la disolución de estudio, por lo que es independiente de la concentración del analito. Usualmente se le conoce como interferencia de fondo o línea de base, y afecta a la ordenada de origen de la función de calibración, pero no a su pendiente. Es común que ambos efectos se presenten simultáneamente.

La selectividad deberá establecerse en métodos desarrollados de manera interna por el laboratorio, métodos adaptados de la literatura y métodos publicados por organismos de estandarización utilizados fuera del alcance especificado. En el caso de que los métodos publicados por organismos de normalización sean aplicados dentro de su alcance, ésta usualmente ya habrá sido estudiada como parte del proceso de normalización. Generalmente, la selectividad de un método se determina al evaluar su habilidad para cuantificar al analito de interés en muestras a las cuales se agregaron intencionalmente interferencias específicas (aquellas



cuya presencia en la muestra es probable). En los casos donde no está claro si las interferencias ya están presentes o no, ésta puede determinarse evaluando la habilidad del método para medir al analito comparado con otros métodos independientes.

### **Límites de detección y cuantificación**

Cuando se realizan mediciones de concentraciones bajas es necesario considerar tres conceptos generales: valor crítico o límite de decisión, límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC). En primer lugar, puede resultar necesario establecer un valor de resultado considerado como un nivel de analito significativamente diferente de cero, a dicho nivel se le conoce como valor crítico. En segundo lugar, es importante conocer la concentración más baja del analito que puede ser detectada por el método con un nivel de confianza especificado, es decir, el límite de detección. Finalmente, es de gran importancia establecer el nivel más bajo en el cual el desempeño es aceptable para una aplicación típica, en otras palabras, el límite de cuantificación.

Es necesario también distinguir entre límite de detección del instrumento y límite de detección del método, el primero puede basarse en el análisis de una muestra, por lo general un blanco de reactivo sometido directamente al instrumento o en la relación señal/ruido. En cambio, para obtener el límite de detección de un método, éste debe basarse en el análisis de muestras que hayan sido sometidas a todo el proceso de medición obteniendo resultados calculados con la misma ecuación que para las muestras de ensayo. El dato de mayor utilidad para la validación del método es su LD.

En lo que concierne a la determinación de estos parámetros, tanto el LD como el LC normalmente se calculan multiplicando una desviación estándar ( $s$ ) por un factor adecuado. Es de suma importancia que dicha desviación sea representativa de la precisión obtenida para muestras de ensayo típicas, y que se realicen suficientes réplicas de medición para brindar una estimación confiable. En la determinación de estos dos parámetros es necesario considerar los siguientes factores:

- Muestras adecuadas

Preferentemente muestras sin cantidades detectables del analito (muestras blanco), o muestras con concentraciones de analito cercanas o por debajo del LC esperable. En caso de no contar con ninguna de las dos, se pueden utilizar blancos de reactivo. Como información adicional, cuando los blancos de reactivo no son sometidos a todo el procedimiento de medición y se presentan directamente frente al instrumento, los cálculos basados en estas mediciones darán como resultado el LD y LC del instrumento.

- Alcance del método

Es necesario cubrir el alcance del método. En el caso de métodos cuyo alcance cubre matrices muy diversas puede ser necesario determinar la desviación estándar para cada matriz por separado.

- Replicado representativo

La desviación estándar debe ser representativa del desempeño del método tal como se aplica en el laboratorio, es decir, la desviación estándar debe determinarse con base en resultados obtenidos mediante un análisis efectuado exactamente de acuerdo con el procedimiento de medición documentado, incluyendo cualquier paso de preparación de muestra.

- Condiciones de medición

La desviación estándar normalmente se obtiene bajo condiciones de repetibilidad, sin embargo, en algunos casos es posible obtener estimaciones más confiables a partir del uso de condiciones de precisión intermedia.

- Número de observaciones

El número de réplicas debe ser suficiente, de tal forma que sea posible obtener un estimado adecuado de la desviación estándar. Por lo general se considera necesario hacer de 6 a 15 réplicas, en procedimientos de validación se recomienda realizar 10.

- Promedio

En varios procedimientos de medición se reporta el promedio de las réplicas durante el uso de rutina del método, donde cada replicado se obtiene de manera independiente. En este caso, la desviación estándar deberá ser corregida dividiéndola por la raíz cuadrada del número de réplicas promediadas en el uso de rutina.

- Correcciones por blanco

En el caso donde se especifican correcciones por blanco en el procedimiento de medición, es necesario tener precaución al determinar la desviación estándar utilizada para el cálculo del LD y del LC. Si todos los resultados obtenidos durante el estudio de validación fueron corregidos por el mismo valor de blanco, lo cual es recomendable por simplicidad, la desviación estándar de los resultados será menor que aquella donde los resultados fueron corregidos por diferentes valores de blanco obtenidos en diferentes series, en cuyo caso deberá corregirse multiplicando por  $\sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}}$ , donde n es

el número de réplicas de observaciones promediadas cuando se dan resultados obtenidos al realizar las réplicas de manera independiente, y  $n_b$  es el número de observaciones blanco utilizadas para calcular la corrección del blanco. Cabe destacar que, bajo condiciones de precisión intermedia, los resultados se corregirán por diferentes valores de blanco, por lo tanto, no será necesario corregir la desviación estándar.

Con base en todo lo descrito anteriormente, por lo general, el LD es igual a tres veces el valor de la desviación estándar corregida por promedio ( $s_0$ ), mientras que el LC se calcula  $k_Q$  veces el valor de  $s_0$ , donde  $k_Q$  por lo general es 10, pero también se utilizan valores de 5 y 6.

### Intervalo de trabajo

El intervalo de trabajo se define como el intervalo en el que el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable, es decir, es el intervalo de concentraciones en el que se demostró que el analito es cuantificado con un nivel satisfactorio de repetibilidad, linealidad y recuperación. El extremo inferior del intervalo está determinado por el LC, mientras que el extremo superior está definido por las concentraciones a las cuales se observan anomalías significativas en la sensibilidad analítica. El intervalo de trabajo del método a validar debe indicarse en el alcance del procedimiento documentado, durante la validación debe confirmarse que el método puede utilizarse en dicho intervalo. En la evaluación del intervalo de trabajo, el laboratorio tiene que considerar tanto la linealidad del método como el procedimiento de calibración propuesto indicado en el método.

Muchos métodos conllevan una preparación de la muestra previa a la medición, en estos casos hay dos intervalos de trabajo, el asociado al instrumento de medición y el del método. El primero se define en términos de la concentración de una muestra de ensayo procesada presentada al instrumento para su medición, mientras que el intervalo de trabajo del método se relaciona con la concentración de la muestra de laboratorio. A continuación se da un ejemplo de intervalo de trabajo del instrumento, en éste se muestran la señal del instrumento en función de las concentraciones de los patrones de calibración, y un ejemplo de intervalo de trabajo de un método, en éste se grafica la concentración medida en función de las concentraciones conocidas de la muestra de ensayo, donde la concentración medida es el resultado obtenido al aplicar el procedimiento de medición utilizando el instrumento calibrado de acuerdo con el método documentado. La imagen con ambos ejemplos se muestra a continuación:

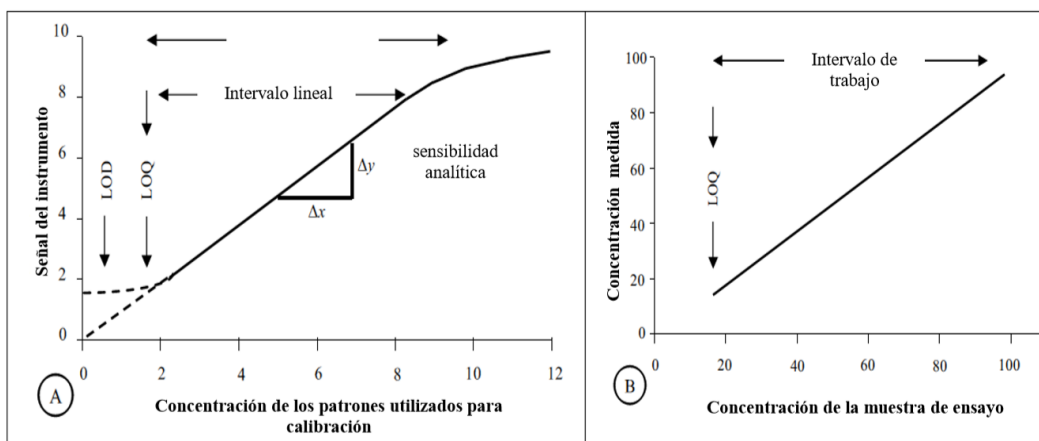


Imagen 6. A) Curva de respuesta típica obtenida con un método instrumental, se identifican algunas características de desempeño. B) Curva típica obtenida con un procedimiento de medición. Imagen recuperada de Guía Eurachem (32).

Durante la validación se debe evaluar tanto el intervalo de trabajo del instrumento como el del método, por lo general, estos datos se generan durante su desarrollo, en cuyo caso, solo hay que incluirlos en el informe de validación.

#### *Evaluación del intervalo de trabajo del instrumento*

Entre el LC y el extremo superior del intervalo de trabajo del instrumento existe una relación conocida, ya sea lineal, curvilínea, etc. Durante el proceso de validación es necesario confirmar esta relación, demostrar que el intervalo de trabajo del instrumento es compatible con el intervalo indicado en el alcance del método y verificar que el procedimiento de calibración instrumental propuesto sea el adecuado.

Para evaluar el intervalo de trabajo del instrumento y confirmar su aptitud para el uso, se deben estudiar patrones de calibración con un alcance de concentración que sobrepase el intervalo de concentración esperado en  $\pm 10\%$  o incluso  $\pm 20\%$  y graficar las señales. Las concentraciones seleccionadas deben espaciarse uniformemente en el intervalo. La primera evaluación del intervalo de trabajo se realiza de manera visual mediante una inspección de la curva de respuesta, el siguiente paso es confirmar la relación entre la concentración y la respuesta del instrumento revisando las estadísticas de regresión y el gráfico de residuales del modelo elegido (lineal, cuadrático, etc.), la evaluación también puede incluir medidas estadísticas especiales, como las pruebas de bondad de ajuste. Con base en la curva de respuesta y las estadísticas de apoyo obtenidas en el intervalo de trabajo del instrumento, es posible determinar si el procedimiento de calibración indicado en el método es apropiado, además, esto se determina evaluando el intervalo de trabajo del método.

#### *Evaluación del intervalo de trabajo del método*

Para evaluar el intervalo de trabajo del método es necesario contar con muestras de concentración conocida, éstas deben someterse completamente al proceso de medición, es importante también que las concentraciones cubran, en la medida de lo posible, todo el intervalo de interés, finalmente, el instrumento debe calibrarse de acuerdo con el procedimiento de calibración propuesto.

El resultado de medición para cada muestra de ensayo se calcula de acuerdo con el procedimiento documentado, una vez obtenidos estos valores, se grafican en función de las concentraciones conocidas de las muestras, como en la imagen 5B. El intervalo de trabajo y la linealidad del método se evalúan mediante una inspección visual del gráfico, con el apoyo de estadísticas y un gráfico de residuales de una regresión lineal.

La evaluación del intervalo de trabajo puede sustentarse con datos de estudio de precisión y sesgo, siempre y cuando los mismos cubran las concentraciones en todo el intervalo de trabajo del método.

Para finalizar, es importante establecer el intervalo de trabajo del método para cada matriz cubierta en el alcance del método, pues las interferencias pueden producir respuestas no lineales, y la capacidad del método para extraer/recuperar el analito puede variar en función de la matriz de la muestra.

## **Intervalo de linealidad**

Es el intervalo de concentraciones en el que el método es capaz de producir resultados directamente proporcionales a la concentración del analito. Para determinarlo se utilizan estándares del analito y se grafica la respuesta del instrumento en función de la concentración del estándar, con el apoyo de estadísticas y de un gráfico de residuales es posible obtener dicho intervalo <sup>(32)</sup>.

## **Linealidad**

Es la medida de la capacidad de un método para dar resultados directamente proporcionales a la concentración del analito dentro de un intervalo dado <sup>(32,33)</sup>.

## **Sensibilidad analítica**

La sensibilidad analítica se define como la variación de la respuesta del instrumento correspondiente a una variación de la magnitud medida (como una concentración de analito), es decir, es el gradiente de la curva de respuesta. La sensibilidad analítica es una característica de desempeño poco útil, sin embargo, al menos dos de sus aplicaciones son de interés general:

1. En ocasiones se conoce la sensibilidad analítica teórica, por ejemplo, muchos electrodos selectivos a iones muestran un comportamiento Nernstiano, por lo que es de esperar que la señal de un electrodo de vidrio de buen funcionamiento varíe en 0.059 V/pH.
2. En sistemas de medición espectrofotométrica es posible predecir la absorbancia a partir de la ley de Lambert-Beer, esto puede utilizarse como una verificación del desempeño del instrumento, y en ocasiones, las normas exigen realizar tales verificaciones.

Su valor corresponde a la pendiente del intervalo de trabajo, cuanto mayor sea ésta, el método será más sensible.

## **Veracidad**

La veracidad, precisión, exactitud e incertidumbre, son características de desempeño utilizadas para describir la calidad de los resultados obtenidos con un método. No obstante, con frecuencia los científicos utilizan diferentes conceptos, tales como tipos de error (aleatorio, sistemático y grosero), exactitud (veracidad y precisión) e incertidumbre, algunos de estos conceptos tienen un significado cualitativo mientras que otros son cuantitativos. Con los años, tanto los términos como las definiciones han cambiado, e incluso se han introducido nuevos, esto puede generar confusión, la imagen 8 muestra un esquema que ilustra las relaciones entre ellos.

La exactitud de medición expresa la proximidad de un único resultado a un valor de referencia. La validación de métodos trata de investigar la exactitud de los resultados evaluando los efectos sistemáticos y aleatorios sobre resultados

individuales, por lo que, normalmente se estudia como dos componentes: veracidad y precisión. Además, una expresión de exactitud cada vez más común es la incertidumbre de medición, pues proporciona un solo valor. A continuación se aborda con mayor detalle la definición de veracidad, mientras que la precisión se trata en otro apartado.

La veracidad de medición es una expresión de la proximidad de la media de un número infinito de resultados (generados con el método) a un valor de referencia. Puesto que es prácticamente imposible realizar un número infinito de mediciones, no es posible medir la veracidad, sin embargo, se puede hacer una evaluación práctica de ésta. Esta evaluación se expresa cuantitativamente en términos de sesgo.

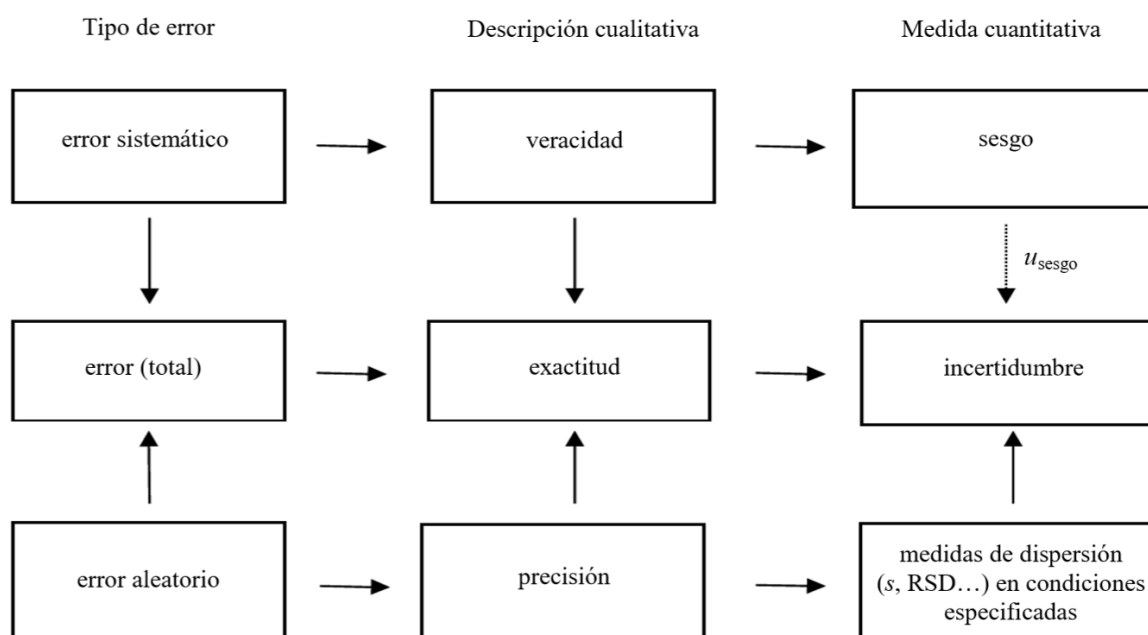


Imagen 7. Relación entre conceptos fundamentales que describen la calidad de los resultados de medición. Imagen recuperada de Guía Eurachem (32).

### Determinación del sesgo

Una determinación práctica del sesgo consiste en la comparación de la media de los resultados ( $x_m$ ) del método candidato con un valor de referencia adecuado ( $x_{ref}$ ). Existen tres enfoques generales: el análisis de materiales de referencia (MR), experimentos de recuperación utilizando muestras adicionadas y la comparación con resultados obtenidos mediante otro método. Los estudios de sesgo deben cubrir el alcance del método, por lo que pueden requerir el análisis de diferentes tipos de muestra y/o diferentes niveles de analito. Con el fin de lograr esto, es posible que se requiera una combinación de estos diferentes enfoques.

El sesgo (b) puede expresarse en términos absolutos, con tal motivo se tiene la siguiente expresión:

$$b = x_m - x_{ref}$$

*Ecuación 23. Sesgo.*

O en términos relativos, como un porcentaje, en cuyo caso se cuenta con la siguiente ecuación:

$$b (\%) = \frac{x_m - x_{ref}}{x_{ref}} \times 100$$

*Ecuación 24. Sesgo porcentual.*

O bien como recuperación relativa de adiciones, la expresión que permite su cálculo se muestra a continuación:

$$R' (\%) = \frac{x'_m - x_m}{x_{adición}} \times 100$$

*Ecuación 25. Recuperación relativa de adiciones.*

Donde  $x'_m$  es el valor medio de la muestra adicionada y  $x_{adición}$  es la concentración añadida. Finalmente, en algunos sectores de medición analítica también se utiliza la recuperación relativa (recuperación aparente) en porcentaje, este se calcula con la siguiente ecuación:

$$R (\%) = \frac{x_m}{x_{ref}} \times 100$$

*Ecuación 26. Recuperación aparente.*

Para determinar el sesgo utilizando un MR, se determina la media y la desviación estándar de una serie de mediciones repetidas y se comparan los resultados con el valor asignado para la propiedad del MR. El MR ideal es un material de referencia de matriz certificado con valores de las propiedades próximos a aquellos de las muestras de ensayo de interés. Cabe destacar que un MR debe utilizarse únicamente para un fin durante un estudio de validación, por ejemplo, un MR utilizado para la calibración no debe usarse para evaluar el sesgo. La disponibilidad de los MR es limitada, aunado a esto, es importante que el material seleccionado sea apropiado para su uso, por ejemplo, para trabajos normativos debe utilizarse un material certificado adecuado, de la misma matriz si es posible.

En ausencia de MR adecuados, es posible realizar estudios de recuperación (experimentos con adiciones) para dar una indicación del nivel de sesgo probable. Los analitos pueden estar presentes en una variedad de formas en la muestra, y a veces sólo alguna de ellas es la de interés. De este modo, el método puede diseñarse deliberadamente para determinar sólo una determinada forma del analito. La incapacidad de un método para determinar todo, o al menos parte del analito presente, refleja un problema inherente al método, por consiguiente, es necesario



evaluar la eficiencia del método para poder detectarlo en su totalidad. Para determinar el sesgo mediante esta modalidad, se deben de medir blancos de matriz o muestras de ensayo no adicionadas y adicionadas con el analito de interés en un intervalo de concentraciones, posteriormente se compara la diferencia entre el valor medio de adiciones y el valor medio con la concentración añadida, finalmente se calcula  $R'$  (%) como se muestra en la ecuación 25. Cabe destacar que es necesario comparar las muestras adicionadas con la misma muestra no adicionada para evaluar la recuperación neta de la adición.

Puede evaluarse el sesgo comparando los resultados del método candidato con los obtenidos mediante un método alternativo, por lo general existen dos tipos de métodos alternativos: un método de referencia o un método que actualmente se utilice de manera rutinaria en el laboratorio. Un método de referencia tiene como objetivo proporcionar un valor de referencia aceptado de la propiedad medida, y por lo general, proporcionará resultados con una menor incertidumbre que el método candidato. El segundo caso se presenta cuando el propósito de validación es demostrar que el método candidato da resultados equivalentes a los de un método existente. El objetivo en este caso es establecer que no existe un sesgo significativo en relación con los resultados generados por el método existente (aun cuando este método pueda estar sesgado por sí mismo). En ambos casos, se comparan los resultados del método candidato con los del método alternativo, para la misma muestra o muestras, las cuales pueden ser MR internos o simplemente muestras de ensayo típicas. La ventaja de este enfoque es que los materiales no tienen que ser MR certificados, ya que el método alternativo proporciona el valor de referencia, por lo que se puede poner a prueba el método en muestras reales representativas, como las que el laboratorio encontrará de manera rutinaria.

## **Precisión**

La repetición es clave esencial para obtener estimaciones fiables de las características de desempeño del método, como la precisión y el sesgo. Los experimentos que implican análisis repetidos deben diseñarse tomando en cuenta todas las variaciones en las condiciones operativas esperadas durante el uso rutinario del método, el objetivo debe ser el de determinar la variabilidad típica y no la variabilidad mínima.

La precisión es una medida de que tan cerca están los resultados entre sí, por lo general se expresa mediante parámetros estadísticos que describen la propagación de los resultados, usualmente 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. La decisión sobre las condiciones específicas es un aspecto importante en la evaluación de la precisión, puesto que éstas determinan el tipo de estimación obtenida de la misma. La repetibilidad y reproducibilidad son las dos medidas de precisión obtenibles. La documentación de métodos estandarizados, como la que proporciona ISO, normalmente incluirán tanto la repetibilidad como la reproducibilidad de los datos donde sean aplicables.

La repetibilidad es una medida de la variabilidad de los resultados cuando una medición se lleva a cabo por un solo analista, utilizando el mismo equipo y durante



un corto plazo de tiempo, y en principio, presenta la menor variación en los resultados.

La reproducibilidad es una medida de la variabilidad en los resultados entre laboratorios, y en teoría, debe dar la mayor variación en los resultados. Este término puede referirse también a la variación observada entre laboratorios utilizando diferentes métodos, pero con la intención de medir la misma magnitud.

Por último, la precisión intermedia ofrece una estimación de la variación en los resultados cuando las mediciones se realizan en un solo laboratorio, pero en condiciones más flexibles que las condiciones de repetibilidad, estas condiciones deben establecerse de manera exacta para cada caso. El objetivo es contar con una estimación de la precisión que refleje todas las fuentes de variación que se producirán en un solo laboratorio en condiciones de rutina, es decir, con diferentes analistas, en periodos de tiempo prolongados y con diferentes equipos.

### *Aspectos generales en la determinación de la precisión*

Debido a que la precisión por lo general depende de la concentración de analito, debe determinarse para una serie de concentraciones a través del intervalo de trabajo. Esto puede incluir una concentración particular de interés, además, de ser necesario, en niveles de concentración que se encuentren cercanos a los límites del intervalo de medición. En los casos en los que la concentración medida se encuentra muy por encima del límite de detección, la precisión que se determina es a menudo proporcional a la concentración del analito, en estos casos, es más apropiado expresar la precisión como una desviación estándar relativa, ya que ésta es aproximadamente constante a lo largo del intervalo de interés. Para los métodos cualitativos, la precisión no se puede expresar como una desviación estándar, pero puede expresarse como tasas verdaderas, y falsos positivos y negativos.

La evaluación de la precisión requiere de la realización de mediciones repetidas en materiales adecuados, los cuales deberán ser representativos de las muestras de ensayo en términos de la matriz y de la concentración del analito, la homogeneidad y la estabilidad, pero no es necesario que sean MR certificados. Las réplicas deben realizarse de manera independiente, esto es, someterse por completo al procedimiento de medición. El número mínimo especificado de repeticiones varía con los diferentes protocolos, pero por lo general se recomiendan de 6 a 15 para cada material utilizado en el estudio. Es necesario considerar la dificultad de estimar una desviación estándar fiable a partir de conjuntos de datos con pocas repeticiones, de ser posible, los valores calculados a partir de varias pequeñas series de mediciones repetidas se pueden combinar para obtener estimaciones con suficientes grados de libertad.

### **Incertidumbre**

Un tratamiento detallado de la incertidumbre de medida está fuera del alcance de este trabajo, sin embargo, se tratará de describirla brevemente de la mejor manera posible. La incertidumbre es un parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que pueden ser atribuidos

razonablemente al mensurando <sup>(34)</sup>. Una estimación de la incertidumbre deberá considerar todos los efectos reconocidos que operan en el resultado, las incertidumbres asociadas con cada efecto se combinan con base en procedimientos bien establecidos. A continuación se describen brevemente varios enfoques para obtener una estimación de la incertidumbre de los resultados de las mediciones químicas, éstos toman en cuenta:

- Precisión a largo plazo global del método (precisión intermedia y reproducibilidad)
- El sesgo y su incertidumbre
- Calibración de equipos e incertidumbres asociadas a las mismas
- Cualquier otro efecto significativo

En el caso de que la contribución de los efectos individuales sea considerable, por ejemplo, en los laboratorios de calibración, es necesario tener en cuenta las contribuciones individuales de todos los efectos individuales por separado.

## **Robustez**

La robustez de un procedimiento analítico es una medida de su capacidad para permanecer inalterable ante pequeñas variaciones premeditadas de los parámetros del método, y proporciona un indicativo de la fiabilidad del método durante su uso normal.

Un ensayo de robustez implica hacer cambios deliberados en el método e investigar el efecto subsiguiente en su desempeño. Es necesario identificar las variables en el método que tienen el efecto más significativo y garantizar que, cuando se usa el método, están controladas estrictamente. Donde existe una necesidad de perfeccionar más el método, las mejoras se pueden hacer mediante la concentración en aquellas partes del método conocidas por ser críticas.

La robustez debe establecerse en métodos de desarrollo interno, métodos adaptados de la literatura y métodos publicados por organismos de normalización utilizados fuera del alcance especificado. Cuando se utilizan métodos publicados por organismos de normalización dentro del alcance de la aplicación del método, la robustez por lo general ha sido estudiada como parte del proceso de normalización, por lo cual, un estudio de robustez se encuentra, en la mayoría de los casos, en el nivel donde hay más de un laboratorio. La información sobre la robustez se debe indicar en el procedimiento del laboratorio en forma de los límites de tolerancia establecidos para los parámetros experimentales críticos.

### **2.3.4 Herramientas de validación**

A lo largo de este apartado se han mencionado conceptos como blanco de reactivos, de muestra, etc. Estos y otros más constituyen herramientas necesarias durante el proceso de validación, a continuación se mencionan las definiciones de los de mayor importancia:

- **Analito.** Componente específico de una muestra a medir en un análisis.
- **Blanco de reactivos.** Reactivos utilizados durante el proceso analítico, incluyendo disolventes, los cuales son analizados para garantizar que la medición no es influenciada por los materiales usados durante el análisis.
- **Blanco de muestra.** Matrices que no contienen al analito de interés, son difíciles de obtener, no obstante, son necesarios para estimar las interferencias que pudieran encontrarse durante el análisis de las muestras de prueba.
- **Muestra adicionada o fortificada.** Porción representativa del material a evaluar, a la que se le adicionan cantidades conocidas del analito de interés.

Cabe recalcar que los estudios realizados para determinar los parámetros de desempeño deberán realizarse utilizando equipos dentro de las especificaciones, que trabajen correctamente y estén adecuadamente calibrados, así mismo, el analista tiene que ser técnicamente competente en el campo de trabajo bajo estudio y poseer el conocimiento suficiente sobre el trabajo a realizar, esto con el fin de que sea capaz de tomar decisiones apropiadas a partir de las observaciones hechas mientras avanza en el estudio.

### 2.3.5 Plan e informe de validación

Tanto los trabajos de validación, como la información de sus resultados, se realizarán atendiendo a un procedimiento documentado. El esquema del plan de validación y el informe de ésta puede establecerse en guías sectoriales, y las entidades de acreditación (nacionales e internacionales) pueden establecer requisitos mínimos para esta documentación. Un modelo sencillo que combina el plan y el informe de validación incluye las siguientes secciones:

- **Título.** En esta sección debe identificarse el método, quién y en qué momento se realizó la validación. Debe darse una breve información acerca del alcance y una sencilla descripción del método, así como la información sobre el estado del método, el analito, el mensurando, la unidad de medida, el tipo de muestra y el uso previsto.
- **Planificación.** En esta sección debe describirse el propósito y extensión de alcance del método. Deberá indicarse la extensión de la validación.
- **Características de desempeño.** Esta sección incluirá una breve explicación de las características de desempeño del método, requerimientos específicos, descripción de los experimentos a realizar y la evaluación de los resultados obtenidos. Deberán declararse los resultados y conclusiones derivados de los experimentos.

- **Resumen.** Esta última sección deberá recapitular el trabajo de validación y sus resultados. Debe realizarse una declaración sobre la adecuación al uso del método.

## Capítulo 3. Parte experimental

### 3.1 Equipos y materiales

- Cromatógrafo de líquidos constituido de dos bombas binarias modelo 1525, un automuestreador modelo 717 plus y un detector de conductividad modelo 432, todos ellos de la marca Waters.
- Purificador y desionizador de agua Milli-Q modelo 185 de Millipore.
- Potenciómetro marca OAKTON, modelo PC700 con electrodo combinado de vidrio.
- Conductímetro marca OAKTON, modelo PC700.
- Columna catiónica metrosep C4 100 de 100 x 4.0 mm de Metrohm, empacada con partículas de diámetro de 5  $\mu\text{m}$ .
- Columna catiónica metrosep C6 250 de 250 x 4.0 mm de Metrohm, empacada con partículas de diámetro de 5  $\mu\text{m}$ .
- Columna aniónica IC-Pak HR de 75 x 4.6 mm de Waters, empacada con partículas de diámetro de 5  $\mu\text{m}$ .
- Micropipeta Rainin Classic modelo 10824677G de 20-200  $\mu\text{L}$ .
- Micropipeta Rainin Classic modelo E0905676G de 100 a 1 000  $\mu\text{L}$ .
- Micropipeta Rainin Classic modelo H0968503G de 500 a 5 000  $\mu\text{L}$ .
- Jeringas de plástico.
- Filtros de nylon para jeringa con tamaño de poro de 0.45  $\mu\text{m}$  de la marca Sartorius.

### 3.2 Reactivos y disolventes

- Disolución acuosa de ácido 2,6-piridindicarboxílico (ácido dipicolínico), grado cromatográfico, de concentración 0.02 M, Sigma Aldrich.
- Ácido nítrico al 70 %, grado reactivo, Sigma Aldrich.
- Ácido clorhídrico al 37 %, grado reactivo, Sigma Aldrich.
- Estándar multielemental de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ , de concentración equivalente a 10 000 mg/L para cada catión, High Purity Standard.
- Estándar multielemental de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ , de concentración equivalente a 100 mg/L para cada catión, High Purity Standard.
- Estándar multielemental de  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{SO}_4^{2-}$ , de concentración equivalente a 100 mg/L para cada anión, Sigma Aldrich.
- Acetonitrilo, grado CLAR (> 99 %), Honey well.
- Metanol, grado CLAR (> 99 %), Tecsiquim.
- Butanol CHROMASOLV® Plus, grado CLAR (> 99 %), Sigma Aldrich.
- Ácido bórico, Aldrich, grado reactivo, ( $\geq 99$  %), Sigma Aldrich.
- Glicerina, grado reactivo ( $\geq 99$  %), Sigma Aldrich.
- Tetraborato de sodio, grado reactivo ( $\geq 99$  %), Sigma Aldrich.
- Gluconato de sodio, grado reactivo ( $\geq 99$  %), Sigma Aldrich.
- Carbonato de sodio, grado reactivo ( $\geq 99$  %), Sigma Aldrich.
- Anaranjado de metilo, Sigma Aldrich.

- Agua ultrapura, resistividad 18.2 m $\Omega$ \*cm a 25 °C.
- Estándar de calibración de conductividad,  $\Lambda = 1\ 413\ \mu\text{S}/\text{cm}$  a 25°, NIST Traceable Solutions, OAKTON.
- Estándares de calibración de pH 4, 7 y 10 (J.T. Baker)

### 3.3 Procedimiento experimental

#### 3.3.1 Descripción y conservación de las muestras de trabajo

Los suelos utilizados en este trabajo provienen del ex lago de Texcoco, ubicado en el municipio de Texcoco, Estado de México. Estos suelos se encuentran dentro de la clasificación de *Endogleyco sálico cálcico Solonetz*, el uso de suelo o vegetación es de zona desnuda en pastizal halófilo y el clima en la región es semiseco con verano fresco y lluvioso. El material parental es material tixotrópico lacustre, el drenaje natural es moderado, la condición de humedad en el perfil varía de fresca a húmeda, y como influencia humana tiene un sistema de riego por goteo para introducción de vegetación halófito. Los suelos presentan diferentes texturas, variando desde la franco arcillosa, franco arcillosa-limosa, franco limosa, limosa y hasta la arenosa arcillosa limosa. Finalmente, el muestreo tuvo una distribución espacial al azar y dos niveles para la barrera, en presencia y ausencia. Para la determinación de aniones y cationes se utilizaron muestras compuestas de suelo de todas las parcelas recolectadas en los meses de abril, agosto, diciembre de 2016 y abril de 2017 de acuerdo con lo reportado por Chávez (2019) <sup>(36)</sup>. Para el presente trabajo se utilizaron 54 muestras de suelo. A continuación, se muestra una imagen del perfil de suelo en la zona de estudio:



*Imagen 8. Perfil de suelo en la zona de estudio. Imagen recuperada de Chávez (2019).*

### 3.3.2 Preparación de las disoluciones saturadas de suelos

Para la preparación de las disoluciones saturadas de suelo de cada muestra de trabajo se utilizó el procedimiento reportado por Van Reeuwijk para la determinación de pH de la suspensión de sobrenadante de una mezcla de suelo/agua en proporción 1:2.5<sup>(35)</sup>. Siguiendo esta relación y de manera independiente para cada muestra, se mezclaron 20 g de suelo y 50 mL de agua desionizada (1:2.5), la mezcla resultante se dejó en agitación durante 18 horas, posteriormente se centrifugó durante 10 min a 3 000 rpm, y finalmente se filtró a través de membranas con tamaño de poro de 0.45  $\mu\text{m}$ . Las disoluciones resultantes se conservaron en tubos falcon en refrigeración a 4 °C.

### 3.3.3 Determinación de pH, $\Lambda$ y TDS

#### *a. Calibración del potenciómetro*

El potenciómetro se calibró con los estándares de calibración y siguiendo las instrucciones indicadas por el fabricante. Se midió el pH de cada estándar, del mayor al menor, y el valor mostrado por el instrumento se ajustó al valor de referencia correspondiente del estándar, finalizando así la calibración del instrumento.

#### *b. Determinación del pH*

Una vez calibrado el potenciómetro se procedió a determinar el pH de cada una de las disoluciones saturadas de suelo, para lo cual se introdujo el electrodo dentro del tubo falcon, cuidando de que éste estuviese bien sumergido, pero también procurando que no desbordara la disolución, posteriormente se esperó que la lectura de pH se mantuviera constante y se registró ese valor.

#### *c. Calibración del conductímetro*

El conductímetro se calibró como lo indica el fabricante, se midió la conductividad del estándar de calibración y el valor mostrado por el instrumento se ajustó al valor de referencia ( $\Lambda = 1\,413\ \mu\text{S}$ ), finalizado este procedimiento se realizaron las mediciones de conductividad.

#### *d. Determinación de la conductividad y TDS*

La conductividad se determinó de manera similar al pH, se introdujo el electrodo dentro del tubo falcon, cuidando de que estuviese bien sumergido sin que provocase un derrame de la disolución, se esperó que la lectura del conductímetro fuese constante y se registró ese valor. Para obtener la cantidad de sólidos totales disueltos (TDS) se utilizó un factor de conversión dado por el fabricante del estándar de calibración (0.53), dicho factor se multiplicó por el valor obtenido de  $\Lambda$  para cada disolución saturada de suelo, obteniéndose así el valor de TDS correspondiente.



### 3.3.4 Análisis por cromatografía iónica

#### a. Determinación simultánea de $\text{Na}^+$ , $\text{NH}_4^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{Ca}^{2+}$ y $\text{Mg}^{2+}$

En esta determinación se utilizó como fase estacionaria la columna catiónica metrosep C6, mientras que la fase móvil fue una mezcla de ácido dipicolínico/ácido nítrico diluido (1.7 mM de cada uno), a un flujo de 0.9 mL/min en modo isocrático, con detección conductimétrica. La determinación de las concentraciones de estos cationes se llevó a cabo mediante la metodología descrita por Galindo (2016) <sup>(37)</sup>.

#### b. Determinación simultánea de $\text{Ca}^{2+}$ y $\text{Mg}^{2+}$

Para esta determinación se usó como fase estacionaria la columna catiónica metrosep C4, mientras que la fase móvil fue una mezcla de ácido dipicolínico/ácido nítrico diluido (1.7 mM/0.7 mM, respectivamente), a un flujo de 0.9 mL/min en modo isocrático, con detección conductimétrica. La determinación de las concentraciones de estos cationes se realizó utilizando curvas de calibración externas.

#### c. Determinación simultánea de $\text{F}^-$ , $\text{Cl}^-$ , $\text{Br}^-$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{PO}_4^{3-}$ y $\text{SO}_4^{2-}$

En el análisis de estas especies se utilizó como fase estacionaria la columna aniónica IC-Pak HR, y como fase móvil se usó una mezcla que contiene 2 % de butanol, 2 % de un concentrado de gluconato/borato y 12 % de acetonitrilo en agua ultrapura, la composición del concentrado es el siguiente: 1.6 % de gluconato de sodio, 1.8 % de ácido bórico, 2.5 % de tetraborato de sodio y 25 % de glicerol en agua ultrapura, a un flujo de 1 mL/min en modo isocrático, con detección conductimétrica. La determinación de las concentraciones de estos aniones se realizó de acuerdo con lo descrito por Ramírez (2018) <sup>(38)</sup>.

### 3.3.5 Determinación por valoraciones potenciométricas

#### a. Preparación y normalización de la disolución de HCl (0.0116 M)

Se prepararon 4 L de una disolución de HCl de concentración aproximada a 0.01 M a partir de ácido clorhídrico concentrado (37 %), con este fin, se tomaron 3.84 mL de esta disolución y se llevaron a volumen final aproximado de 4 L medido con material graduado. La normalización de la disolución resultante se realizó utilizando como patrón primario carbonato de sodio y como indicador del punto final de la valoración anaranjado de metilo, para efectuarla se pesaron aproximadamente 0.015 g del patrón primario y se valoraron con la disolución de HCl, este procedimiento se realizó 4 veces de manera independiente, de tal forma que la concentración de la disolución de HCl se reportó como el valor promedio de éstas.



### *b. Determinación de $\text{HCO}_3^-$ y $\text{CO}_3^{2-}$*

Para la cuantificación de estas especies se tomó una alícuota de 0.5 mL de la muestra (disolución saturada de suelo) a la que se le añadieron 9.5 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  desionizada. La disolución resultante se tituló potenciométricamente con la disolución del HCl de concentración previamente normalizada con carbonato de sodio, utilizando un electrodo de vidrio combinado.

### **3.3.6 Validación de la metodología utilizada para determinar $\text{Ca}^{2+}$ y $\text{Mg}^{2+}$**

Debido a que la metodología de cromatografía catiónica que utiliza como fase estacionaria la columna catiónica metrosep C4 y como fase móvil la mezcla de ácido dipicolínico/ácido nítrico (1.7 mM/0.7 mM), aún no se encontraba validada, fue necesario determinar los siguientes parámetros de desempeño: intervalo lineal, precisión, exactitud, límites de detección y cuantificación, así como el análisis de interferencias mediante experimentos de recobro. Cabe mencionar que esta metodología puede determinar simultáneamente  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ , por lo que se decidió realizar la validación para las cuatro especies. El procedimiento correspondiente para cada uno de estos parámetros se describe a continuación.

#### *a. Intervalo lineal*

Para la evaluación de este parámetro se prepararon estándares de los cuatro cationes con concentraciones comprendidas dentro del intervalo de 0.02 mg/L a 250 mg/L en agua desionizada. Cada nivel de concentración se preparó de manera independiente por triplicado <sup>(34)</sup>.

#### *b. Precisión*

Este parámetro se determinó para tres niveles de concentración de cada analito (inferior, medio y superior), los cuales se prepararon por sextuplicado de manera independiente. La evaluación de este parámetro se realizó mediante el cálculo del porcentaje del coeficiente de variación (% CV) de las áreas de la señal analítica determinadas para cada catión en cada repetición y en sus respectivos niveles de concentración. <sup>(34)</sup> La ecuación para determinar % CV se muestra a continuación:

$$\% CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100$$

*Ecuación 27. Porcentaje del coeficiente de variación.*

#### *c. Exactitud*

Se determinó para tres niveles de concentración (inferior, medio y superior) de cada analito, los cuales se prepararon por sextuplicado de manera independiente. A partir de los valores de las áreas determinados para cada catión y de los parámetros de regresión obtenidos de sus respectivas curvas de calibración, se determinó la concentración de cada estándar y se comparó con el valor teórico. La exactitud se

reporta como el porcentaje de error. La expresión utilizada se muestra a continuación:

$$\% \text{ Error} = \frac{\text{Cexperimental} - \text{Cesperada}}{\text{Cesperada}} \times 100$$

*Ecuación 28. Porcentaje de error en la determinación de exactitud.*

*c. Límites de detección (LD) y de cuantificación (LC)*

Para la determinación de los límites de detección y de cuantificación, se prepararon por septuplicado y de manera independiente diferentes estándares de baja concentración (comprendidos entre 0.02 y 0.5 mg/L) de cada analito, los cuales proporcionarían una señal analítica diferenciable del ruido. Con los valores del área correspondiente determinados para cada catión, se calculó su media y su desviación estándar. El límite de detección se reporta de acuerdo con lo establecido por Miller y Miller (2002) <sup>(38)</sup> utilizando la siguiente ecuación:

$$LD = \bar{x} + 3s$$

*Ecuación 29. Límite de detección.*

Mientras que el límite de cuantificación se determinó con la ecuación 30:

$$LC = \bar{x} + 10s$$

*Ecuación 30. Límite de cuantificación.*

Finalmente, los valores obtenidos de LD y LC fueron convertidos a unidades de concentración utilizando los parámetros de regresión de la respectiva curva de calibración.

*d. Recobros*

Para la evaluación de la existencia de posibles interferencias de matriz, se fortificaron, en tres niveles de concentración, 5 muestras de las disoluciones saturadas de suelo de trabajo. El criterio de selección de las muestras está basado en que las concentraciones determinadas de sodio, potasio, calcio y magnesio, determinadas con las curvas de calibración externas, se encontrasen dentro del intervalo lineal establecido para cada analito. Cada proceso de fortificación se realizó por quintuplicado y de manera independiente. Debido a que la muestra sufre una dilución al agregar el volumen del estándar de fortificación, fue necesario preparar blancos de todas las muestras para cada nivel de concentración de fortificación empleado. El procedimiento de preparación de estos fue el mismo que el utilizado para los fortificados, sólo que en lugar de utilizar el volumen del estándar de trabajo, se utilizó el volumen correspondiente de agua desionizada. A partir de los valores de área determinados para cada analito, tanto en la muestra fortificada como en el blanco de muestra, y de los parámetros de regresión determinados

durante la evaluación del intervalo de linealidad, se calcularon las concentraciones de las muestras, con y sin fortificación. Para cada nivel de fortificación fue necesario obtener la diferencia entre la concentración en la muestra fortificada y la concentración en el respectivo blanco de muestra ( $C_{fortificada}$ ). Finalmente, se reportan los valores de recobro de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Recobro} = \frac{C_{fortificada}}{C_{fortificación}} \times 100$$

*Ecuación 31. Recobros.*

En donde  $C_{fortificación}$  es la concentración del nivel de fortificación empleado.

## Capítulo 4. Resultados y discusión

### 4.1 Resultados y discusión de la determinación de pH, $\Lambda$ , TDS y iones mayoritarios

#### 4.1.1 Determinación de pH, $\Lambda$ y TDS

Las disoluciones saturadas de suelo presentaron valores de pH comprendidos en el intervalo de 9.6 a 10.2, los valores de conductividad de éstas se encuentran dentro del intervalo de 46.5 a 108 mS, mientras que los valores de TDS están dentro del intervalo de 24 645 a 57 240 mg/L. En la siguiente tabla se presentan los intervalos ya descritos para cada parámetro:

*Tabla 1. Intervalos de pH, conductividad y sólidos totales disueltos de las disoluciones saturadas de suelo analizadas.*

Parámetro	Intervalo
pH	9.6 - 10.2
$\Lambda$ (mS)	46.5 – 108
TDS (mg/L)	24 645 - 57 240

Los datos completos de pH,  $\Lambda$  y TDS se encuentran en el anexo I. Como se puede observar en la tabla 1, todas las muestras tienen un pH básico, el valor promedio de pH en las muestras es de 9.9, mientras que su desviación estándar es de 0.14, por lo que se observa que el pH no varía significativamente entre cada muestra (tabla 1). El pH de un suelo determina su acidez o alcalinidad, además provee un panorama bastante amplio en cuanto a las condiciones fundamentales del suelo, ya sea de los procesos de formación de estos, de la disponibilidad de los nutrientes esenciales para las plantas, así como de la idoneidad de un suelo en lo concerniente al crecimiento de éstas, entre otras. En cuanto a la productividad de los suelos en función del pH, para la mayoría de las plantas un intervalo de pH entre 5.5 y 7.0 es el óptimo para su crecimiento. La NOM-021-RECNAT-2000 establece los siguientes parámetros para la clasificación de los suelos con respecto a su pH:

*Tabla 2. Criterios de clasificación de los suelos en función del pH.*

Clasificación	Criterio
Fuertemente ácido	pH <5
Moderadamente ácido	$5.1 \leq \text{pH} \leq 6.5$
Neutro	$6.6 \leq \text{pH} \leq 7.3$
Medianamente alcalino	$7.4 \leq \text{pH} \leq 8.5$
Fuertemente alcalino	pH > 8.5

Con base en lo estipulado por esta norma, los suelos analizados son fuertemente alcalinos, lo cual significa que no son propicios para cultivo. Finalmente, es importante destacar que el método utilizado para determinar el pH permite obtener

el valor de éste en las condiciones más cercanas a las de campo, por lo que no es necesario hacer ningún tipo de corrección. Con respecto a la conductividad, se puede apreciar en la tabla 1 que existe una mayor variación de esta propiedad en las muestras de estudio, pues el intervalo de conductividades observadas tiene un valor promedio de 77.10 mS, cuya desviación estándar es de 15.31 mS, a partir de estos datos se infiere que hay una gran variación en los resultados obtenidos de conductividad eléctrica de los suelos analizados. La conductividad eléctrica de un suelo es una propiedad directamente relacionada con la salinidad de los suelos y funciona como una medida indirecta de la cantidad de sales presentes en estos, también funge como un importante indicador de la salud de un suelo, pues al igual que el pH, afecta los rendimientos de los cultivos y la disponibilidad de los nutrientes esenciales. Aquellos suelos con altos valores de conductividad, por lo general tienen un alto contenido de sales sódicas, en estas condiciones, uno de los principales problemas es la toxicidad que probablemente presenten en los cultivos, pues aunque cada planta presenta un valor diferente de tolerancia salina, en condiciones extremas cualquiera se verá fuertemente afectada. La NOM-021-RECNAT-2000 establece la siguiente clasificación de suelos con respecto a su conductividad:

*Tabla 3. Clasificación de los suelos con respecto a su conductividad eléctrica.*

<b>Efectos</b>	<b>Conductividad (mS)</b>
<b>Efectos despreciables de la salinidad</b>	$\Lambda < 1.0$
<b>Muy ligeramente salino</b>	$1.1 \leq \Lambda \leq 2.0$
<b>Moderadamente salino</b>	$2.1 \leq \Lambda \leq 4.0$
<b>Suelo salino</b>	$4.1 \leq \Lambda \leq 8.0$
<b>Fuertemente salino</b>	$8.1 \leq \Lambda \leq 16.0$
<b>Muy fuertemente salino</b>	$\Lambda > 16.0$

Como se puede apreciar en la tabla 1, todas las muestras de suelo analizadas tienen valores de conductividad que las clasifican como provenientes de suelos muy fuertemente salinos. Finalmente, existe una correlación entre la conductividad eléctrica y los sólidos totales disueltos (TDS), pues la conductividad, como ya se mencionó, está directamente relacionada con la cantidad de sales presentes en un medio dado, de forma tal que, a mayor contenido de sales en dicho medio, mayor será la conductividad, por eso se observa (tabla 1) que la  $\Lambda$  y los TDS tienen una tendencia similar. Lo anteriormente expuesto, aunado con los resultados obtenidos de pH, indica la presencia de altos contenidos de sales de sodio y/o potasio que están generando altos valores de pH y conductividad, no obstante, es necesario confirmar esta aseveración mediante una determinación de aniones y cationes mayoritarios.

#### **4.1.2 Determinación de Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>**

La determinación de Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup> se realizó mediante cromatografía catiónica. En un principio se esperaba que su análisis pudiera realizarse únicamente con la columna catiónica metrosep C6, como lo describe Galindo (2016) en su

trabajo, puesto que dicha metodología permite cuantificar sin traslapamiento de señales estos cationes, incluso si sus concentraciones son altas. A modo de ejemplo se muestra un cromatograma de dicho trabajo:

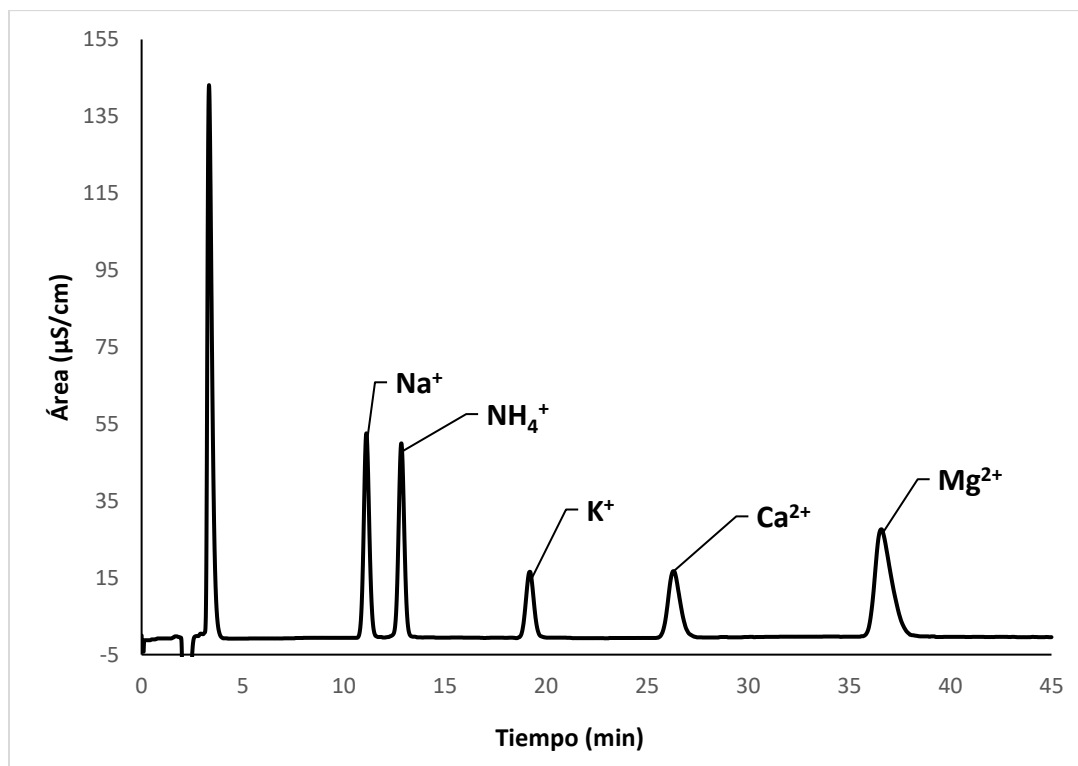


Imagen 9. Cromatograma de estándar de cationes de 10 mg/L. Imagen recuperada de Galindo (2016).

Sin embargo, debido a que las muestras de trabajo presentaron altos contenidos salinos, fue necesario realizar un paso previo de dilución antes de realizar su inyección al cromatógrafo. Desafortunadamente las muestras presentaron muy altos contenidos de sodio y potasio con respecto al calcio y magnesio, razón por la que fue preciso emplear más de un factor de dilución para poder determinar de buena forma los cuatro cationes en cada una de las muestras, siendo así necesario realizar más de un análisis por cromatografía, tomando en cuenta que para cada análisis se requerían de aproximadamente 50 minutos con la columna C6, se pensó en trabajar con otra columna catiónica que presenta tiempos de análisis más cortos (15 minutos). De esta forma se decidió analizar sólo al sodio y potasio con la columna de alta capacidad de carga (C6) con factores de dilución altos (1:40, 1:60 ó 1:80), y calcio y magnesio con la columna C4 (baja capacidad de carga) con un factor de dilución de la muestra 1:10. A continuación se muestran dos cromatogramas obtenidos con cada una de las dos columnas utilizadas con el fin de ejemplificar de manera gráfica lo anteriormente expuesto:

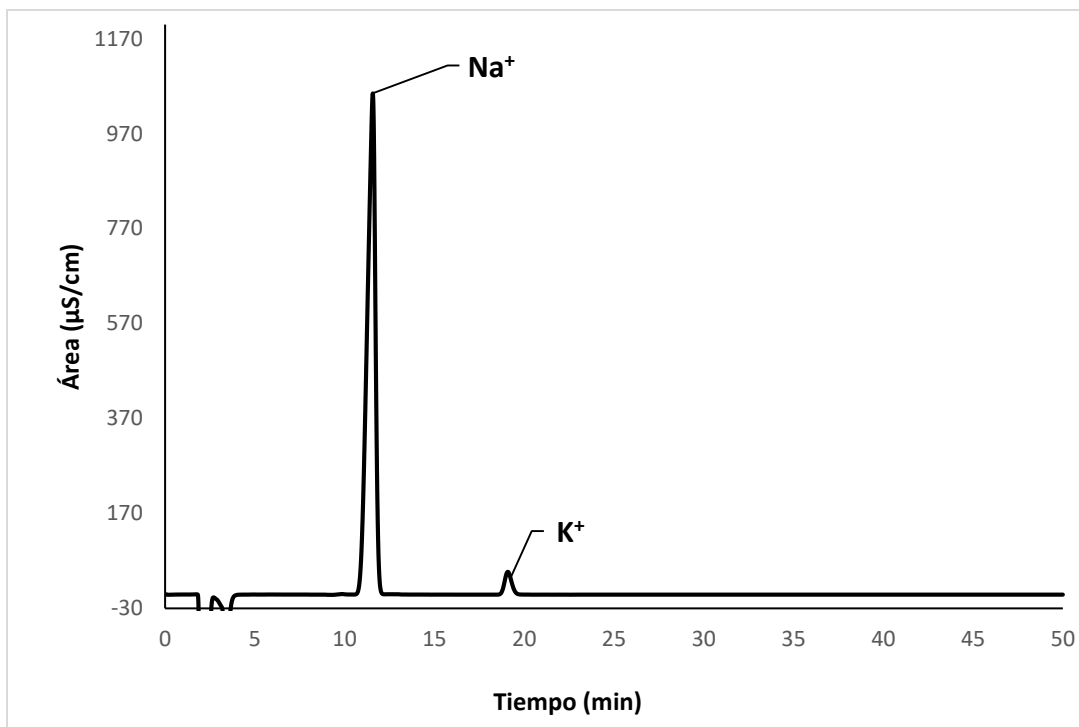


Imagen 10. Cromatograma obtenido con la columna C6 de una muestra diluida con un factor de dilución 1:60.

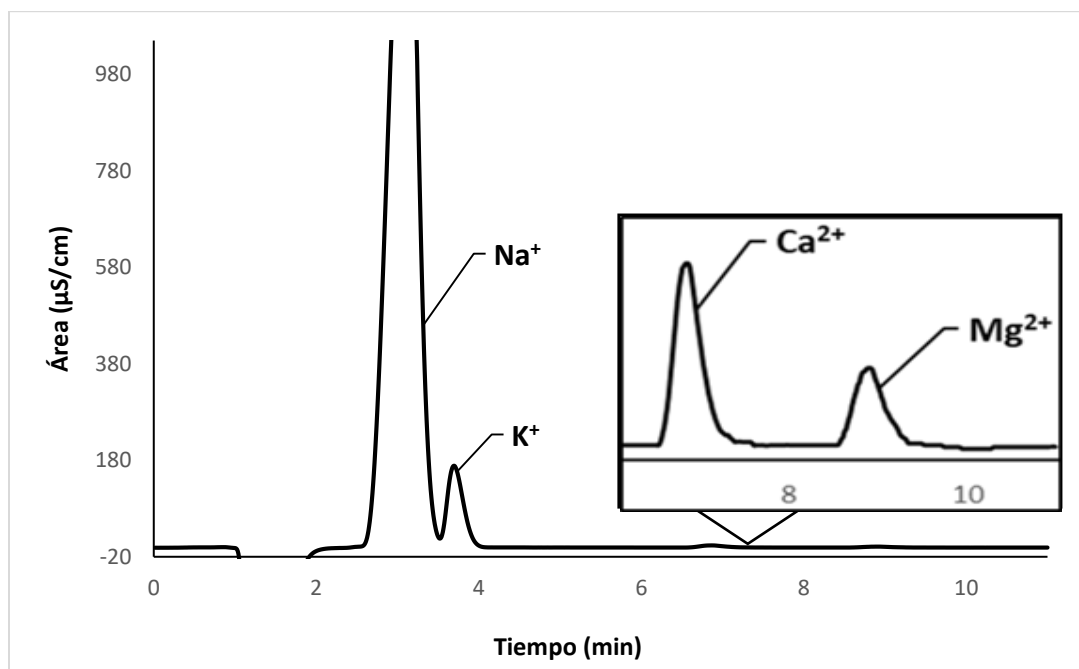


Imagen 11. Cromatograma obtenido con la columna C4 de una muestra diluida con un factor de dilución 1:10.

Una vez obtenidos los cromatogramas se procedió a integrar el área bajo el pico cromatográfico para obtener, con ayuda de curvas de calibración externas y el factor de dilución empleado, la concentración correspondiente a cada analito. Los valores

del área del pico cromatográfico, así como su respectiva concentración se muestran en el anexo II.

En cuanto a la concentración de los cationes, se encontró que los valores de concentración de  $\text{Na}^+$  en las muestras se encuentran dentro del intervalo comprendido entre 13 440.4 a 36 847.0 mg/L, el contenido de  $\text{K}^+$  varía dentro del intervalo de 904.3 a 2 696.4 mg/L, con respecto al  $\text{Ca}^{2+}$  los valores se encuentran dentro del intervalo de 0.6 a 5.2 mg/L, mientras que para el  $\text{Mg}^{2+}$  el intervalo es de 4.2 a 46.7 mg/L. Es importante mencionar que no se detectó la presencia de  $\text{NH}_4^+$ . En la siguiente tabla se muestran los intervalos de concentraciones de los cationes determinados:

*Tabla 4. Intervalo de concentraciones de los cationes determinados.*

<b>Catión</b>	<b>Intervalo (mg/L)</b>
<b><math>\text{Na}^+</math></b>	13 440.4 - 36 847.0
<b><math>\text{NH}_4^+</math></b>	< LD
<b><math>\text{K}^+</math></b>	904.3 - 2 696.4
<b><math>\text{Ca}^{2+}</math></b>	4.2 - 46.7
<b><math>\text{Mg}^{2+}</math></b>	0.6 - 5.2

**LD para amonio = 0.2 mg/L.**

Como se puede apreciar en la tabla 4 y en el anexo II, existe una gran variación en los contenidos de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  en las muestras de disoluciones saturadas de suelo analizadas. Con respecto al sodio, el valor promedio de concentración de este analito fue de 24 422.4 mg/L, con un valor de desviación estándar de 5 992.8 mg/L, mientras que para el  $\text{K}^+$ , el valor promedio de su concentración fue de 1 670.7 mg/L, con un valor de desviación estándar de 447.2 mg/L. Con base en estos resultados se confirma lo anteriormente expuesto al discutir los resultados de conductividad, a saber, la presencia de una gran variación de los contenidos iónicos, los cuales, al considerar únicamente la componente catiónica, se encuentran referidos a las concentraciones presentes de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ . De esta forma se confirma que las muestras que presentan las concentraciones de sodio y potasio más altas son también las que exhiben los valores de conductividad más elevados. Dichos contenidos indican que estos iones son las principales especies catiónicas que fijan la salinidad (componente catiónica) de los suelos de trabajo, y a su vez ratifican la clasificación hecha de estos con base en su conductividad eléctrica, la cual es que son suelos fuertemente salinos.

Los resultados indicaron bajas concentraciones de calcio y magnesio. En cuestión del  $\text{Ca}^{2+}$ , el valor promedio de concentración de este ion fue de 8.2 mg/L, con un valor de desviación estándar de 5.6 mg/L. Con respecto al  $\text{Mg}^{2+}$ , el valor promedio de concentración del ion encontrado fue de 1.2 mg/L, con una desviación estándar



de 0.7 mg/L. Si bien se observan variaciones de concentración más altas para estos dos iones con respecto a lo encontrado para sodio y potasio, sus concentraciones totales son mínimas al compararlas con las observadas en estas dos especies, por lo que es posible afirmar que la salinidad de los suelos de estudio (en su componente catiónica) está establecida por los iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ . En lo que respecta a su papel como macronutrientes secundarios, el bajo contenido de calcio y magnesio presente en los suelos analizados, así como su alta salinidad, permite confirmar la aseveración de que no son propicios para cultivo, y dado el caso, serían muy poco productivos.

#### 4.1.3 Determinación de $\text{F}^-$ , $\text{Cl}^-$ , $\text{Br}^-$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{PO}_4^{3-}$ y $\text{SO}_4^{2-}$

La determinación de  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{SO}_4^{2-}$  se llevó a cabo mediante cromatografía aniónica. Las muestras fueron diluidas para su adecuado análisis (1:10). Una vez obtenidos los cromatogramas se procedió a integrar el área bajo el pico cromatográfico para obtener, con ayuda de curvas de calibración externas de acuerdo con lo reportado por Ramírez (2018) y el factor de dilución empleado, la concentración correspondiente de cada analito, a continuación se muestra un cromatograma del trabajo ya mencionado y otro obtenido para una de las muestras analizadas:

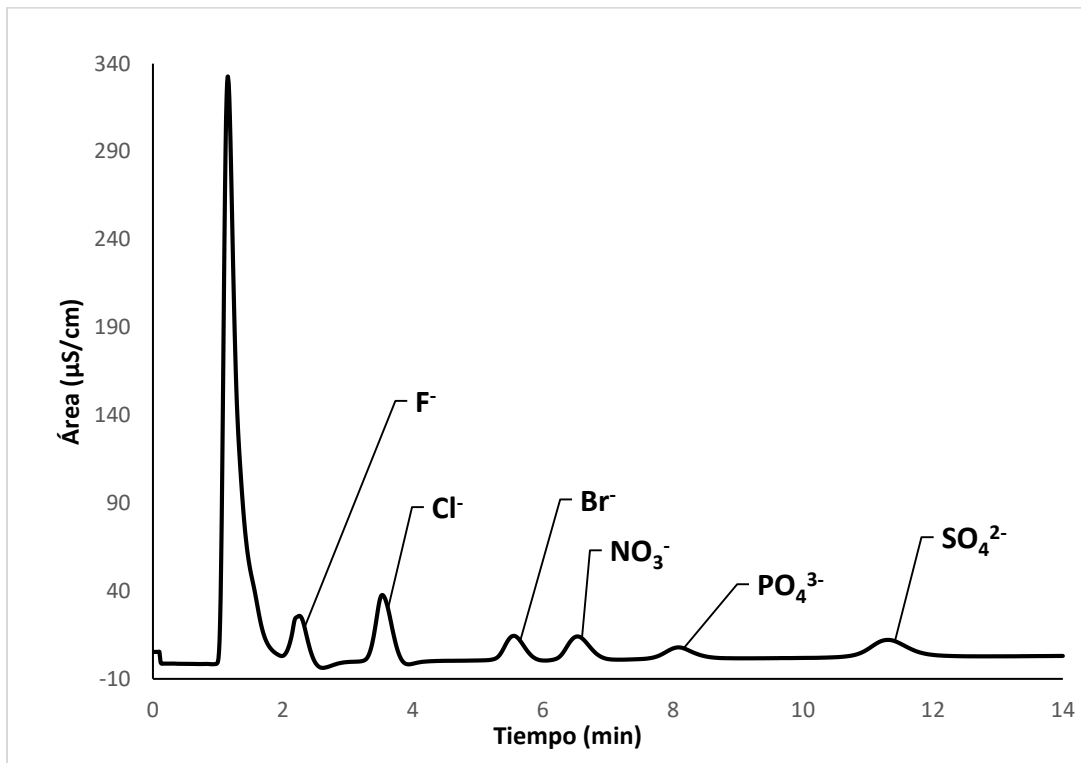


Imagen 12. Cromatograma de estándar de aniones de 100 mg/L. Imagen recuperada de Ramírez (2018).

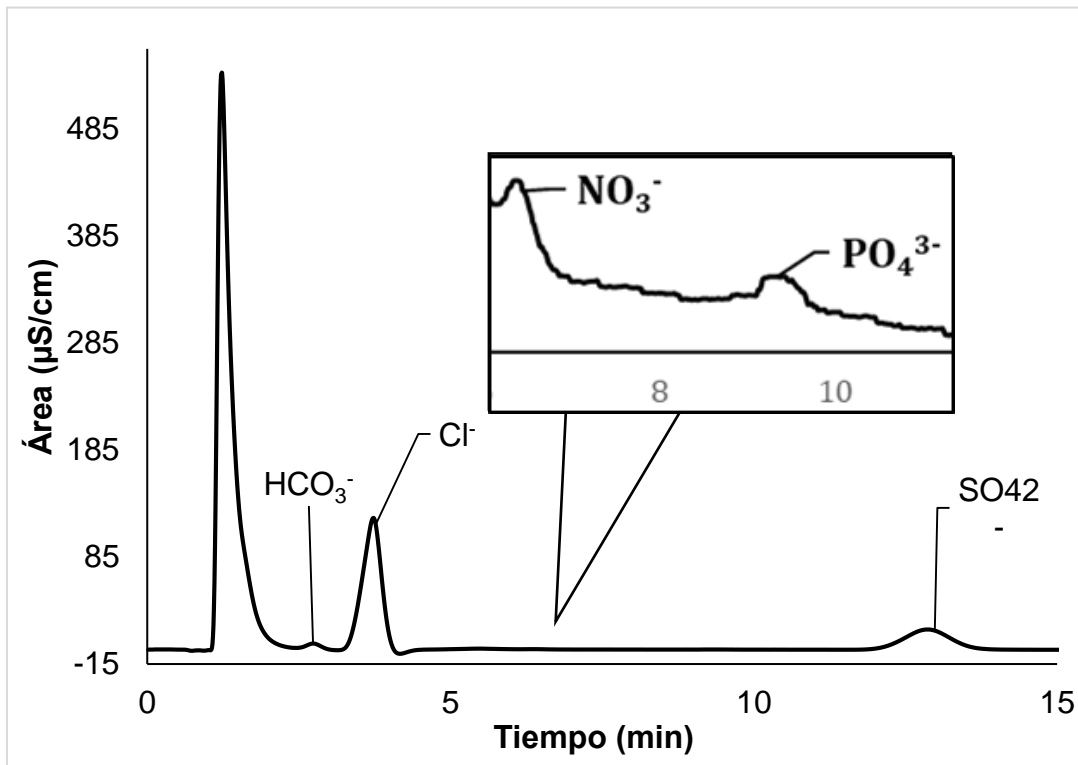


Imagen 13. Cromatograma obtenido de una muestra analizada con un factor de dilución 1:10.

Los valores de área bajo el pico cromatográfico junto con su respectiva concentración se encuentran en el anexo III. Los resultados indican que el contenido de cloruro en las muestras varía dentro del intervalo comprendido entre 9 548.7 y 29 392.3 mg/L, el contenido de  $\text{NO}_3^-$  varía en el intervalo comprendido entre 18.8 y 359.8 mg/L, el intervalo para  $\text{SO}_4^{2-}$  va de 9 092.8 a 31 008.3 mg/L, mientras que el intervalo de  $\text{PO}_4^{3-}$  se encuentra entre 21.8 y 170.7 mg/L. Cabe mencionar que no se detectó la presencia de  $\text{F}^-$  ni de  $\text{Br}^-$  (ver tabla 5).

Tabla 5. Intervalos de concentración de los aniones determinados.

Anión	Intervalo (mg/L)
$\text{F}^-$	< LD
$\text{Cl}^-$	9 548.7 - 29 392.3
$\text{Br}^-$	< LD
$\text{NO}_3^-$	18.8 - 359.8
$\text{PO}_4^{3-}$	21.8 - 170.7

Anión	Intervalo (mg/L)
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	9 092.8 - 31 008.3

**LD para fluoruro es de 5 mg/L y para bromuro de 2.2 mg/L.**

Como se puede apreciar en la tabla 5 y en el anexo III, existe una gran variación del contenido de Cl<sup>-</sup> en las muestras de suelo analizadas, el valor promedio de concentración de Cl<sup>-</sup> es de 19 100.2 mg/L, con una desviación estándar de 5 554.2 mg/L. El Cl<sup>-</sup> es otro ion que contribuye a la salinidad de los suelos, los altos valores encontrados en las muestras de trabajo confirman aún más lo ya deducido con los resultados de conductividad y los contenidos de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>, a saber, que los suelos son altamente salinos. Considerando los altos contenidos encontrados de los aniones sulfato y cloruro y de los cationes sodio y potasio, es seguro decir que la alta salinidad de los suelos analizados proviene en mayor medida de compuestos como NaCl, KCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. En cuestión de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, el valor promedio de este analito es de 108.7 mg/L, con una desviación estándar de 67.0 mg/L. Con respecto al SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, el valor promedio de este ion es de 19 347.5 mg/L, con una desviación estándar de 5 521.3 mg/L. Por último, el valor promedio de PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> es de 96.19 mg/L, con una desviación estándar es de 27.09 mg/L. Tanto el N como el P son considerados macronutrientes primarios, los cuales se pueden obtener de diferentes compuestos que contengan al elemento, sin embargo, en este caso la concentración de ambos es muy poca comparada con la concentración de aquellos iones que contribuyen en la salinidad, por lo que, aun si estuvieran presentes en la cantidad suficiente para permitir el crecimiento de cultivo, el efecto de la salinidad sería muchísimo mayor y lo afectaría significativamente, con lo cual se concluye que los suelos no son aptos para cultivo.

Finalmente, como se puede apreciar en la imagen 13, la metodología utilizada para la determinación de aniones mayoritarios también es capaz de cuantificar HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, sin embargo, la fase móvil utilizada impone un valor de pH que sólo permite determinar bicarbonatos totales, no obstante, por los requerimientos del análisis, era necesario diferenciar entre bicarbonatos y carbonatos presentes en las muestras, razón por la cual se optó por la potenciometría para lograr tal objetivo. Los resultados obtenidos a partir de ésta se muestran en el siguiente apartado.

#### **4.1.4 Determinación de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> y CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>**

La cuantificación de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> y CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> se realizó mediante la valoración potenciométrica de las disoluciones saturadas de suelo con una disolución de HCl previamente normalizado (0.0116 M). Esto debido a que el método de cromatografía aniónica no permite diferenciar entre ambas especies, pues su fase móvil impone un pH de 10.2, valor en el que tanto HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> como CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> están presentes en disolución. Para ilustrar mejor lo anteriormente expuesto se muestra el gráfico de coeficiente de especiación (α) con respecto al pH del ácido carbónico:

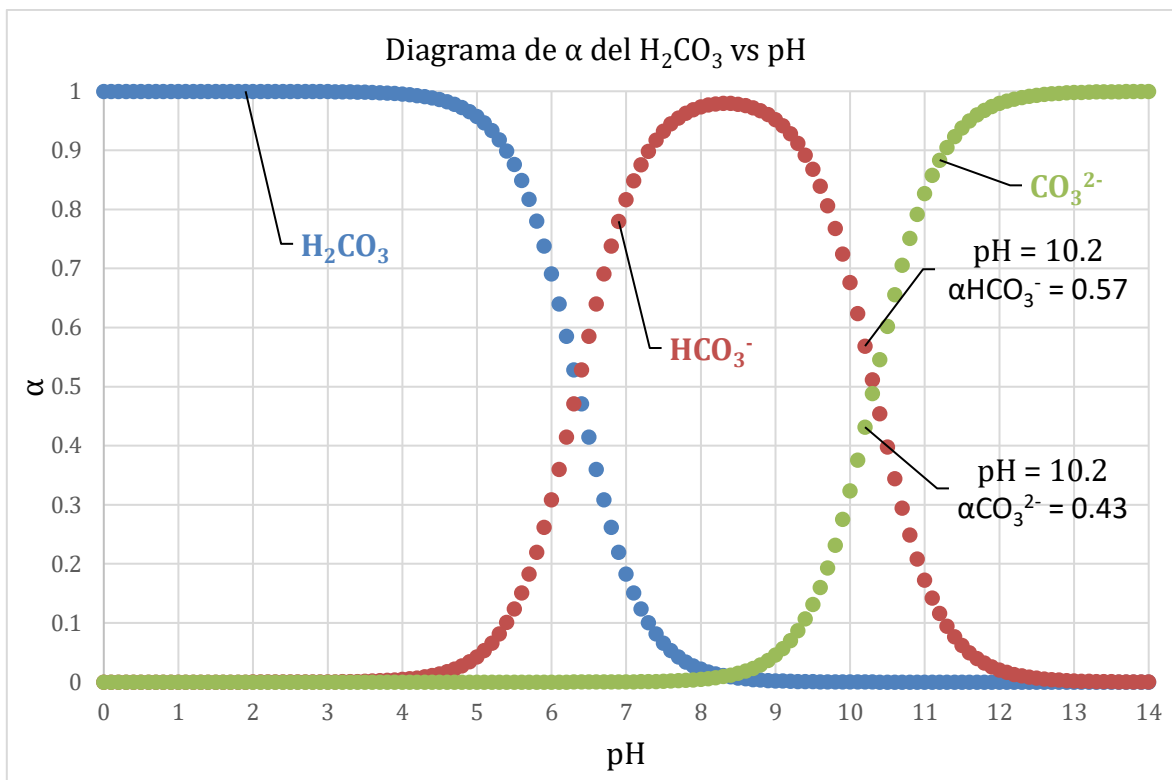


Imagen 14. Diagrama de coeficiente de especiación con respecto a pH del ácido carbónico.

La imagen 14 permite corroborar lo anteriormente expuesto, en ésta se observa que a pH = 10.2, ambas especies se encuentran en la disolución. Es cierto que el  $\text{HCO}_3^-$  es la especie que predomina, sin embargo, la proporción de  $\text{CO}_3^{2-}$  en disolución no es despreciable, lo que hace prácticamente imposible su diferenciación mediante cromatografía aniónica. Dado que uno de los propósitos de este trabajo era determinar el contenido de  $\text{HCO}_3^-$  y  $\text{CO}_3^{2-}$  en las muestras de suelo, era necesario poder distinguir a los bicarbonatos y carbonatos originalmente presentes en las muestras de sus formas derivadas a raíz del pH de la fase móvil. Por esta razón se utilizaron valoraciones potenciométricas, pues éstas sí permiten distinguirlos.

Los puntos de equivalencia fueron determinados mediante el método de la primera derivada. A modo de ejemplo, se muestran a continuación los datos generados en la valoración de la muestra T1, así como los obtenidos con el método de la primera derivada:

Tabla 6. Datos de la curva de valoración y primera derivada de la muestra T1.

Volumen titulante (mL)	pH	Volumen promedio (mL)	$\frac{\Delta\text{pH}}{\Delta\text{mL}}$
0	10.6	---	---
0.5	10.4	0.25	0.4
1	10.3	1	0.2
1.5	10.1	1.75	0.4
2	10	2.5	0.2

Volumen titulante (mL)	pH	Volumen promedio (mL)	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL}$
2.5	9.8	3.25	0.4
3	9.6	4	0.4
3.5	9.3	4.75	0.6
4	9	5.5	0.6
<b>4.5</b>	<b>8.1</b>	<b>6.25</b>	<b>1.8</b>
5	7.6	7	1
5.5	7.4	7.75	0.4
6	7.3	8.5	0.2
6.5	7.3	9.25	0
7	7.1	10	0.4
7.5	7	10.75	0.2
8	6.8	11.5	0.4
8.5	6.7	12.25	0.2
9	6.4	13	0.6
9.5	6	13.75	0.8
10	5.1	14.5	1.8
<b>10.5</b>	<b>4</b>	<b>15.25</b>	<b>2.2</b>
11	3.7	16	0.6
11.5	3.5	16.75	0.4
12	3.3	17.5	0.4
12.5	3.2	18.25	0.2
13	3.1	19	0.2
13.5	3.1	19.75	0
14	3	20.5	0.2
14.5	2.9	21.25	0.2
15	2.9	22	0
15.5	2.8	22.75	0.2

El primer y segundo máximo obtenidos mediante el método de la primera derivada corresponden al primer y segundo punto de equivalencia de la valoración, respectivamente. Para la muestra T1 estos se encuentran en las celdas amarillas de la tabla 6, de tal forma que el primer máximo de  $\Delta pH$  es 1.8, cuyo volumen correspondiente de titulante es 4.5 mL, el segundo máximo de  $\Delta pH$  es 2.2, a éste le corresponde el volumen de titulante de 10.5 mL, así, para la muestra T1, se necesitó de 4.5 mL de titulante para alcanzar el primer punto de equivalencia y de 10.5 mL para alcanzar el segundo. A continuación se muestra el gráfico de la primera derivada obtenido con los datos de volumen promedio y  $\Delta pH$  presentes en la tabla 6:

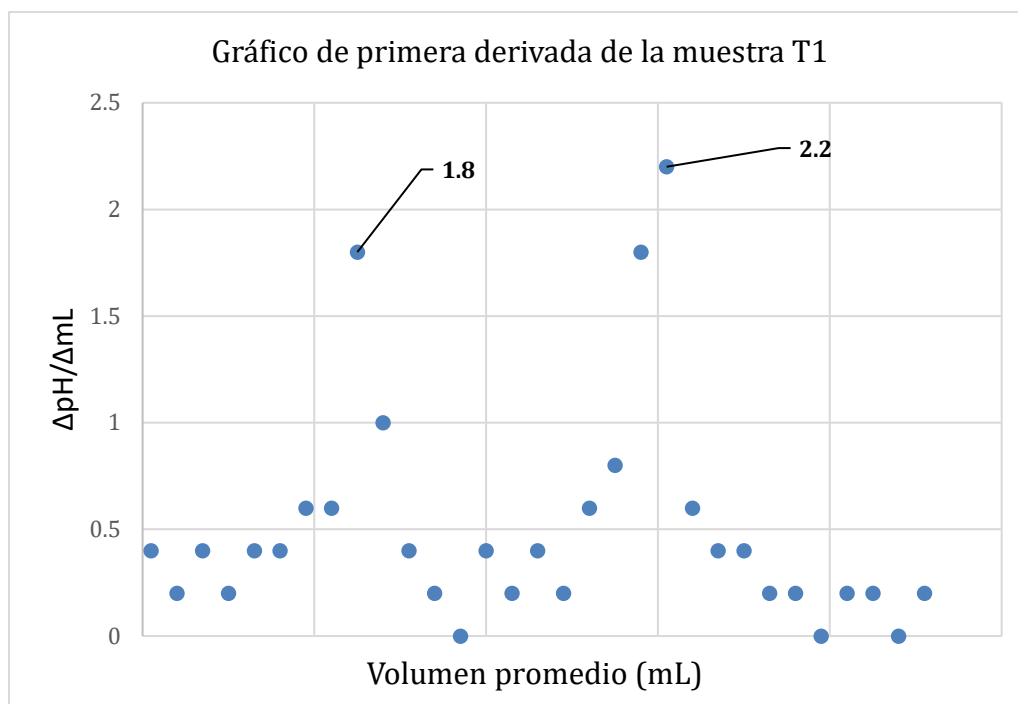


Imagen 15. Gráfico de primera derivada de la muestra T1.

El procedimiento anteriormente expuesto se utilizó en las demás muestras, en el anexo IV se encuentran los datos con respecto a los máximos obtenidos para cada una.

Con motivo de mostrar la tendencia observada en las valoraciones, y por ende, en las concentraciones de ambos analitos, se presenta la siguiente tabla, en ésta se incluyen los volúmenes de ácido gastados en el primer punto de equivalencia (presencia de carbonato) y segundo punto de equivalencia (presencia de bicarbonato):

Tabla 7. 1er y 2do punto de equivalencia para la titulación de cada disolución saturada de suelo.

Muestra	1er punto (mL)	pH	2do punto (mL)	pH	Muestra	1er punto (mL)	pH	2do punto (mL)	pH
T1	4.5	8.1	10.5	4	T28	5	7.7	11	4.6
T2	5	7.7	11.5	4.4	T29	4	8.4	11	4.4
T3	4	7.9	9.5	5	T30	6.5	8.2	18	4
T4	4	8.1	11	3.9	T31	4	8.4	12	4.1
T5	4.5	8.1	12.5	4.1	T32	5	7.9	14.5	4.2
T6	4	7.9	10.5	4.2	T33	4.5	8.3	14.5	4.4
T7	3	7.9	9.0	3.9	T34	7	8.4	17.5	4.5
T8	4.5	7.8	11	4.2	T35	6.5	7.9	16.5	4.2
T9	2	8.5	9.5	3.9	T36	5	8.4	14	4.2
T10	5	7.9	11.5	3.9	T37	4	7.8	11	4.5
T11	2	7.9	7	3.9	T38	3	8.3	10.5	4.2

Muestra	1er punto (mL)	pH	2do punto (mL)	pH	Muestra	1er punto (mL)	pH	2do punto (mL)	pH
T12	3	8.1	9.5	4.3	T39	3.5	7.9	11.5	4.2
T13	5	8.6	13.5	4.3	T40	6	7.7	13.5	4.3
T14	4	8.3	10	3.9	T41	6.5	7.8	16	4
T15	5.5	8	13.5	4.6	T42	4	7.9	10	4.8
T16	5	7.7	15.5	4.7	T43	5	8.2	13	4
T17	2	8	8	4.4	T44	5	8.3	13.5	4.1
T18	7	8.1	18	4	T45	4	8.4	12	4.2
T19	4.5	7.8	10.5	3.9	T46	5	7.8	11.5	4.4
T20	5.5	8.2	14.5	4.2	T47	4.5	7.7	10.5	4.1
T21	3.5	8	10	4	T48	6	8.2	15	4.3
T22	6	8	15.5	3.9	T49	5	7.8	13	4.2
T23	4.5	7.9	12.5	4.2	T50	4.5	8.4	14	4.1
T24	3.5	7.8	11.5	4	T51	4	8.2	12	4.4
T25	5	7.5	11.5	3.8	T52	4.5	8.1	14.5	4
T26	6.5	8.2	17.5	4	T53	4.5	7.9	14	4.6
T27	6	7.7	15	4.4	T54	4	7.8	8.5	4.9

En el anexo IV se muestran los gráficos de titulación obtenidos del cambio de pH con respecto al volumen de reactivo titulante añadido, así como la representación gráfica del 1er y 2do punto de equivalencia obtenidos por el método de la primer derivada para cada disolución saturada de suelo. Como se mencionó anteriormente, el primer punto de equivalencia corresponde a la titulación del carbonato, por lo que si se considera el volumen de ácido, su concentración y la alícuota de muestra utilizada, es posible determinar la concentración de éste (ec. 1). Con respecto al segundo punto de equivalencia (cuantificación de bicarbonato, ec. 2) es necesario considerar que el bicarbonato presente en esta etapa de la titulación tiene dos orígenes, ya sea como producto de la titulación del carbonato inicial en la muestra y/o bicarbonato contenido de manera inicial en la misma.



*Ecuación 32. Primer punto de equivalencia.*



*Ecuación 33. Segundo punto de equivalencia.*

Por esto resulta esencial realizar una discriminación entre el bicarbonato inicial en la muestra y el bicarbonato producido a partir de carbonato, por lo que para calcular el bicarbonato inicial en ésta, fue preciso calcular la diferencia de los volúmenes gastados en los dos puntos de equivalencia para la misma titulación, siendo la diferencia de volúmenes el parámetro utilizado para la determinación del bicarbonato inicial en la muestra, por lo que si la diferencia entre el volumen gastado

en el segundo punto de equivalencia y el primero es cero, la concentración de bicarbonato inicial en la muestra también será cero.

Como se puede observar en la tabla 7, el volumen necesario para alcanzar el primer punto de equivalencia varía entre 2 y 7 mL, mientras que el volumen gastado en el segundo punto de equivalencia varía entre 7 y 18 mL, lo que indica que existen diferentes contenidos de carbonato y bicarbonato en las disoluciones saturadas de suelos de estudio.

Con respecto a los valores de concentración de  $\text{HCO}_3^-$ , estos se encuentran dentro del intervalo de 707.6 a 7 783.6 mg/L, mientras que las concentraciones de  $\text{CO}_3^{2-}$  en las muestras, se encuentran dentro del intervalo de 2 784 a 9 744 mg/L (ver tabla 8).

*Tabla 8. Intervalos de concentración de  $\text{HCO}_3^-$  y  $\text{CO}_3^{2-}$ .*

Analito	Intervalo (mg/L)
$\text{HCO}_3^-$	707.6 - 7 783.6
$\text{CO}_3^{2-}$	2 784 - 9 744

Como se puede observar existe una gran variación en el contenido de  $\text{HCO}_3^-$  y  $\text{CO}_3^{2-}$  presente en las disoluciones saturadas de suelos, pues sus intervalos de concentración son bastante grandes. Con respecto al  $\text{HCO}_3^-$ , el valor promedio de concentración de este analito es de 4 560.1 mg/L, con una desviación estándar de 1 821.8 mg/L. Para el  $\text{CO}_3^{2-}$ , el valor promedio de su concentración es de 6 431.6 mg/L, con una desviación estándar de 1 633.3 mg/L. Con base en estos valores, y como ya se había observado en la tabla 7, existe una mayor variación en el contenido de  $\text{HCO}_3^-$  con respecto al de  $\text{CO}_3^{2-}$  presente en las muestras de suelo analizadas. Los altos contenidos de estos iones explican por qué los suelos analizados tienen altos valores de pH, a su vez, también influyen de manera importante sobre el valor de la conductividad de las disoluciones y por lo tanto de los valores de TDS.

## **4.2 Evaluación de la calidad de los resultados de cromatografía**

### **4.2.1 Balance de cargas**

Con la finalidad de evaluar la calidad de los resultados de los aniones y cationes obtenidos, se decidió realizar un balance de cargas basado en el principio de electroneutralidad de las disoluciones <sup>(40)</sup>, pues éste establece que en una disolución electrolítica la cantidad de cargas positivas y negativas es la misma, de forma tal que la disolución es eléctricamente neutra. Por lo que con los valores de concentración de los aniones y cationes determinados en las muestras de trabajo, se determinó el porcentaje de error utilizando la siguiente ecuación:



$$\% \text{ Error} = \left( \frac{\sum c_+ \left( \frac{C_+}{M_+} \right) - \sum c_- \left( \frac{C_-}{M_-} \right)}{\sum c_+ \left( \frac{C_+}{M_+} \right) + \sum c_- \left( \frac{C_-}{M_-} \right)} \right)$$

*Ecuación 34. Porcentaje de error con base en el principio de electroneutralidad.*

Donde  $c_+$  corresponde a la carga del catión y  $c_-$  a la del anión,  $C_+$  representa la concentración del catión y  $C_-$  la del anión, y  $M_+$  es la masa molar del catión y  $M_-$  es la del anión. Como se puede observar en la ecuación 34, y de acuerdo con el principio de electroneutralidad, el dividendo debería ser 0 para que la disolución sea eléctricamente neutra, un porcentaje de error negativo indica que hay una mayor cantidad de aniones que de cationes, lo cual puede significar dos cosas, ya sea que el método utilizado para determinar los cationes no los esté cuantificando en su totalidad, y por lo tanto, un replanteamiento de éste es necesario, o, hay otros cationes que no se determinaron, ya fuese porque no se sabía que estaban presentes en la muestra, porque el método no los considera, o una combinación de ambas. Estas mismas consideraciones aplican cuando el porcentaje de error es positivo, lo que indica la presencia de una mayor cantidad de cationes que de aniones. Tomando todo esto en cuenta, y con el propósito de comprobar en una primera instancia sí los métodos utilizados en la determinación eran los más idóneos, se consideró como criterio de aceptabilidad un  $\pm 10\%$  de porcentaje de error<sup>(39)</sup>, pues de ser mayor, es preciso replantear los métodos utilizados de forma tal que determinen, en la medida de lo posible, a los iones en su totalidad, y/o que consideren también a aquellos que no se estén cuantificando. En la tabla 9 se muestran los valores de las variables presentes en la ecuación 34.

*Tabla 9. Valores de  $\sum$  cationes,  $\sum$  aniones y % error obtenidos para todas las muestras analizadas.*

<b>Muestra</b>	<b>Suma Cationes</b>	<b>Suma Aniones</b>	<b>Error (%)</b>	<b>Muestra</b>	<b>Suma Cationes</b>	<b>Suma Aniones</b>	<b>Error (%)</b>
<b>T1</b>	674.74	832.57	<b>-10.47</b>	<b>T28</b>	855.16	979.08	<b>-6.76</b>
<b>T2</b>	1311.33	1466.62	<b>-5.59</b>	<b>T29</b>	1287.58	1462.29	<b>-6.35</b>
<b>T3</b>	1210.74	1344.61	<b>-5.24</b>	<b>T30</b>	1672.27	1907.08	<b>-6.56</b>
<b>T4</b>	857.47	953.35	<b>-5.30</b>	<b>T31</b>	1090.66	1258.68	<b>-7.15</b>
<b>T5</b>	760.65	887.16	<b>-7.68</b>	<b>T32</b>	1369.77	1498.39	<b>-4.48</b>
<b>T6</b>	1143.50	1264.22	<b>-5.01</b>	<b>T33</b>	1624.70	1779.85	<b>-4.56</b>
<b>T7</b>	799.39	902.92	<b>-6.08</b>	<b>T34</b>	1550.87	1664.97	<b>-3.55</b>
<b>T8</b>	833.13	955.71	<b>-6.85</b>	<b>T35</b>	1410.26	1578.19	<b>-5.62</b>
<b>T9</b>	610.96	713.50	<b>-7.74</b>	<b>T36</b>	954.73	1141.46	<b>-8.91</b>
<b>T10</b>	1269.39	1416.46	<b>-5.48</b>	<b>T37</b>	1281.77	1358.75	<b>-2.92</b>
<b>T11</b>	677.88	762.73	<b>-5.89</b>	<b>T38</b>	1016.52	1107.25	<b>-4.27</b>
<b>T12</b>	807.86	912.70	<b>-6.09</b>	<b>T39</b>	970.60	1128.55	<b>-7.52</b>
<b>T13</b>	1252.46	1409.87	<b>-5.91</b>	<b>T40</b>	1021.69	1193.31	<b>-7.75</b>
<b>T14</b>	861.95	994.36	<b>-7.13</b>	<b>T41</b>	1294.54	1507.39	<b>-7.60</b>
<b>T15</b>	1266.37	1406.92	<b>-5.26</b>	<b>T42</b>	1418.64	1412.12	<b>0.23</b>

<b>Muestra</b>	<b>Suma Cationes</b>	<b>Suma Aniones</b>	<b>Error (%)</b>	<b>Muestra</b>	<b>Suma Cationes</b>	<b>Suma Aniones</b>	<b>Error (%)</b>
<b>T16</b>	1497.65	1683.68	<b>-5.85</b>	<b>T43</b>	1158.03	1293.27	<b>-5.52</b>
<b>T17</b>	787.12	908.46	<b>-7.16</b>	<b>T44</b>	1366.85	1503.86	<b>-4.77</b>
<b>T18</b>	1433.93	1630.86	<b>-6.43</b>	<b>T45</b>	957.28	1083.82	<b>-6.20</b>
<b>T19</b>	851.99	985.36	<b>-7.26</b>	<b>T46</b>	935.84	1064.98	<b>-6.45</b>
<b>T20</b>	1142.71	1263.83	<b>-5.03</b>	<b>T47</b>	761.74	859.17	<b>-6.01</b>
<b>T21</b>	792.09	935.46	<b>-8.30</b>	<b>T48</b>	1222.45	1332.04	<b>-4.29</b>
<b>T22</b>	1288.02	1483.39	<b>-7.05</b>	<b>T49</b>	1306.17	1464.76	<b>-5.72</b>
<b>T23</b>	1102.48	1265.46	<b>-6.88</b>	<b>T50</b>	963.08	1088.87	<b>-6.13</b>
<b>T24</b>	959.49	1103.30	<b>-6.97</b>	<b>T51</b>	1322.87	1470.60	<b>-5.29</b>
<b>T25</b>	984.77	1151.68	<b>-7.81</b>	<b>T52</b>	1424.98	1574.94	<b>-5.00</b>
<b>T26</b>	1442.89	1596.00	<b>-5.04</b>	<b>T53</b>	962.18	1093.82	<b>-6.40</b>
<b>T27</b>	1198.81	1381.16	<b>-7.07</b>	<b>T54</b>	678.52	757.88	<b>-5.53</b>

Como se puede apreciar en la tabla 9, y con excepción de la muestra T1, todas las demás cumplen con el criterio de aceptación, sin embargo, esta muestra excede por muy poco dicho criterio, razón por la que dicha variación con respecto a las otras muestras se consideró poco significativa. Es interesante notar como hay una mayor cantidad de aniones que de cationes en las muestras, lo cual genera en todas ellas un porcentaje de error negativo, esto se puede atribuir a la presencia de otros elementos en forma catiónica que no se están cuantificando, tales como Fe, Zn, Ni, Al, entre otros, no obstante, es seguro afirmar que la concentración de éstos en las muestras es baja, ya que los valores de error no son elevados. De esta forma se confirmó la validez de utilizar las metodologías disponibles en el laboratorio para determinar cationes y aniones mediante cromatografía iónica y potenciometría.

No obstante, y con la finalidad de conocer si las características de desempeño de todos los métodos empleados cumplen con los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas, se procedió con la validación de la metodología que emplea la columna C4 de baja capacidad de carga.

#### **4.2.2 Validación de la metodología de análisis de cationes con la columna C4**

##### *a. Intervalo de linealidad*

Para cada catión se prepararon 13 niveles de concentración por triplicado, esto con el fin de contar con suficientes datos para evaluar sus respectivos intervalos de linealidad. A partir de los cromatogramas obtenidos para cada estándar se integró el área bajo la curva del pico cromatográfico correspondiente a cada analito. Con el objetivo de ejemplificar los resultados obtenidos se muestra a continuación un cromatograma de un estándar de 20 ppm:

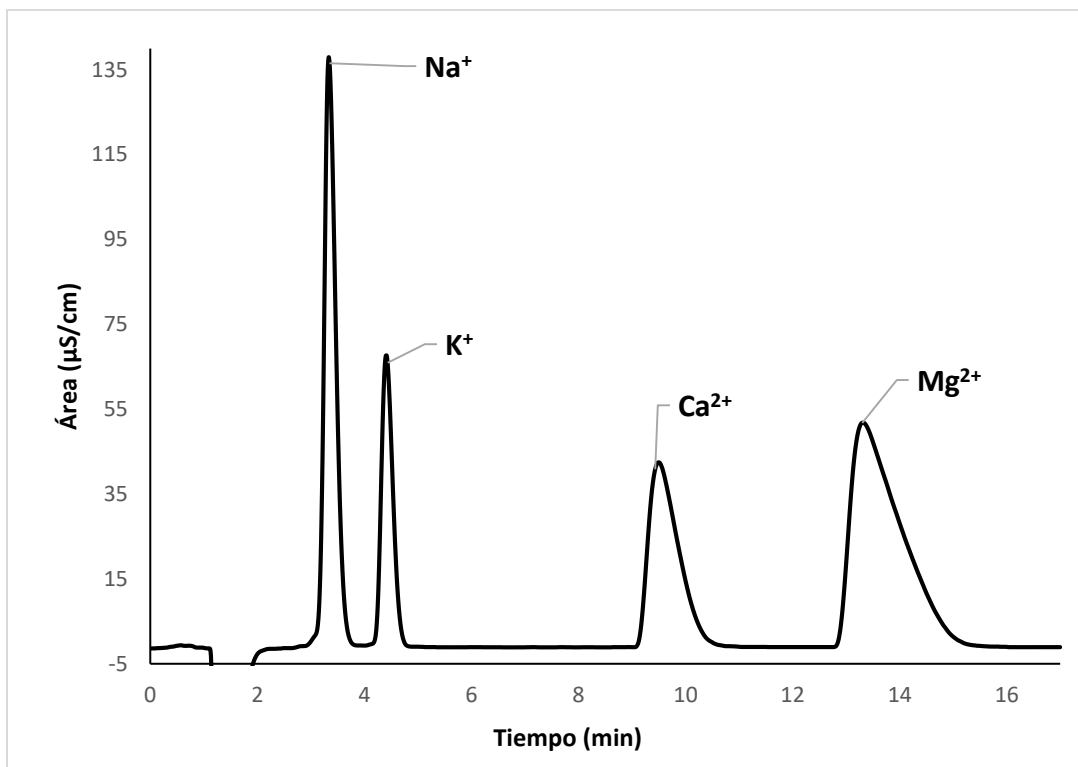


Imagen 16. Cromatograma de estándar de cationes de 20 mg/L obtenido con la columna C4.

Con dicha información se obtuvieron los gráficos de calibración, señal analítica= $f(\text{concentración})$ , y se realizó el análisis de regresión lineal. Todos los resultados se trabajaron con un nivel de confianza de 95 %. En adición a esto, se realizó la prueba no paramétrica de rachas para evaluar la aleatoriedad de los datos, de pasarla, significa que los datos evaluados por dicha prueba se ajustan a la recta obtenida por el análisis de regresión, lo que permitió determinar de manera confiable el intervalo de linealidad para cada analito. En la siguiente tabla se muestran los intervalos de linealidad evaluados, los niveles de concentración utilizados, las rachas observadas, el mínimo aceptable y los resultados obtenidos para cada catión:

Tabla 10. Resultados de la prueba no paramétrica de rachas ( $n = 3$ ).

Analito	Intervalo de linealidad (mg/L)	Niveles	Rachas Observadas	Mínimo aceptable	Resultados
Na <sup>+</sup>	0.02-250	13	9	13	No es aleatorio
K <sup>+</sup>	0.02-250	13	12	13	No es aleatorio
Ca <sup>2+</sup>	0.5-100	8	11	7	Aleatoriedad
Mg <sup>2+</sup>	0.5-100	8	11	7	Aleatoriedad

La prueba no paramétrica de rachas resultó muy útil al momento de determinar si el intervalo de linealidad establecido originalmente para cada analito era el correcto, a modo de ejemplo se utiliza el caso del  $\text{Na}^+$  (lo mismo sucede con el  $\text{K}^+$ ), cuyo intervalo original consistía de 13 niveles de concentración distribuidos dentro del intervalo de 0.02 a 500 mg/L. Es importante destacar que el último punto de dicho intervalo no se utilizó para ningún analito, pues las señales correspondientes a cada uno se traslapaban considerablemente. A continuación se muestran los gráficos de calibración junto con el valor del coeficiente de correlación para el intervalo de linealidad establecido antes de realizar dicha prueba, junto con aquel obtenido mediante ésta y con la que se excluyeron los niveles de concentración que no favorecían la aleatoriedad de los resultados:

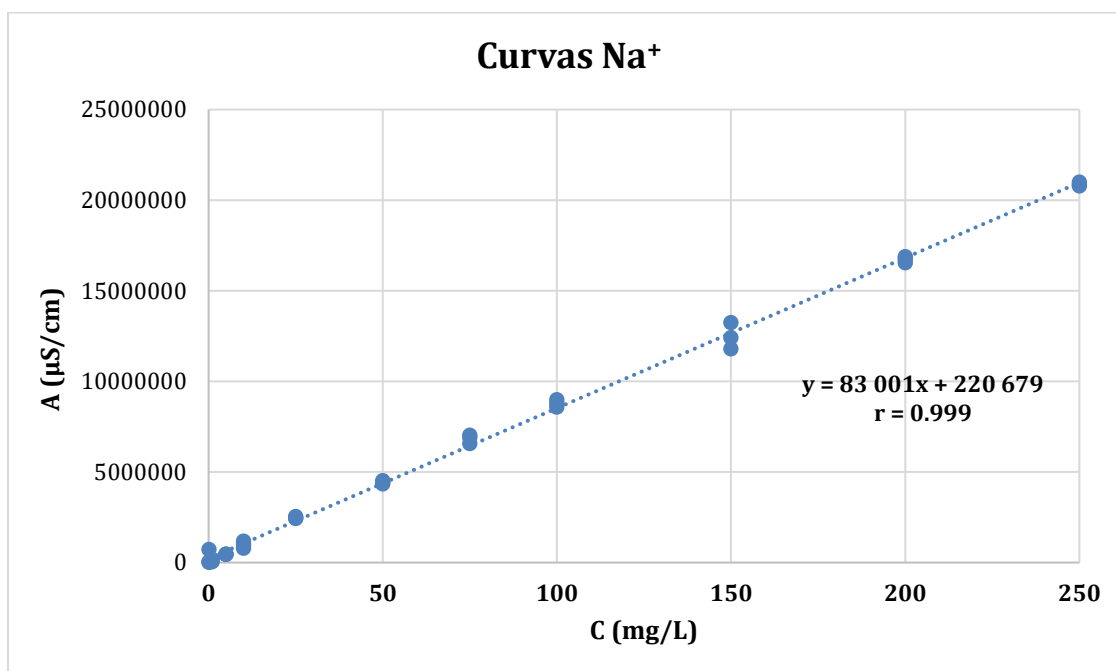
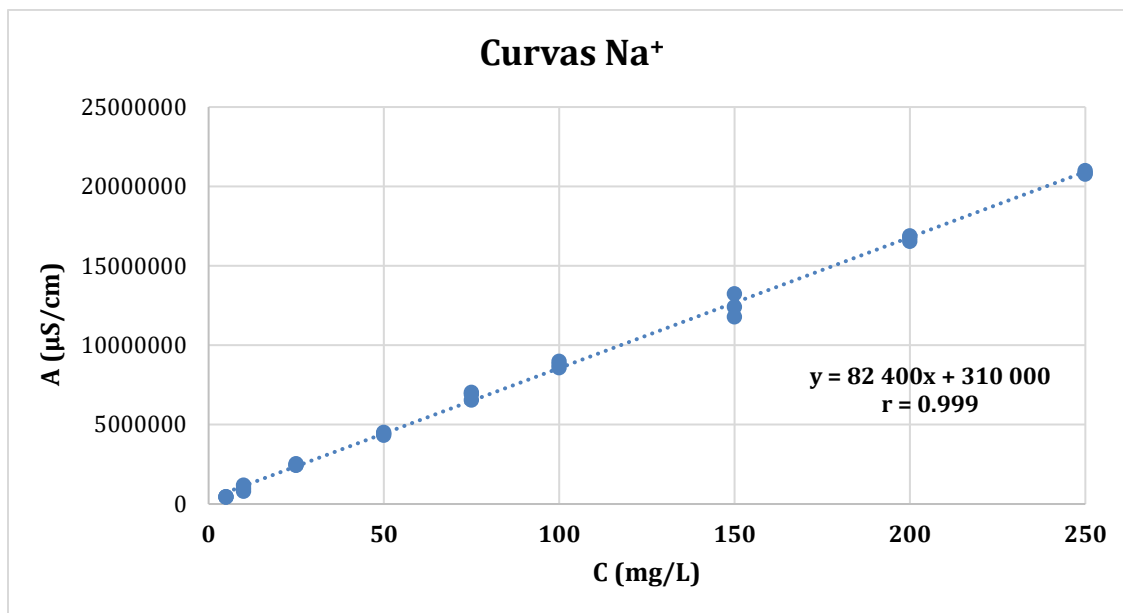


Imagen 17. Gráfico de calibración de  $\text{Na}^+$  original (0.02 -250 mg/L).



*Imagen 18. Gráfico de calibración de Na<sup>+</sup> obtenido mediante la prueba no paramétrica de rachas (5 -250 mg/L).*

Como se puede observar en ambos gráficos, el valor del coeficiente de correlación (r) cumple con el criterio de aceptación para los dos intervalos (sugerido como  $r \geq 0.999$ ), sin embargo, al efectuarse la prueba no paramétrica de rachas sobre el intervalo propuesto originalmente y compararla con el obtenido por ésta se obtienen los siguientes resultados:

*Tabla 11. Comparación de los resultados obtenidos de la prueba no paramétrica de rachas para Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> sobre el intervalo de linealidad originalmente propuesto con respecto al finalmente utilizado (n = 3).*

<b>Analito</b>	<b>Intervalo de linealidad (mg/L)</b>	<b>Niveles</b>	<b>Rachas Observadas</b>	<b>Mínimo aceptable</b>	<b>Resultados</b>
<b>Na<sup>+</sup></b>	0.02-250	13	9	13	No aleatoriedad
<b>Na<sup>+</sup></b>	5-250	9	13	9	Aleatoriedad
<b>K<sup>+</sup></b>	0.02-250	10	12	13	No aleatoriedad
<b>K<sup>+</sup></b>	1-250	10	10	10	Aleatoriedad

Como se puede apreciar en la tabla 11, de haber confiado únicamente en los gráficos y en el valor de r, se hubiese aceptado el intervalo de linealidad originalmente establecido para el Na<sup>+</sup> y el K<sup>+</sup>, lo que hubiese generado errores en aquellos parámetros de desempeño dependientes de los resultados obtenidos por el análisis de regresión lineal, pues los datos que constituyen al intervalo de

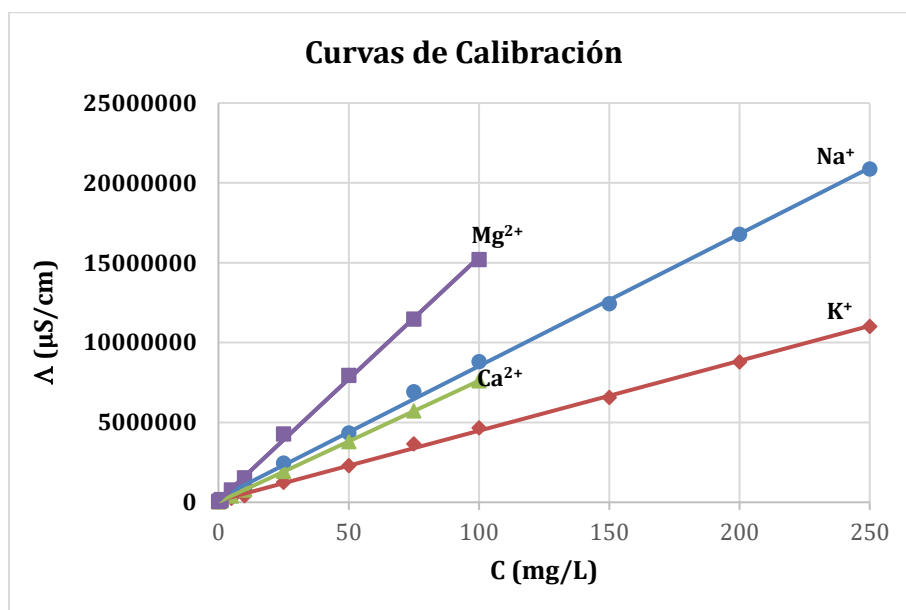
linealidad no presentan aleatoriedad, y por ende, no son aptos para someterlos a un análisis de regresión lineal. Finalmente, es de suma importancia destacar que la prueba no paramétrica de rachas permitió obtener el intervalo de linealidad para cada analito de manera tal que, para dicho intervalo, se tiene la certeza de que los datos se ajustan a la recta obtenida por el análisis de regresión y, por lo tanto, los parámetros obtenidos de ésta se pueden utilizar de manera segura. Cabe resaltar que para los cationes  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  la prueba no paramétrica de rachas demostró que el intervalo originalmente propuesto para estas especies era aleatorio.

Los resultados obtenidos por el análisis de regresión lineal para los cuatro analitos se muestran a continuación:

*Tabla 12. Resultados del análisis de regresión (n = 3).*

Analito	Intervalo de linealidad (mg/L)	Pendiente (m)	Ordenada al origen (b)	Coefficiente de correlación (r)
$\text{Na}^+$	5-250	$82\,400 \pm 1\,500$	$310\,000 \pm 190\,000$	0.999 0
$\text{K}^+$	1-250	$43\,790 \pm 300$	$83\,000 \pm 36\,000$	0.999 8
$\text{Ca}^{2+}$	0.5-100	$75\,550 \pm 380$	$27\,000 \pm 19\,000$	0.999 9
$\text{Mg}^{2+}$	0.5-100	$154\,000 \pm 2\,800$	$90\,000 \pm 130\,000$	0.999 2

Cabe destacar que los valores de m y b aquí mostrados están redondeados para una mejor representación visual de los mismos, sin embargo, en los cálculos en los que fueron necesarios, se utilizó el valor sin redondear. Las gráficas de calibración correspondientes a cada analito se muestran en la siguiente imagen:



*Imagen 19. Gráficos de calibración de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ .*

Es importante resaltar que los gráficos aquí mostrados corresponden a sólo una de las curvas de calibración generadas para cada analito (de 3 que se construyeron), y sólo se muestra una por motivos de presentación, los gráficos con las 3 curvas de calibración para cada analito se encuentran en el anexo V. Los valores de las pendientes de la recta de cada uno de los intervalos de linealidad evaluados para cada analito presentes en la tabla 12 son prueba de que el detector es sensible a los cambios de concentración del analito. Con respecto a la información que estos valores proporcionan, se puede observar tanto en los resultados mostrados en dicha tabla, así como en los gráficos presentes en la imagen 19, que el  $Mg^{2+}$  es el analito que presenta la mayor sensibilidad, mientras que el  $K^+$  tiene la menor de los cuatro. Con el propósito de conocer si existe una relación lineal entre la respuesta del detector y la concentración del analito se utilizó como criterio de aceptación  $r \geq 0.999$ , pues este valor indica que la señal generada por el detector es proporcional a la concentración del analito, y esto es verdad para todos los analitos, tal y como se puede observar en los resultados presentados en la tabla 12.

*b. Precisión*

La precisión del método se evaluó para tres niveles de concentración (inferior, medio y superior), los cuales se prepararon por sextuplicado de manera independiente. Es importante destacar que la elección de los niveles se hizo con base en el intervalo de linealidad obtenido para cada catión, razón por la cual se utilizó un conjunto de niveles para  $Na^+$  y  $K^+$ , pues tienen intervalos similares, y otro diferente para  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$ , cuyos intervalos son idénticos. Los resultados obtenidos del cálculo del coeficiente de variación porcentual (% CV) de las áreas para cada nivel evaluado se muestran a continuación:

*Tabla 13. Evaluación de precisión para  $Na^+$  y  $K^+$  ( $n = 6$ ).*

Nivel de concentración (mg/L)	% CV	
	$Na^+$	$K^+$
10	2.54	2.04
100	2.53	1.77
150	1.61	1.23

*Tabla 14. Evaluación de precisión para  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$  ( $n = 6$ ).*

Nivel de concentración (mg/L)	% CV	
	$Ca^{2+}$	$Mg^{2+}$
1	2.85	2.81
25	2.32	2.24
75	1.31	1.47

De acuerdo con Taverniers et al. <sup>(41)</sup> un sistema de medición se considera preciso cuando el % CV es menor a 3, por lo cual se tomó este valor como criterio de aceptación. Se puede observar en las tablas 13 y 14 que los cuatro analitos cumplen

con este criterio para todos los niveles evaluados, por lo tanto, se puede afirmar que el método es preciso.

*c. Exactitud*

La exactitud se evaluó de igual forma a la precisión ( $n = 6$ , tres niveles de concentración). Los valores de área determinados se convirtieron en valores de concentración con la ayuda de la respectiva curva de calibración para cada analito, a continuación se reporta la exactitud como el porcentaje de error de acuerdo con la ec. 28.

$$\% \text{ Error} = \frac{C_{\text{experimental}} - C_{\text{esperada}}}{C_{\text{esperada}}} \times 100 \quad (28)$$

*Tabla 15. Evaluación de la exactitud para  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  ( $n = 6$ )*

Nivel de concentración (mg/L)	% Error	
	$\text{Na}^+$	$\text{K}^+$
5	1.78	-6.82
75	-5.24	-4.80
125	-5.94	-5.47

*Tabla 16. Evaluación de la exactitud para  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  ( $n = 6$ ).*

Nivel de concentración (mg/L)	% Error	
	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Mg}^{2+}$
5	-6.71	-4.57
25	-4.79	-5.61
50	-3.36	-1.93

De acuerdo con Taverniers et al. <sup>(41)</sup>, para que un sistema de medición se considere exacto, el porcentaje de error debe ser menor al 10 %. Considerando este criterio, se observa en las tablas 15 y 16 que el método lo cumple para los cuatro analitos de estudio en los tres niveles de concentración evaluados.

*d. Límites de detección y de cuantificación*

A continuación, se muestran los límites de detección y de cuantificación obtenidos para cada catión de estudio:

*Tabla 17. Valores de LD y LC de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  ( $n = 7$ ).*

Analito	LD (mg/L)	LC (mg/L)
$\text{Na}^+$	2.59	3.44



<b>Analito</b>	<b>LD (mg/L)</b>	<b>LC (mg/L)</b>
<b>K<sup>+</sup></b>	0.33	0.82
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	0.04	0.2
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	0.01	0.16

El límite de detección se define como: “la mínima cantidad de analito detectable en una muestra pero no necesariamente cuantificable de manera exacta”, mientras que el límite de cuantificación se considera como: “la concentración o cantidad de analito cuantificable con un coeficiente de variación menor al 10 %” (40). Considerando ambas definiciones, en el caso del K<sup>+</sup> (elegido únicamente a modo de ejemplo, sin olvidar que esto aplica de igual forma para los demás analitos), el valor de concentración de 0.33 mg/L representa la mínima cantidad detectable del analito por el método, mientras que el valor de concentración de 0.82 mg/L es la mínima cantidad cuantificable de manera precisa por el método. Es importante destacar que es posible detectar/cuantificar a los analitos por debajo de los valores de LD y LC, simplemente la incertidumbre asociada a la detección/cuantificación será mucho más grande que el valor en sí. Finalmente, se observa en la tabla 17 que los valores de LD y LC obtenidos para cada catión son muy cercanos a la concentración más baja de su respectivo intervalo de linealidad (tabla 12), por lo cual es seguro afirmar que estos se obtuvieron correctamente.

e. *Recobros*

En las siguientes tablas se muestran los promedios del porcentaje de recobro (% R) para cada muestra junto con su % CV correspondientes a los niveles evaluados para Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>:

*Tabla 18. Recobros de los niveles evaluados para Na<sup>+</sup> (n = 5).*

<b>Analito</b>	<b>Na<sup>+</sup></b>					
	<b>50</b>		<b>70</b>		<b>100</b>	
<b>Nivel (mg/L)</b>						
<b>Muestra</b>	<b>% R</b>	<b>% CV</b>	<b>% R</b>	<b>% CV</b>	<b>% R</b>	<b>% CV</b>
<b>T9</b>	85.7	1.2	99.8	4.4	97.2	1.6
<b>T54</b>	79.0	1.6	99.1	1.9	96.5	1.4
<b>T1</b>	89.0	3.6	99.6	5.8	95.5	1.1
<b>T11</b>	92.0	2.0	100.0	1.9	104.4	1.7
<b>T5</b>	87.2	1.1	95.7	1.5	97.2	0.8

Tabla 19. Recobros de los niveles evaluados para  $K^+$  ( $n = 5$ ).

Analito	$K^+$					
	50		70		100	
Nivel (mg/L)						
Muestra	% R	% CV	%R	% CV	% R	% CV
T9	87.4	3.2	93.2	9.3	99.4	3.8
T54	87.1	2.2	97.3	3.0	95.3	1.0
T1	91.8	3.2	95.5	6.6	97.0	2.6
T11	89.7	0.7	89.8	5.6	95.5	1.9
T5	89.4	2.4	84.7	4.0	97.7	2.3

De acuerdo con Taverniers et al. <sup>(41)</sup>, el criterio de aceptación de este parámetro en analitos cuya concentración es de 100, 10, 1 mg/L y 100  $\mu$ g/L está establecido por el intervalo de porcentaje de recobro de 80 - 110 %. Se puede observar en las tablas 18 y 19 que prácticamente ambos analitos lo cumplen para todos los niveles evaluados, con la excepción del  $Na^+$  en el nivel de 50 mg/L en la muestra T54, sin embargo, el valor de dicho recobro se encuentra muy cerca del 80 % y su % CV es relativamente bajo, por lo cual es seguro afirmar que este valor probablemente se deba a un error sistemático al momento de fortificar a ese nivel dicha muestra.

A continuación, se muestran los resultados obtenidos para  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$ :

Tabla 20. Recobros de los niveles evaluados para  $Ca^{2+}$  ( $n = 5$ ).

Analito	$Ca^{2+}$					
	5		50		70	
Nivel (mg/L)						
Muestra	% R	% CV	% R	% CV	% R	% CV
T9	83.7	2.7	90.8	3.1	93.6	9.1
T54	88.1	5.6	90.0	1.7	98.0	2.9
T1	92.7	4.4	94.5	3.4	95.6	6.4
T11	82.4	3.0	92.6	0.7	90.2	5.7
T5	82.2	5.1	93.0	2.3	85.4	4.0

Tabla 21. Recobros de los niveles evaluados para  $Mg^{2+}$  ( $n = 5$ ).

Analito	$Mg^{2+}$					
	5		50		70	
Nivel (mg/L)						
Muestra	% R	% CV	% R	% CV	% R	% CV
T9	78.1	2.2	89.1	3.0	91.6	9.2
T54	91.5	10.6	88.7	1.5	96.1	2.9
T1	89.2	10.4	92.2	3.4	94.0	6.4
T11	78.9	4.8	90.4	0.7	88.3	5.7
T5	76.3	2.8	90.8	2.3	83.4	4.2

Como se observa en las tablas 20 y 21, a excepción del  $Mg^{2+}$  en el nivel de 5 mg/L en las muestras T9, T11 y T5, prácticamente ambos analitos cumplen el criterio de aceptación en todos los niveles evaluados, sin embargo, es muy probable que el nivel de 5 mg/L para  $Mg^{2+}$  se haya fortificado de manera errónea para todas las muestras, pues además de lo ya mencionado, el % CV de los recobros evaluados para dicho nivel que sí cumplen con el criterio es mayor al 10 %, es decir, existe una variación significativa entre los valores individuales que constituyen a cada recobro, lo cual confirma aún más la presencia de errores sistemáticos en la fortificación del nivel de 5 mg/L.

De manera general, es posible decir que la metodología que utiliza la columna C4 para la determinación de sodio, potasio, calcio y magnesio, se encuentra libre de interferencias cuando ésta se aplica en el análisis de las disoluciones saturadas de suelo de estudio.

## Capítulo V. Conclusiones

- Por medio de la aplicación de técnicas analíticas que incluyen cromatografía iónica, potenciometría y conductimetría, fue posible caracterizar las disoluciones saturadas de suelos con altos contenidos salinos de manera selectiva.
- Se evaluó la calidad de los resultados obtenidos de las concentraciones de los iones de estudio mediante el empleo del balance de carga para cada muestra. El criterio de aceptación establecido fue de 10 % de error, todas las muestras lo cumplieron.
- En la presente tesis se aplicaron dos metodologías previamente validadas para garantizar la calidad de los resultados, una para determinar aniones utilizando la columna IC-pack 100 mm de longitud y otra para cationes con la columna C6 de 250 mm de longitud, la primera determina de manera simultánea  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $PO_4^{3-}$  y  $SO_4^{2-}$ , mientras que la segunda determina simultáneamente  $Na^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$ . Sin embargo, debido a las altas concentraciones de sodio con respecto al calcio y magnesio presentes en las muestras de estudio, fue necesario utilizar varios factores de dilución para poder determinar todos los cationes de trabajo, por lo que el tiempo de análisis por muestra era excesivo. Razón por la que se decidió utilizar otra columna para la determinación de cationes que disminuyera los tiempos de análisis y que complementara los resultados de la columna C6.
- Fue necesario validar el método de análisis de cationes con la columna C4 debido a que no se había hecho previamente. Los resultados obtenidos confirman que el método es lineal dentro de los intervalos utilizados ( $r \geq 0.999$ ), es preciso (% CV  $\leq 3$ ), es exacto (% error  $\leq 10$ ) y se encuentra libre de interferencias (% recuperación entre 80 - 110 %).
- Se determinó el pH, la conductividad eléctrica y los sólidos totales disueltos de las disoluciones saturadas de 54 muestras de suelo provenientes del ex lago de Texcoco, Estado de México. Con base en la información obtenida de dicha determinación, es seguro afirmar que las muestras analizadas provienen de suelos cuyo pH es básico, son fuertemente alcalinos, muy altamente salinos y contienen una gran cantidad de sólidos totales disueltos, por lo que se concluye que estos suelos no son aptos para cultivo.
- Se determinó mediante cromatografía aniónica el contenido de  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $PO_4^{3-}$  y  $SO_4^{2-}$ . A partir de dicho análisis se encontró que los aniones  $Cl^-$  y  $SO_4^{2-}$  son los que predominan en las muestras de suelo analizadas, los altos contenidos de  $Cl^-$  y  $SO_4^{2-}$  explican, en su componente aniónica, los grandes valores de conductividad observados en las muestras de suelo. Por otro lado, las especies  $NO_3^-$  y  $PO_4^{3-}$  están presentes en muchísima menor cantidad, y siendo que tanto el N como el P son nutrientes esenciales para las plantas, se

puede afirmar que las muestras de suelo analizadas tienen muy poca cantidad de estos nutrientes. No se detectó la presencia de  $F^-$  y  $Br^-$ .

- Se realizó la determinación de  $HCO_3^-$  y  $CO_3^{2-}$  mediante valoraciones potenciométricas. Los resultados obtenidos indican que las muestras de suelo presentan altos contenidos de ambas especies, sin que predomine una sobre la otra, de esta forma se justifica la decisión de no determinar  $HCO_3^-$  mediante la metodología de cromatografía aniónica, pues ésta sólo hubiese determinado bicarbonatos totales. Las altas concentraciones de ambos aniones explican los valores de pH básicos observados.
- Se determinaron las concentraciones de  $Na^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$  presentes en las disoluciones saturadas de suelos por medio de cromatografía catiónica. Para la cuantificación de  $Na^+$ ,  $NH_4^+$  y  $K^+$  se utilizó la metodología con la columna C6, mientras que para la determinación de  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$  se utilizó aquella con la columna C4. Los resultados obtenidos indican que los suelos tienen una cantidad muy grande de  $Na^+$  y  $K^+$  con respecto a  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$ , los altos contenidos de los dos primeros explican, en su componente catiónica, las altas conductividades observadas, a su vez, y en conjunto con lo observado para  $Cl^-$  y  $SO_4^{2-}$ , permiten afirmar que los suelos son altamente salinos. Por otra parte, las bajas concentraciones tanto de  $Ca^{2+}$  como de  $Mg^{2+}$ , considerados nutrientes esenciales para las plantas, junto con los bajos contenidos obtenidos de  $NO_3^-$  y  $PO_4^{3-}$ , permiten concluir que las muestras de suelo estudiadas tienen una escasa cantidad de nutrientes. No se detectó la presencia de  $NH_4^+$ .

## ANEXOS

### Anexo I. Datos de pH, $\Lambda$ y TDS de las 54 muestras de suelos.

*Tabla 22. Valores de pH,  $\Lambda$  y TDS de las muestras de suelo analizadas.*

Muestra	pH	$\Lambda$ (mS)	TDS (mg/L)	Muestra	pH	$\Lambda$ (mS)	TDS (mg/L)
T 1	10.2	53.3	28 249	T 28	10.0	61	32 330
T 2	9.8	91	48 230	T 29	9.8	85	45 050
T 3	10.0	46.5	24 645	T 30	9.6	97.8	51 834
T 4	10.0	67.5	35 775	T 31	9.9	79.3	42 029
T 5	10.0	60	31 800	T 32	9.8	88	46 640
T 6	9.8	82.4	43 672	T 33	9.6	57.1	30 263
T 7	10.	67.2	35 616	T 34	9.8	92.5	49 025
T 8	10.0	64.7	34 291	T 35	9.8	98.1	51 993
T 9	10.1	47.9	25 387	T 36	10.0	75.2	39 856
T 10	9.9	89.6	47 488	T 37	9.9	88.5	46 905
T 11	10.1	53.4	28 302	T 38	10.0	77.1	40 863
T 12	10.1	58.9	31 217	T 39	10.0	76.6	40 598
T 13	9.8	97.8	51 834	T 40	9.9	79.3	42 029
T 14	9.9	64.8	34 344	T 41	9.9	96.9	51 357
T 15	9.8	82.9	43 937	T 42	9.7	91.8	48 654
T 16	9.7	108	57 240	T 43	9.9	86.7	45 951
T 17	10.0	58.9	31 217	T 44	9.8	104	55 120
T 18	9.6	91.7	48 601	T 45	10.1	76.9	40 757
T 19	10.1	62.6	33 178	T 46	10.1	68.1	36 093
T 20	10.0	77.8	41 234	T 47	10.1	63.6	33 708
T 21	10.1	60.2	31 906	T 48	10.0	84.6	44 838
T 22	9.9	86.4	45 792	T 49	9.9	87.5	46 375
T 23	9.9	83.6	44 308	T 50	10.0	66.5	35 245
T 24	10.	66.4	35 192	T 51	9.9	94.9	50 297
T 25	10.0	71.4	37 842	T 52	9.8	91.4	48 442
T 26	9.7	89.1	47 223	T 53	10.0	69.6	36 888
T 27	9.9	85.2	45 156	T 54	10.1	56.3	29 839

## Anexo II. Datos de área y concentración de los cationes determinados.

Debido al alto contenido de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> presente en las soluciones saturadas de suelo analizadas fue necesaria su dilución para poder determinarlos.

Con respecto al Na<sup>+</sup>, en las muestras T1, T4, T5, T7, T8, T9, T11, T12, T14, T17, T19, T21, T28, T47 y T54 se utilizó un factor de dilución 1:40. Para las muestras T2, T3, T6, T10, T13, T15, T20, T22, T23, T24, T25, T27, T29, T31, T36, T37, T38, T39, T40 y T41 el factor de dilución fue 1:60. Finalmente, para las muestras T16, T18, T26, T30, T32, T33, T34, T35, T42, T43, T44, T45, T46, T48, T49, T50, T51, T52 y T53 el factor de dilución empleado fue 1:80.

Para el K<sup>+</sup> se utilizó el mismo factor de dilución (1:20) para todas las muestras.

Tabla 23. Áreas y concentraciones de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> determinados con la columna catiónica C6.

Muestra	Na <sup>+</sup>		K <sup>+</sup>	
	A (μS/cm)	C (mg/L)	A (μS/cm)	C (mg/L)
T1	29 478 603.54	14 806.97	2 641 308.17	1 186.71
T2	38 022 334.83	28 647.67	5 633 576.20	2 531.11
T3	35 249 112.14	26 558.21	4 800 373.83	2 156.76
T4	37 438 100.99	18 805	3 393 074.39	1 524.48
T5	33 354 096.95	16 753.61	2 753 111.86	1 236.95
T6	33 168 457	24 990.55	4 877 816.20	2 191.56
T7	34 728 012.80	17 443.73	3 511 530.63	1 577.70
T8	36 411 264.17	18 289.22	3 237 889.30	1 454.75
T9	26 758 013.44	13 440.43	2 264 608.89	1 017.47
T10	36 911 716.5	27 810.89	5 154 251.60	2 315.76
T11	29 681 638.57	14 908.95	2 530 339.52	1 136.86
T12	35 498 078.51	17 830.53	2 778 360.42	1 248.29
T13	36 719 721.68	27 666.23	4 226 888.36	1 899.10
T14	37 993 091.33	19 083.76	2 736 127.29	1 229.32
T15	37 309 493.29	28 110.59	3 755 145.14	1 687.15
T16	32 955 095.27	33 106.40	4 972 758.23	2 234.21
T17	34 662 371.18	17 410.76	2 558 748.00	1 149.62
T18	31 667 871.19	31 813.26	4 324 375.44	1 942.90
T19	37 633 914.18	18 903.35	2 559 087.29	1 149.77
T20	33 502 976.61	25 242.59	3 855 010.11	1 732.02
T21	34 749 580.14	17 454.56	2 818 205.65	1 266.19
T22	37 893 485.13	28 550.59	3 979 752.11	1 788.06
T23	32 380 675.93	24 397	3 558 964.16	1 599.01
T24	28 315 965.45	21 334.48	2 702 303.76	1 214.12
T25	28 919 578.38	21 789.26	3 183 362.39	1 430.25
T26	31 843 188	31 989.38	4 392 358.46	1 973.44
T27	35 349 284.33	26 633.68	3 447 539.61	1 548.95

Muestra	Na <sup>+</sup>		K <sup>+</sup>	
	A (μS/cm)	C (mg/L)	A (μS/cm)	C (mg/L)
<b>T28</b>	37 903 124.96	19 038.57	2 317 569.65	1 041.26
<b>T29</b>	38 023 200.11	28 648.33	3 560 477.83	1 599.69
<b>T30</b>	36 678 621.73	36 847.02	6 001 471.00	2 696.40
<b>T31</b>	31 976 731.49	24 092.66	3 669 786.63	1 648.80
<b>T32</b>	30 270 976.71	30 409.95	4 045 617.30	1 817.66
<b>T33</b>	35 624 487.17	35 788.04	5 876 410.00	2 640.21
<b>T34</b>	34 095 520.58	34 252.06	5 270 417.00	2 367.95
<b>T35</b>	31 078 664.42	31 221.35	4 498 994.66	2 021.35
<b>T36</b>	27 984 664.34	21 084.86	3 227 167.26	1 449.94
<b>T37</b>	37 430 812.04	28 202	4 754 169.00	2 136.00
<b>T38</b>	29 751 377	22 415.98	3 567 535.68	1 602.86
<b>T39</b>	28 455 407.57	21 439.54	3 270 450.20	1 469.38
<b>T40</b>	29 903 843	22 530.85	3 587 786.02	1 611.96
<b>T41</b>	37 840 177.621	28 510.43	4 651 249.85	2 089.76
<b>T42</b>	31 224 748.29	31 368.10	4 664 008.21	2 095.49
<b>T43</b>	25 462 454.98	25 579.36	3 904 612.10	1 754.30
<b>T44</b>	30 122 873.24	30 261.17	4 360 343.16	1 959.06
<b>T45</b>	21 049 890.96	21 146.53	3 216 504.43	1 445.14
<b>T46</b>	20 678 004.93	20 772.94	2 775 639.82	1 247.07
<b>T47</b>	33 738 000.68	16 946.45	2 095 648.82	941.55
<b>T48</b>	27 037 010.15	27 161.14	3 529 225.82	1 585.65
<b>T49</b>	28 764 592.13	28 896.65	4 236 700.33	1 903.51
<b>T50</b>	21 241 601.19	21 339.12	3 000 896.11	1 348.27
<b>T51</b>	28 987 332.5	29 120.42	4 852 083.29	2 179.99
<b>T52</b>	31 400 925.5	31 545.09	4 380 420.56	1 968.08
<b>T53</b>	21 263 362.49	21 360.99	2 826 927.34	1 270.11
<b>T54</b>	29 978 485.41	15 058.06	2 012 782.33	904.32



Para determinar las concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  el factor de dilución empleado fue 1:10.

*Tabla 24. Áreas y concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  determinados con la columna C4.*

Muestra	$\text{Ca}^{2+}$		$\text{Mg}^{2+}$	
	A ( $\mu\text{S/cm}$ )	C (mg/L)	A ( $\mu\text{S/cm}$ )	C (mg/L)
T1	39 346.21	5.28	11 449.31	0.74
T2	54 598.71	7.33	25 095.56	1.63
T3	46 896.14	6.30	10 392.07	0.68
T4	48 674.11	6.53	34 469.03	2.24
T5	31 518.26	4.23	12 806.33	0.83
T6	54 373	7.30	12 522.96	0.81
T7	36 104.60	4.85	8 691.77	0.57
T8	50 074.89	6.72	10 325.70	0.67
T9	36 544.35	4.91	12 918.43	0.84
T10	54 528.50	7.32	18 150	1.18
T11	38 324.62	5.14	8 511	0.55
T12	42 887.50	5.76	12 071.28	0.79
T13	54 992.47	7.38	21 618.78	1.41
T14	52 675.68	7.07	12 518.46	0.81
T15	61 455	8.25	14 193.40	0.92
T16	58 821.45	7.90	13 752.90	0.89
T17	50 023.50	6.72	11 420.29	0.74
T18	56 691.04	7.61	13 830.22	0.90
T19	40 900.96	5.49	13 235.91	0.86
T20	50 367.60	6.76	16 808.73	1.09
T21	58 345.48	7.83	15 941.38	1.04
T22	55 598.20	7.46	8 782.37	0.57
T23	47 184.71	6.33	12 005.52	0.78
T24	55 303.40	7.42	14 968.21	0.97
T25	49 823.60	6.69	16 295.77	1.06
T26	79 479.33	10.67	8 0491.83	5.24
T27	78 374.42	10.52	32 803.30	2.13
T28	43 769.66	5.88	20 165	1.31
T29	66 207.57	8.89	19 492.80	1.27
T30	60 852.40	8.17	28 573.81	1.86
T31	63 288.07	8.50	19 292.72	1.25
T32	64 207.80	8.62	19 654.75	1.28
T33	55 145.96	7.40	22 609.31	1.47
T34	50 520.07	6.78	19 335.97	1.26
T35	61 669.38	8.28	20 070.63	1.31
T36	57 066.05	7.66	25 120	1.63
T37	53 525.41	7.19	13 011.77	0.85

Muestra	Ca <sup>2+</sup>		Mg <sup>2+</sup>	
	A (μS/cm)	C (mg/L)	A (μS/cm)	C (mg/L)
<b>T38</b>	56 045	7.52	21 142.63	1.38
<b>T39</b>	55 330.44	7.43	15 735.50	1.02
<b>T40</b>	46 218.28	6.20	22 359.86	1.45
<b>T41</b>	112 340.95	15.08	39 330.37	2.56
<b>T42</b>	78 930.40	10.60	16 970.44	1.10
<b>T43</b>	62 655.80	8.41	20 436.67	1.33
<b>T44</b>	56 134.09	7.54	16 868.76	1.10
<b>T45</b>	64 354.51	8.64	14 138.80	0.92
<b>T46</b>	45 495	6.11	13 258.57	0.86
<b>T47</b>	59 673.81	8.01	25 035.39	1.63
<b>T48</b>	51 858.29	6.96	20 621.86	1.34
<b>T49</b>	70 024.98	9.40	17 007.88	1.11
<b>T50</b>	48 337.71	6.49	15 010.73	0.98
<b>T51</b>	55 125.97	7.40	16 796.09	1.09
<b>T52</b>	348 097.22	46.73	35 604.87	2.32
<b>T53</b>	64 880.03	8.71	22 489.79	1.46
<b>T54</b>	42 757.17	5.74	22 005.89	1.43

### Anexo III. Datos de área y concentración de los aniones determinados.

Para la determinación de  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{SO}_4^{2-}$  el factor de dilución empleado fue 1:10. El factor de dilución utilizado en la determinación de  $\text{HCO}_3^-$  y  $\text{CO}_3^{2-}$  se encuentra en el capítulo 3 de este trabajo.

*Tabla 25. Áreas y concentraciones de  $\text{Cl}^-$  y  $\text{NO}_3^-$  determinados con la columna aniónica IC-Pak HR.*

Muestra	$\text{Cl}^-$		$\text{NO}_3^-$	
	A ( $\mu\text{S/cm}$ )	C (mg/L)	A ( $\mu\text{S/cm}$ )	C (mg/L)
T1	6 623 567	11 781.71	51 639.30	184.93
T2	16 032 443.08	28 517.80	23 284.80	83.39
T3	14 811 617	26 346.25	21 490.69	76.96
T4	9 082 692	16 155.89	11 660	41.76
T5	6 715 848.69	11 945.85	5 254.68	18.82
T6	13 614 276.91	24 216.47	27 310.91	97.80
T7	9 851 994.50	17 524.29	7 951	28.47
T8	8 411 308.57	14 961.66	48 247.69	172.78
T9	5 368 199	9 548.71	33 027.33	118.27
T10	15 516 467	27 600.00	34 507.45	123.58
T11	6 572 893.08	11 691.57	22 570.43	80.83
T12	7 296 366.50	12 978.45	22 481.88	80.51
T13	12 580 366	22 377.40	33 932.30	121.52
T14	8 065 337.50	14 346.26	22 107	79.17
T15	10 876 976	19 347.48	22 293	79.83
T16	13 912 746.50	24 747.38	32 948.67	117.99
T17	6 815 562	12 123.22	9 682	34.67
T18	11 410 192.48	20 295.94	20 584.79	73.72
T19	8 181 915.50	14 553.63	19 090.49	68.37
T20	10 820 835.38	19 247.62	39 683.21	142.11
T21	7 454 540.13	13 259.81	27 038.47	96.83
T22	11 905 281	21 176.59	22 883.47	81.95
T23	10 507 358	18 690.02	22 385	80.16
T24	7 531 499.47	13 396.70	10 901.76	39.04
T25	9 779 498.50	17 395.34	20 015.20	71.68
T26	12 553 321.93	22 329.29	31 375	112.36
T27	9 912 798.95	17 632.45	25 879	92.68
T28	5 942 472	10 570.21	29 560.06	105.86
T29	11 304 042.35	20 107.13	14 230.36	50.96
T30	16 524 062	29 392.27	33 837.93	121.18
T31	11 755 137	20 909.52	18 606.27	66.63
T32	12 951 592.80	23 037.72	10 497	37.59
T33	15 846 725	28 187.45	35 538.92	127.27

Muestra	Cl <sup>-</sup>		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	
	A (μS/cm)	C (mg/L)	A (μS/cm)	C (mg/L)
T34	16 169 576	28 761.72	23 683.86	84.81
T35	13 233 283.79	23 538.78	21 584.95	77.30
T36	9 880 294.27	17 574.63	10 285.24	36.83
T37	13 644 213	24 269.72	28 979.27	103.78
T38	10 049 586	17 875.76	19 507.53	69.86
T39	9 915 399	17 637.07	11 262	40.33
T40	10 403 731.52	18 505.70	17 286.38	61.90
T41	14 064 894	25 018.01	39 985.75	143.19
T42	13 801 080.12	24 548.75	24 794.88	88.79
T43	11 366 730.11	20 218.64	11 780.73	42.19
T44	14 283 096	25 406.14	18 942.37	67.83
T45	8 941 645.04	15 905.00	45 579.46	163.23
T46	8 116 910.59	14 438.00	39 551.67	141.64
T47	5 949 373	10 582.48	63 795.79	228.46
T48	9 710 003	17 271.72	66 254.83	237.27
T49	13 485 736.50	23 987.83	43 749	156.67
T50	8 096 942.50	14 402.48	66 044.91	236.51
T51	14 427 177.19	25 662.42	42 651.04	152.74
T52	13 781 651	24 514.19	100 480.50	359.83
T53	8 164 780	14 523.15	76 650.18	274.49
T54	5 833 905	10 377.09	53 105.67	190.18

Tabla 26. Áreas y concentraciones de los aniones PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> y SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> determinados con la columna aniónica IC-Pak HR.

Muestra	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>		SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	
	A (μS/cm)	C (mg/L)	A (μS/cm)	C (mg/L)
T1	24 930.92	113.69	4 438 582.87	11 527.42
T2	17 551	80.04	7 109 631.18	18 464.39
T3	18 426.32	84.03	6 837 173.72	17 756.79
T4	21 925.80	99.99	4 249 090.23	11 035.29
T5	30 080	137.17	4 502 158.28	11 692.54
T6	17 163.21	78.27	6 039 057.62	15 684.01
T7	18 313.39	83.51	3 501 128.38	9 092.76
T8	31 248.78	142.50	4 782 192.73	12 419.81
T9	27 250.41	124.27	3 827 193.23	9 939.59
T10	19 242.69	87.75	6 631 582.08	17 222.85
T11	20 461.89	93.31	4 771 934.41	12 393.17
T12	21 747.13	99.17	5 788 626.20	15 033.62
T13	22 349	101.92	8 345 495.44	21 674.05

Muestra	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>		SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	
	A (μS/cm)	C (mg/L)	A (μS/cm)	C (mg/L)
T14	14 799.84	67.49	6 441 582.22	16 729.40
T15	24 547.26	111.94	9 861 627.84	25 611.59
T16	32 147.75	146.60	11 216 610.33	29 130.61
T17	13 135.46	59.90	6 900 911.14	17 922.33
T18	28 634.98	130.58	11 538 279.15	29 966.01
T19	17 191.83	78.40	5 931 319.93	15 404.20
T20	17 876.16	81.52	6 887 692.77	17 888.00
T21	22 087.50	100.72	5 839 886.20	15 166.74
T22	23 527.32	107.29	9 473 373.84	24 603.26
T23	22 454.37	102.40	8 038 786.25	20 877.50
T24	21 763.74	99.25	8 249 512.35	21 424.77
T25	20 116.82	91.74	7 065 077.75	18 348.68
T26	26 327	120.06	10 059 276.23	26 124.90
T27	23 131.69	105.49	9 646 989.68	25 054.15
T28	21 785.32	99.35	7 620 900.46	19 792.21
T29	14 732.39	67.18	11 669 861.56	30 307.75
T30	23 446.58	106.92	11 939 616.36	31 008.32
T31	21 679.22	98.86	6 981 973.64	18 132.85
T32	16 857.79	76.88	9 289 759.00	24 126.39
T33	4 789	21.84	11 903 887.45	30 915.53
T34	18 780.26	85.64	8 063 737.00	20 942.30
T35	27 968.06	127.54	9 521 777.50	24 728.97
T36	18 149	82.76	5 740 551.14	14 908.76
T37	12 302.27	56.10	7 592 517.17	19 718.49
T38	20 506.30	93.51	6 418 645.63	16 669.84
T39	12 464.20	56.84	6 598 378.28	17 136.62
T40	13 058.50	59.55	6 472 193.59	16 808.90
T41	19 442.10	88.66	7 721 889.17	20 054.48
T42	22 620.42	103.15	8 762 733.00	22 757.65
T43	16 562.20	75.53	7 612 178.07	19 769.55
T44	13 929.48	63.52	8 605 029.69	22 348.08
T45	29 913.31	136.41	6 246 728.31	16 223.35
T46	21 625	98.61	6 968 240.42	18 097.19
T47	37 429	170.68	5 416 528.34	14 067.24
T48	18 798.23	85.72	8 927 541.50	23 185.68
T49	21 016.50	95.84	8 737 930.67	22 693.24
T50	19 647.96	89.60	6 348 171.29	16 486.81
T51	16 074.56	73.30	8 452 679.00	21 952.41
T52	19 652.74	89.62	9 810 876.61	25 479.78
T53	33 335	152.02	6 226 684.04	16 171.29
T54	23 989.68	109.40	4 656 055.62	12 092.22

Tabla 27. Concentraciones de  $\text{HCO}_3^-$  y  $\text{CO}_3^{2-}$  determinados mediante potenciometría.

Muestra	$\text{HCO}_3^-$	$\text{CO}_3^{2-}$
	C (mg/L)	C (mg/L)
T1	2 122.8	6 264
T2	2 122.8	6 960
T3	2 122.8	5 568
T4	4 245.6	5 568
T5	4 953.2	6 264
T6	3 538	5 568
T7	4 245.6	4 176
T8	2 830.4	6 264
T9	7 783.6	2 784
T10	2 122.8	6 960
T11	4 245.6	2 784
T12	4 953.2	4 176
T13	4 953.2	6 960
T14	2 830.4	5 568
T15	3 538	7 656
T16	7 783.6	6 960
T17	5 660.8	2 784
T18	5 660.8	9 744
T19	2 122.8	6 264
T20	4 953.2	7 656
T21	4 245.6	4 872
T22	4 953.2	8 352
T23	4 953.2	6 264
T24	6 368.4	4 872
T25	2 122.8	6 960
T26	6 368.4	9 048
T27	4 245.6	8 352
T28	1 415.2	6 960
T29	4 245.6	5 568
T30	7 076	9 048
T31	5 660.8	5 568
T32	6 368.4	6 960
T33	7 783.6	6 264
T34	4 953.2	9 744
T35	4 953.2	9 048
T36	5 660.8	6 960
T37	4 245.6	5 568
T38	6 368.4	4 176

<b>Muestra</b>	<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	<b>CO<sub>3</sub><sup>2-</sup></b>
	<b>C (mg/L)</b>	<b>C (mg/L)</b>
<b>T39</b>	6 368.4	4 872
<b>T40</b>	2 122.8	8 352
<b>T41</b>	4 245.6	9 048
<b>T42</b>	2 830.4	5 568
<b>T43</b>	4 245.6	6 960
<b>T44</b>	4 953.2	6 960
<b>T45</b>	5 660.8	5 568
<b>T46</b>	2 122.8	6 960
<b>T47</b>	2 122.8	6 264
<b>T48</b>	4 245.6	8 352
<b>T49</b>	4 245.6	6 960
<b>T50</b>	7 076	6 264
<b>T51</b>	5 660.8	5 568
<b>T52</b>	7 783.6	6 264
<b>T53</b>	7 076	6 264
<b>T54</b>	707.6	5 568

**Anexo IV. Datos obtenidos con el método de la primera derivada y gráficos de curvas de valoración de las 54 muestras analizadas.**

*Tabla 28. Máximos y puntos de equivalencia obtenidos con el método de la primera derivada.*

<b>Muestra</b>	<b>1er máximo de <math>\Delta\text{pH}/\Delta\text{mL}</math></b>	<b>1er p.eq (mL)</b>	<b>2do máximo de <math>\Delta\text{pH}/\Delta\text{mL}</math></b>	<b>2do p.eq (mL)</b>
T1	1.8	4.5	2.2	10.5
T2	1.6	5	2.2	11.5
T3	1.6	4	2.8	9.5
T4	1.6	4	2.2	11
T5	1.2	4.5	2.6	12.5
T6	1.4	4	3	10.5
T7	1.6	3	1.8	9.0
T8	1.4	4.5	2.6	11
T9	1.2	2	2.6	9.5
T10	1.4	5	2.4	11.5
T11	1.6	2	2.4	7
T12	1.6	3	2.8	9.5
T13	1	5	2.8	13.5
T14	1.4	4	2.2	10
T15	1.4	5.5	2	13.5
T16	1.4	5	1.6	15.5
T17	1.4	2	2.4	8
T18	1.2	7	1.4	18
T19	1.2	4.5	1.8	10.5
T20	1.6	5.5	1.8	14.5
T21	1.8	3.5	1.6	10
T22	1.2	6	1.8	15.5
T23	1.4	4.5	2.4	12.5
T24	1.4	3.5	2.4	11.5
T25	1.2	5	2.2	11.5
T26	1	6.5	1.8	17.5
T27	1.2	6	1.8	15
T28	1.4	5	2	11
T29	1.2	4	2.2	11
T30	1	6.5	2.2	18
T31	1.2	4	2.6	12
T32	1.4	5	2.2	14.5
T33	1	4.5	2.4	14.5
T34	1.2	7	2.4	17.5
T35	1.4	6.5	1.8	16.5
T36	1	5	2	14
T37	1.2	4	2	11



Muestra	1er máximo de $\Delta\text{pH}/\Delta\text{mL}$	1er p.eq (mL)	2do máximo de $\Delta\text{pH}/\Delta\text{mL}$	2do p.eq (mL)
T38	1.2	3	2.2	10.5
T39	1.4	3.5	2.6	11.5
T40	1.2	6	1.8	13.5
T41	1.2	6.5	1.8	16
T42	1.4	4	1.8	10
T43	1.2	5	1.8	13
T44	1.2	5	2	13.5
T45	1.2	4	2	12
T46	1.8	5	2	11.5
T47	1.8	4.5	2.2	10.5
T48	1.2	6	2.2	15
T49	1.6	5	3	13
T50	1	4.5	2	14
T51	1.2	4	2.2	12
T52	1.2	4.5	2.4	14.5
T53	1.4	4.5	1.6	14
T54	1.6	4	2	8.5

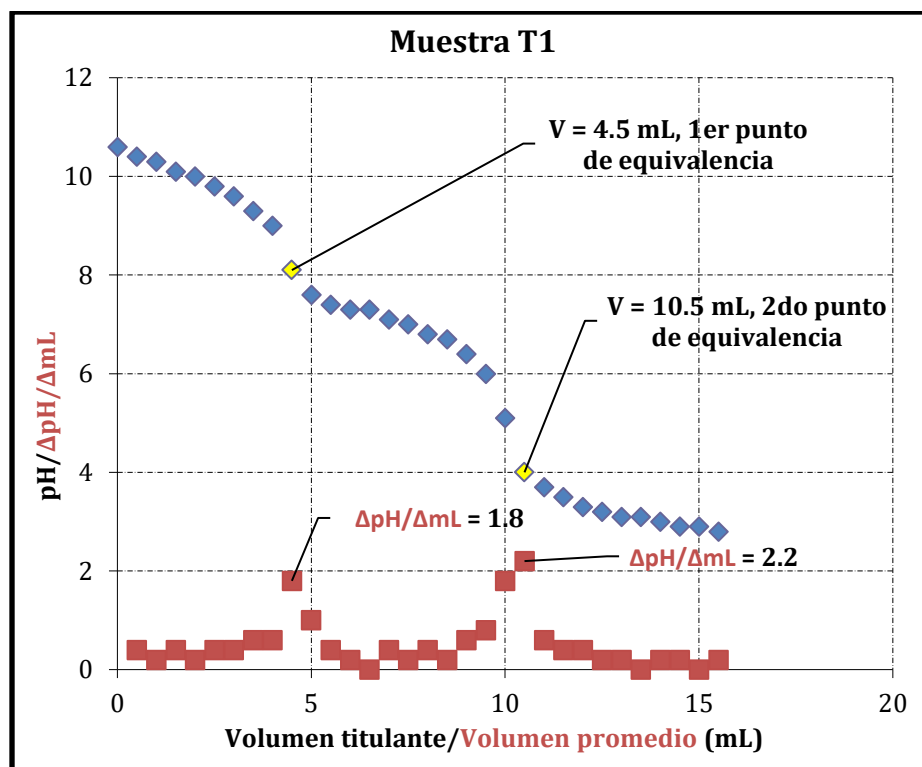


Imagen 20. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T1.

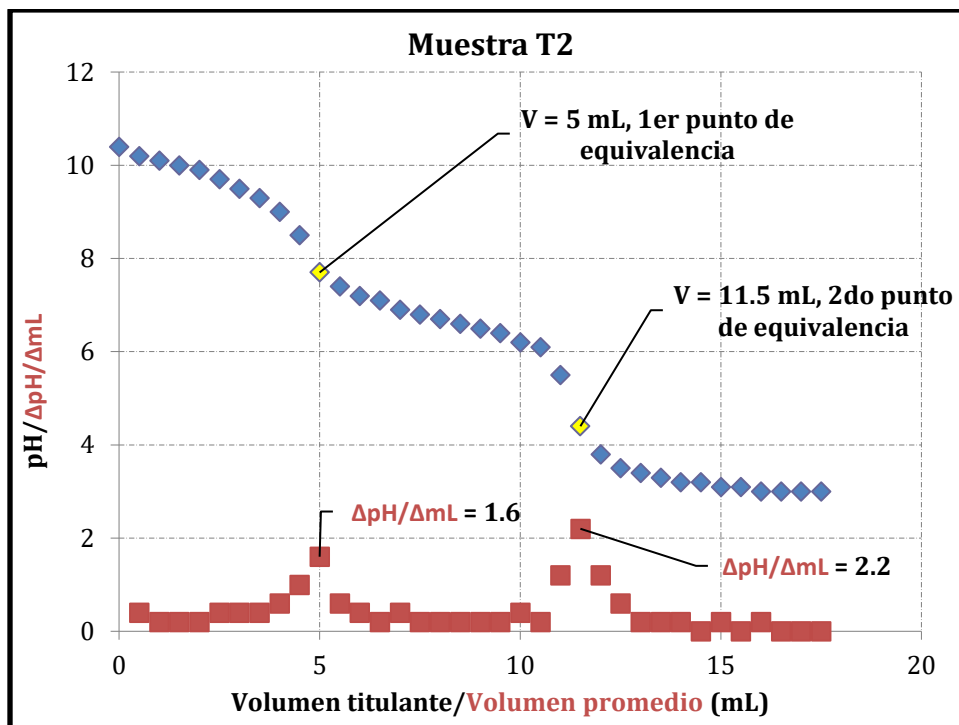


Imagen 21. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T2.

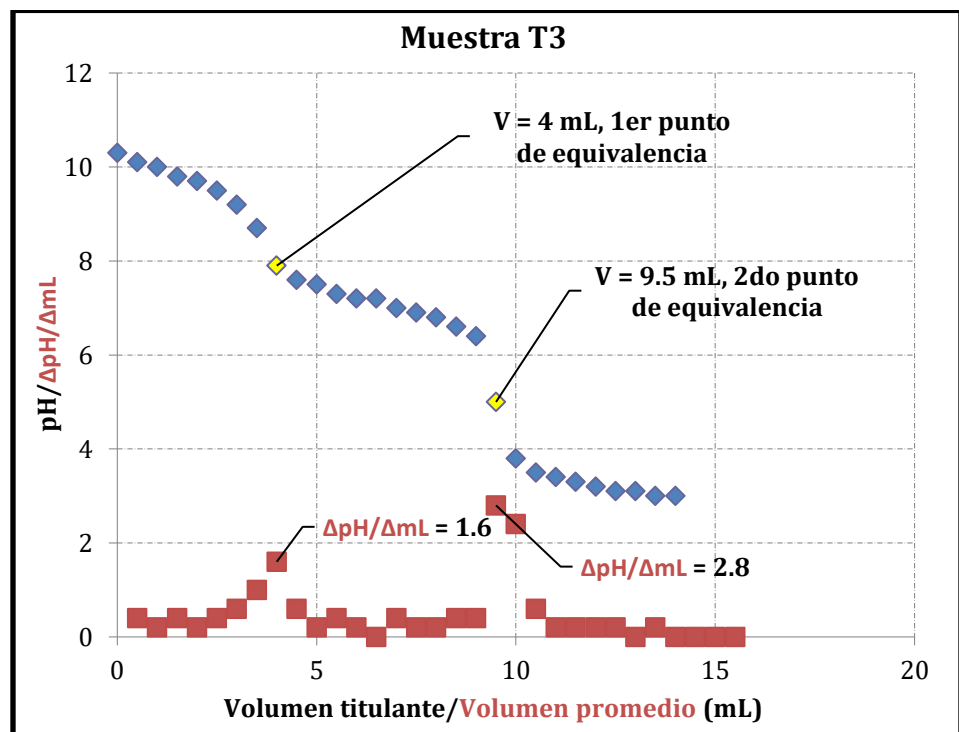


Imagen 22. Curva de valoración de y gráfico de primera derivada de la muestra T3.

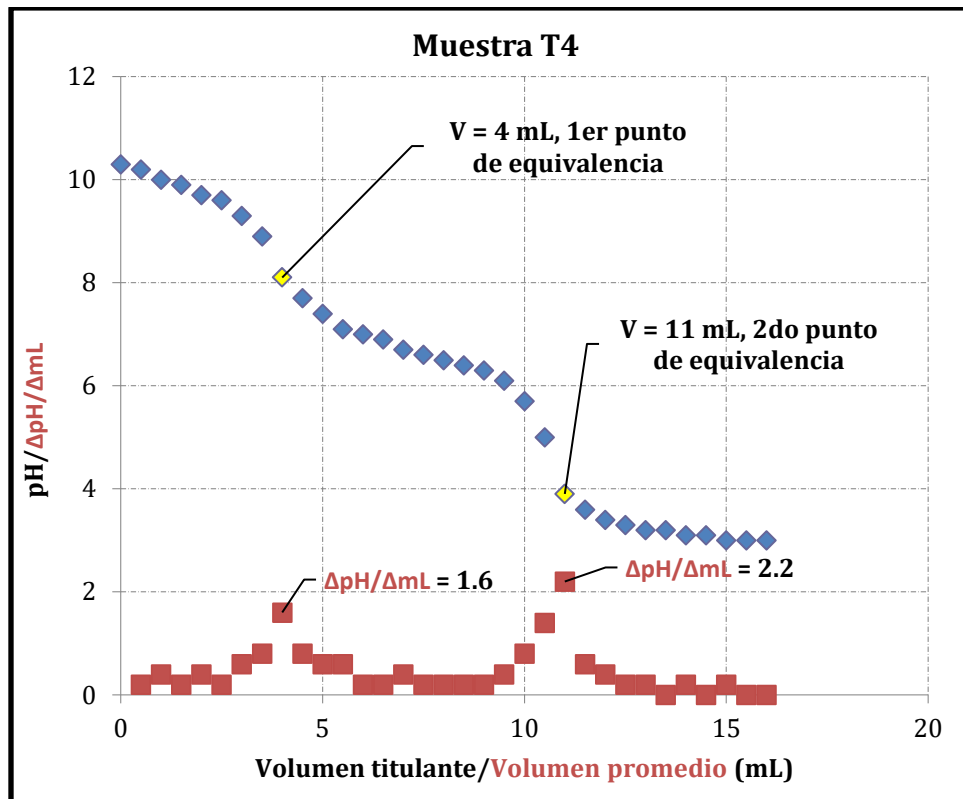


Imagen 23. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T4.

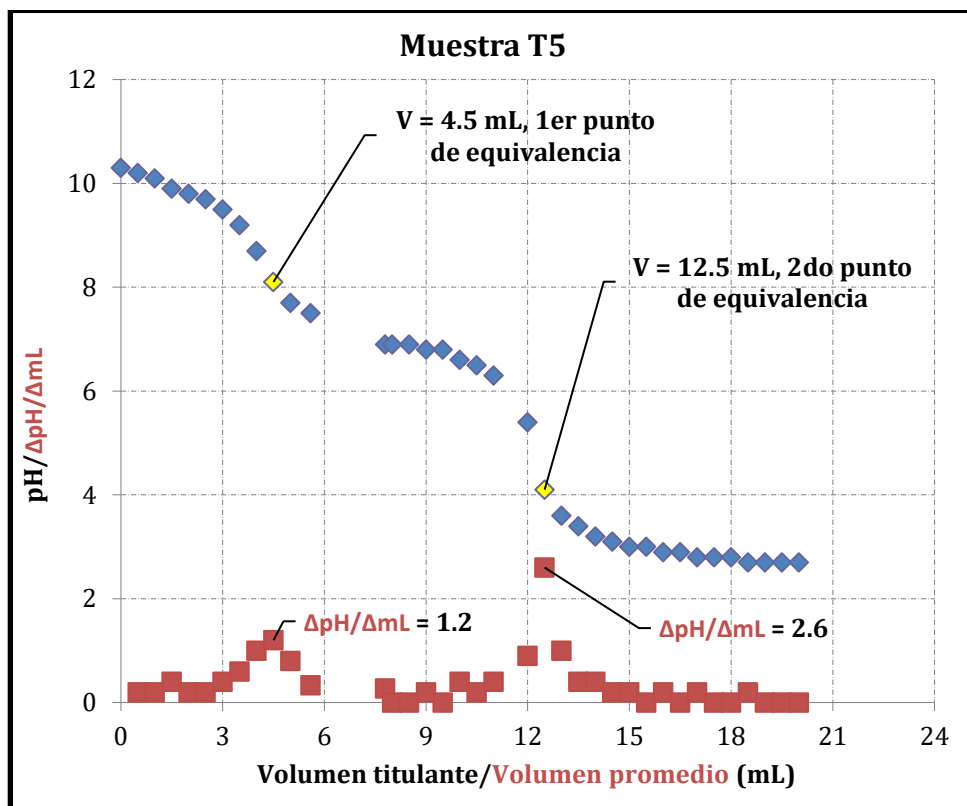


Imagen 24. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T5.

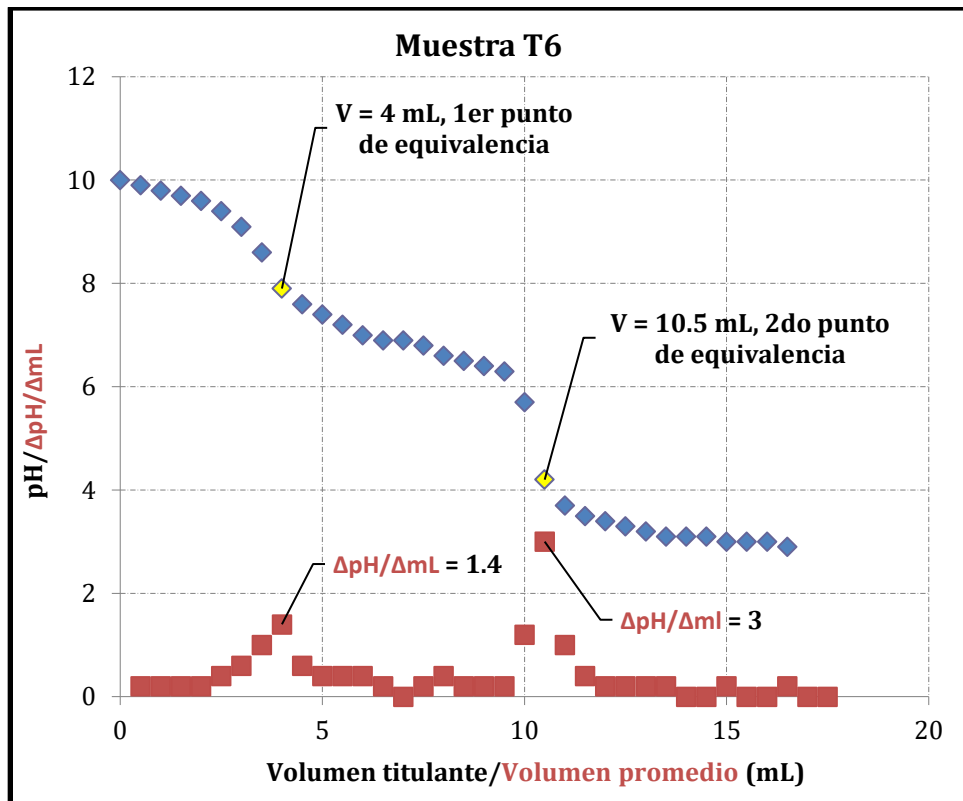


Imagen 25. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T6.

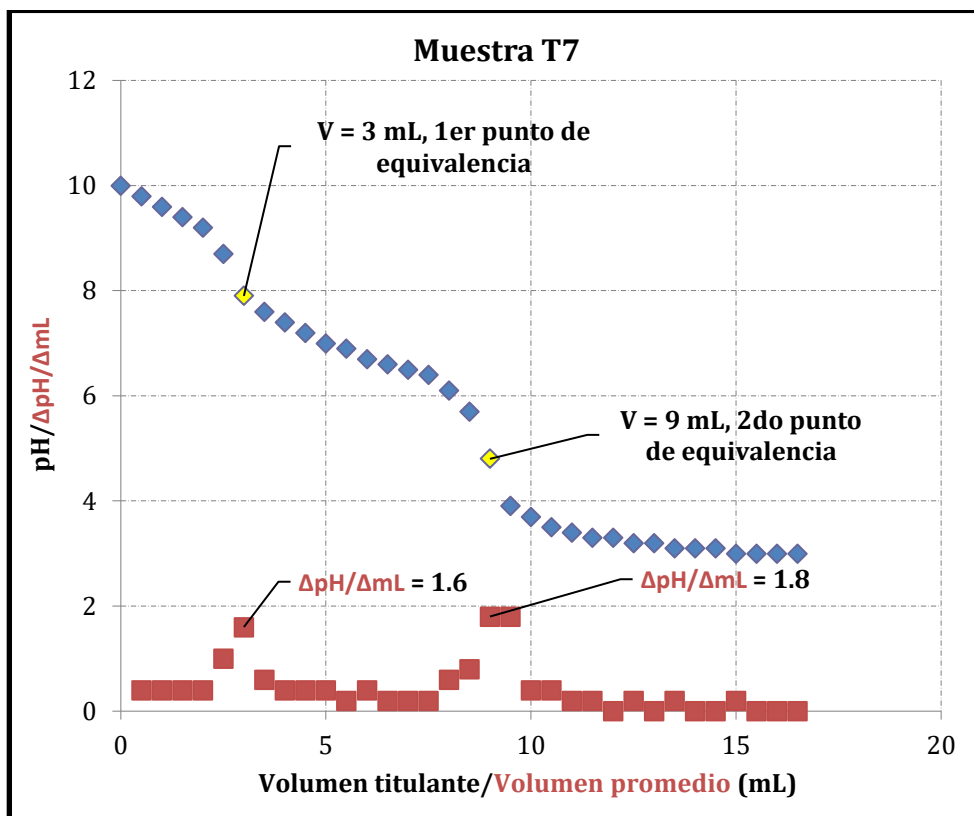


Imagen 26. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T7.

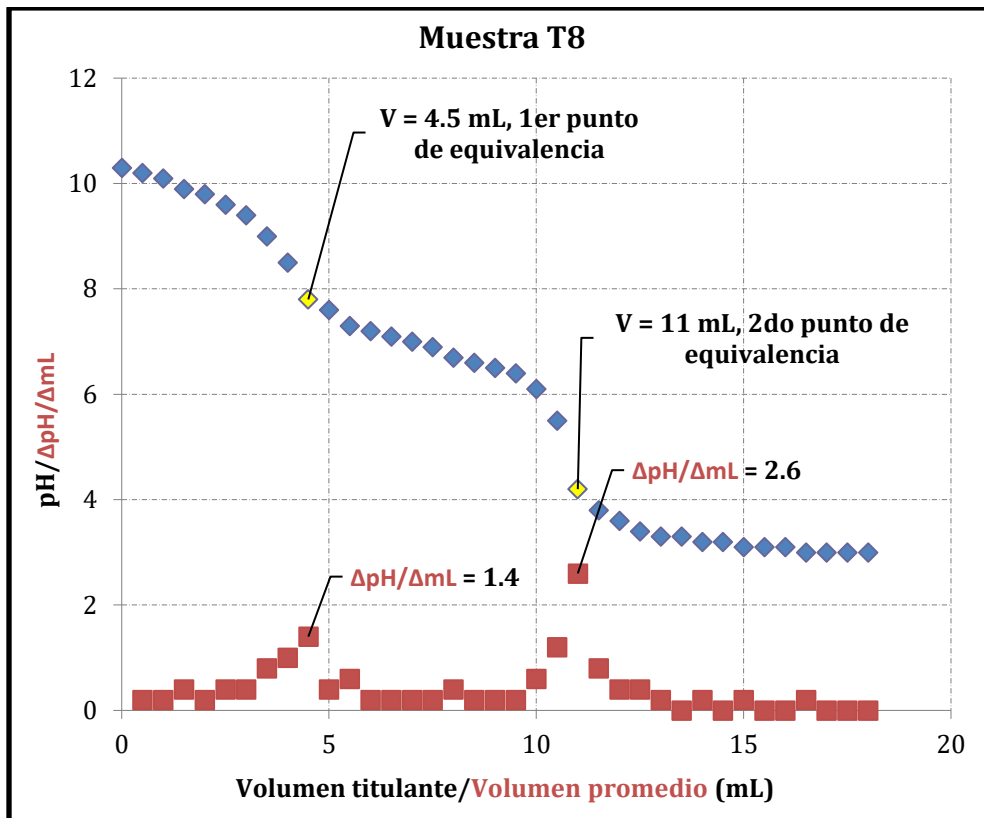


Imagen 27. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T8.

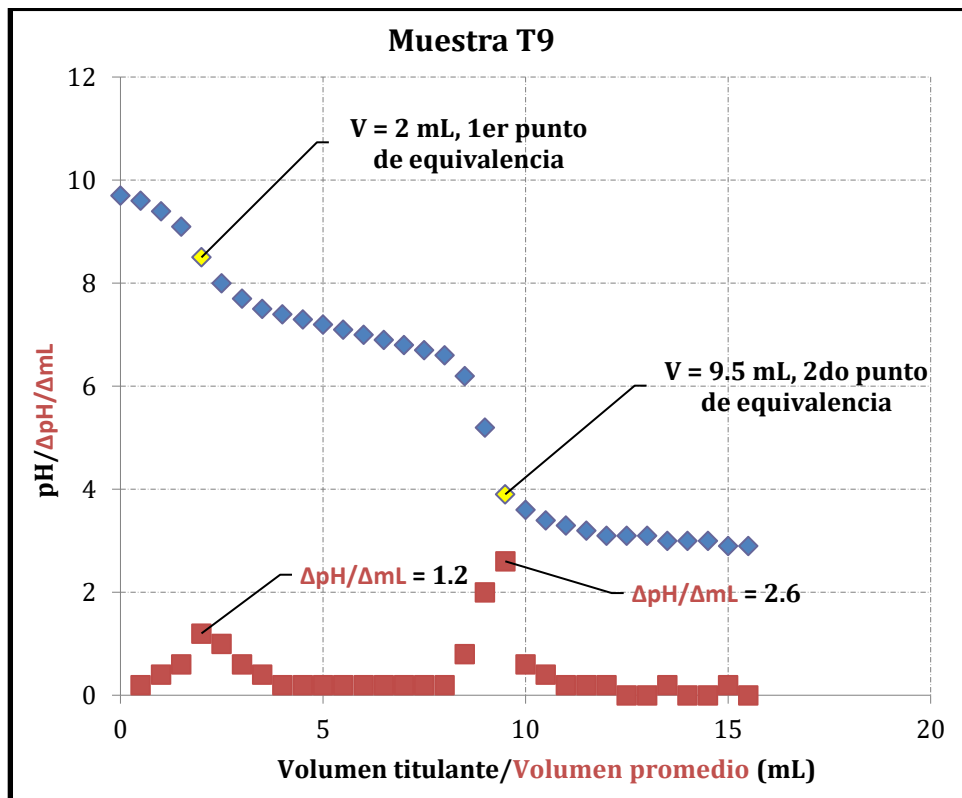


Imagen 28. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T9.

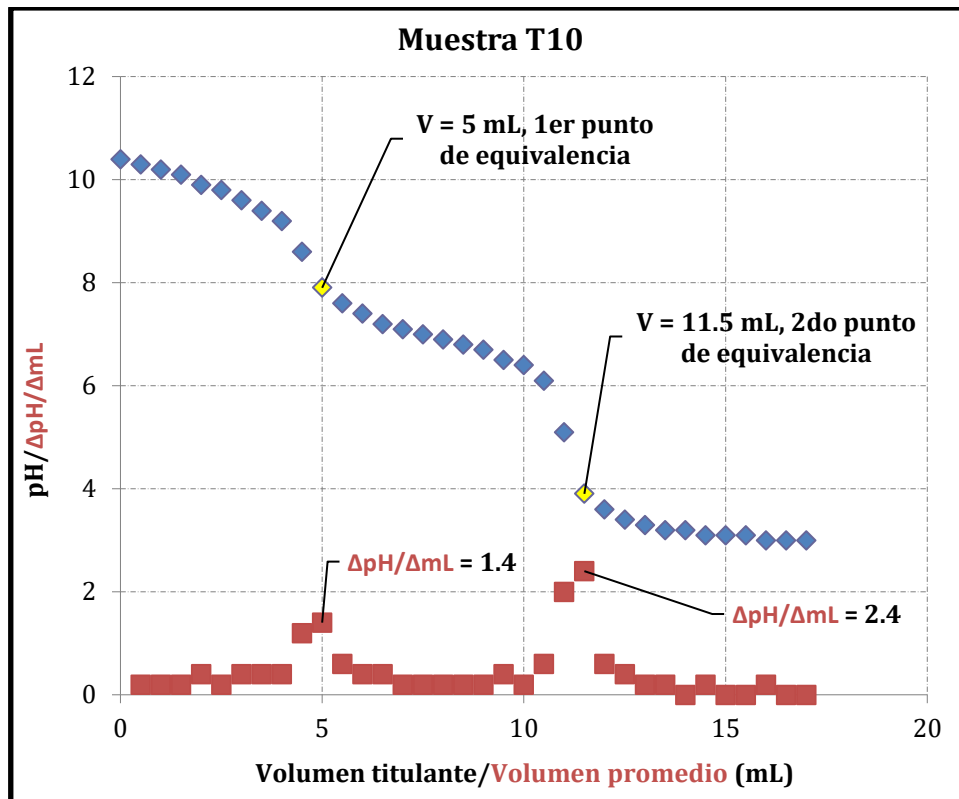


Imagen 29. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T10.

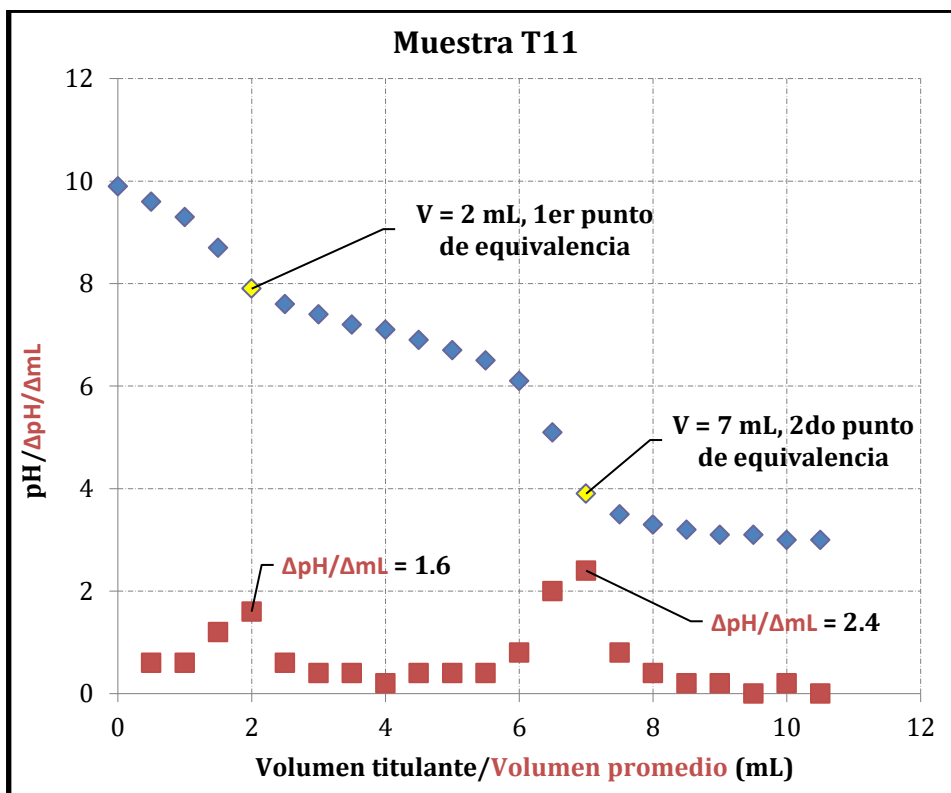


Imagen 30. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T11.

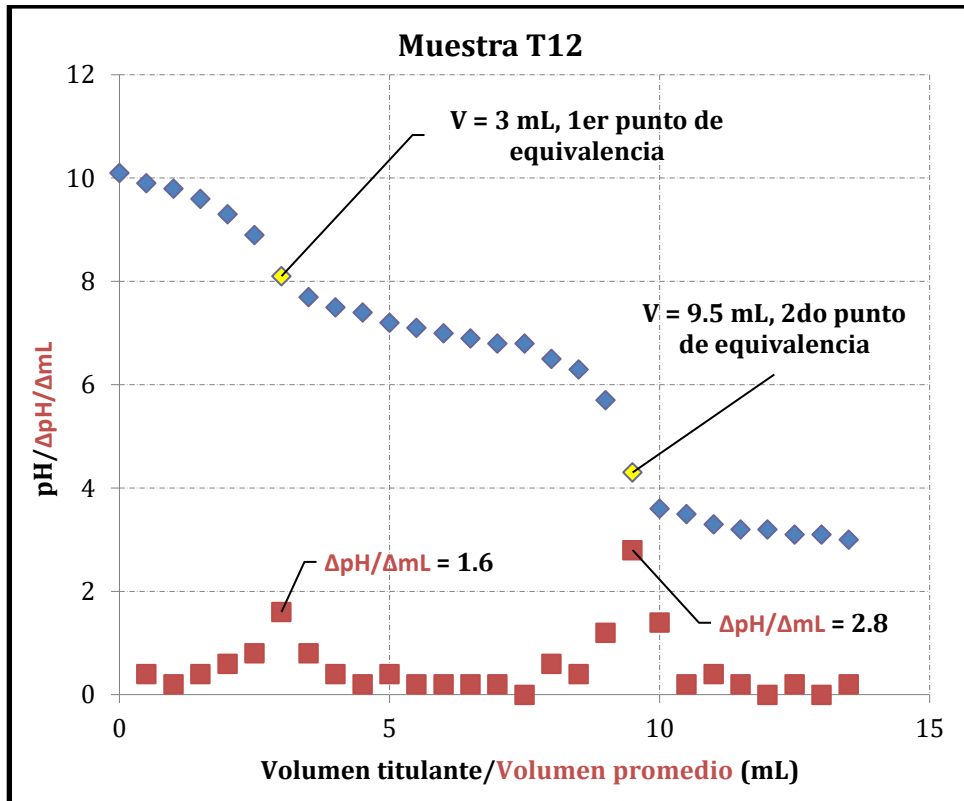


Imagen 31. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T12.

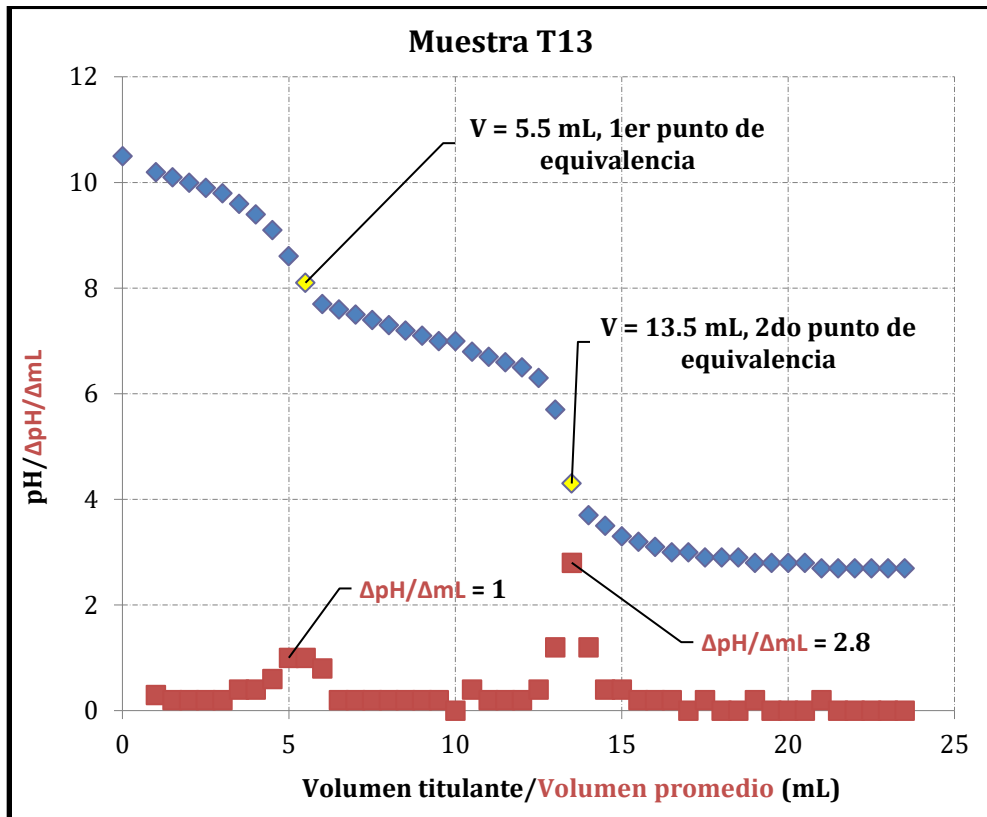


Imagen 32. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T13.

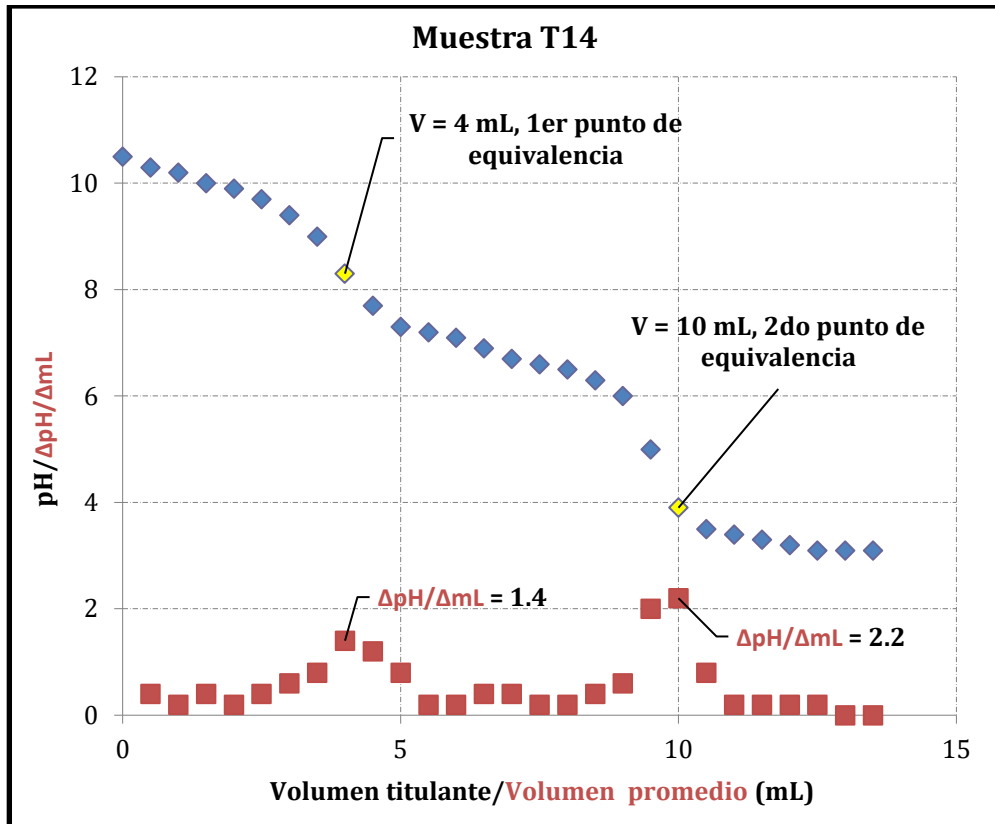


Imagen 33. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T14.

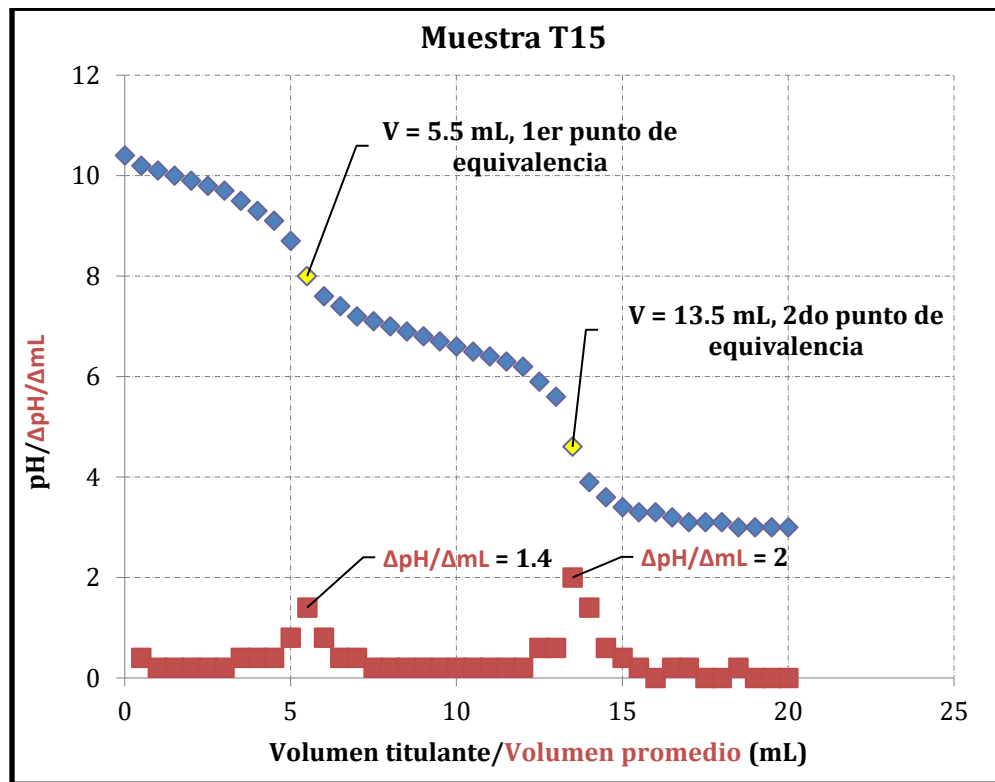


Imagen 34. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T15.



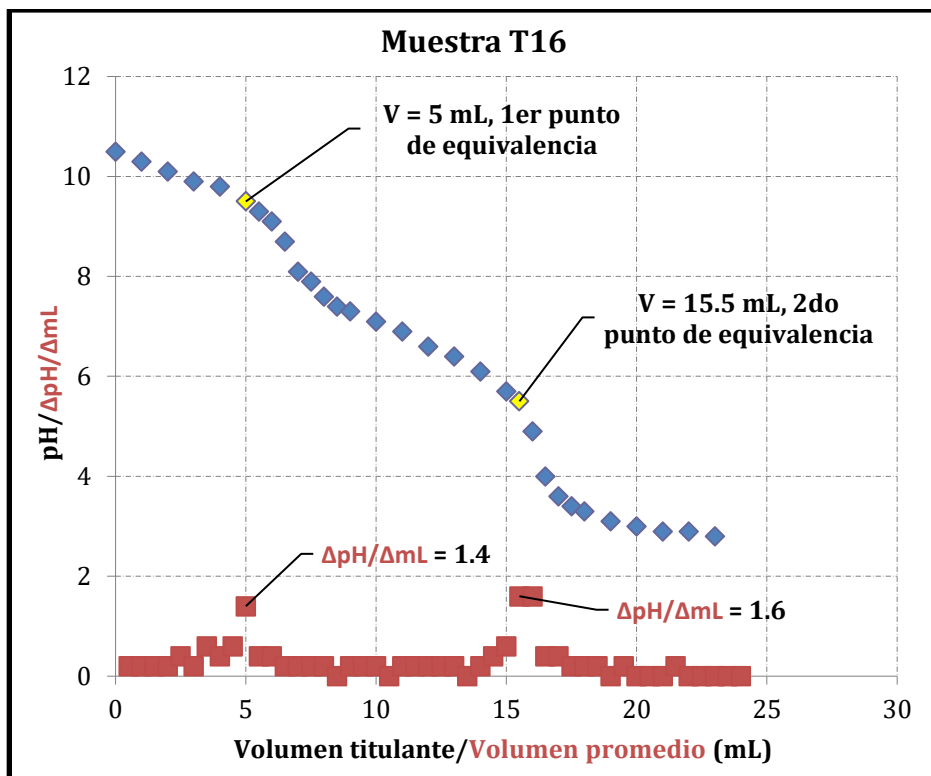


Imagen 35. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T16.

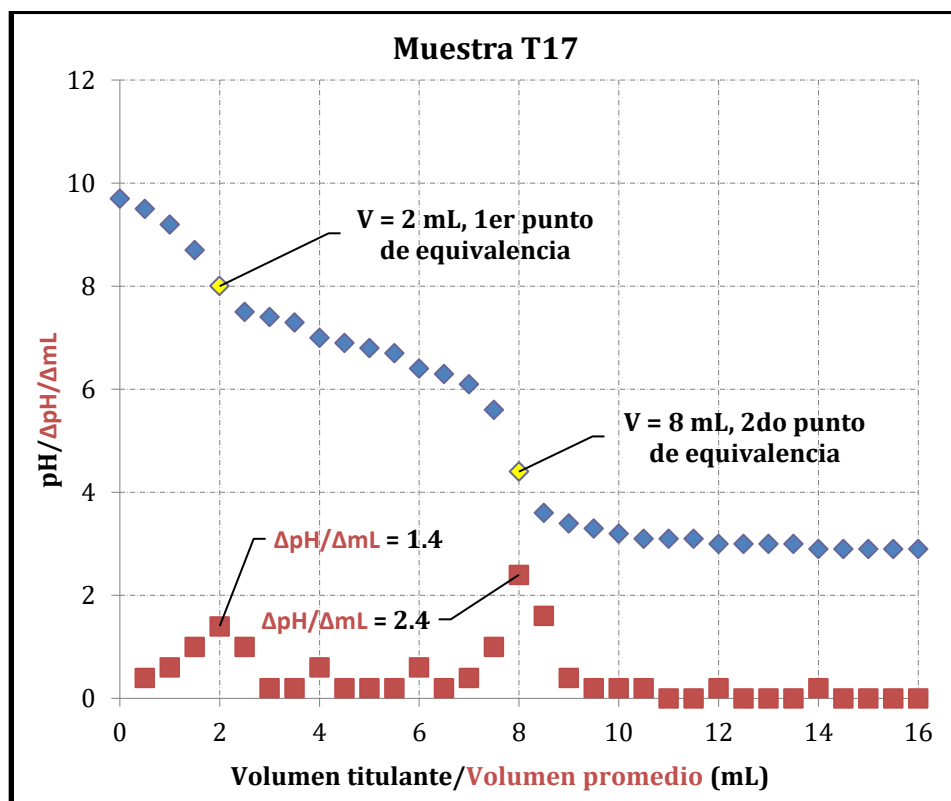


Imagen 36. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T17.

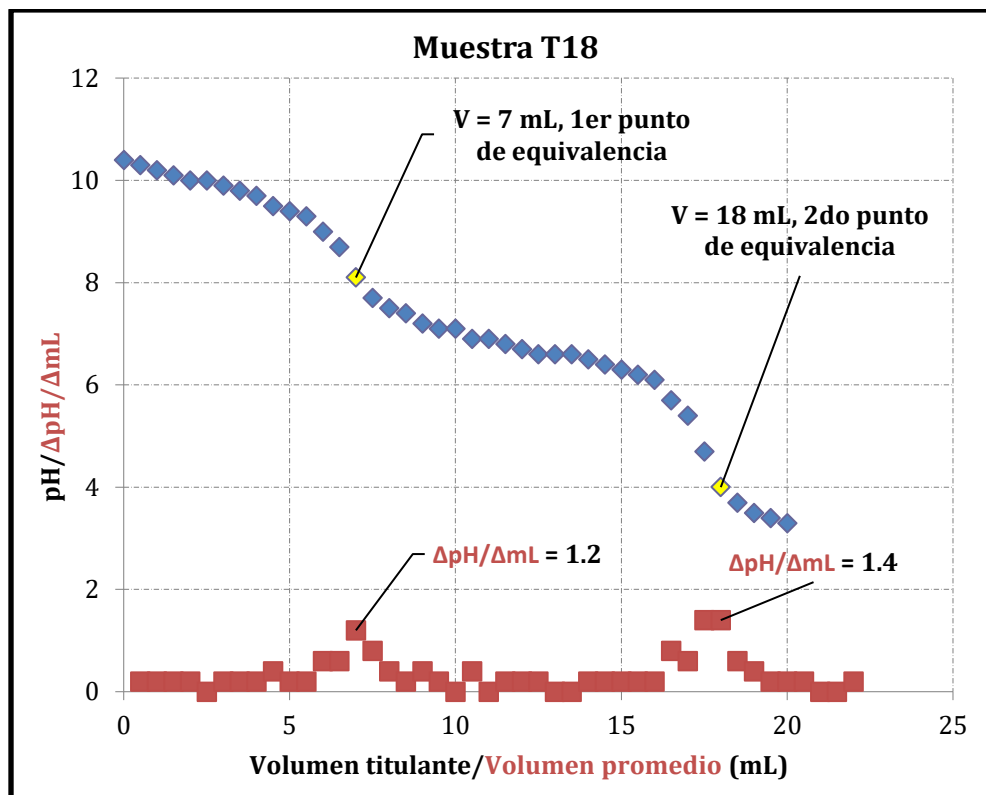


Imagen 37. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T18.

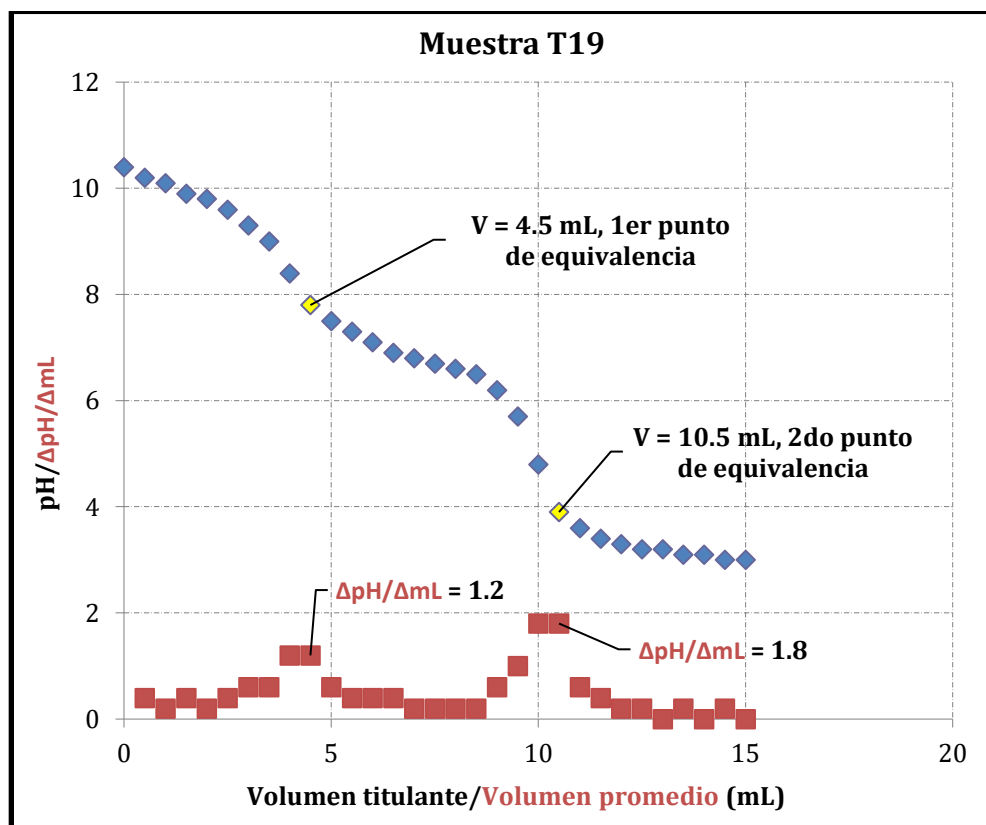


Imagen 38. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T19.

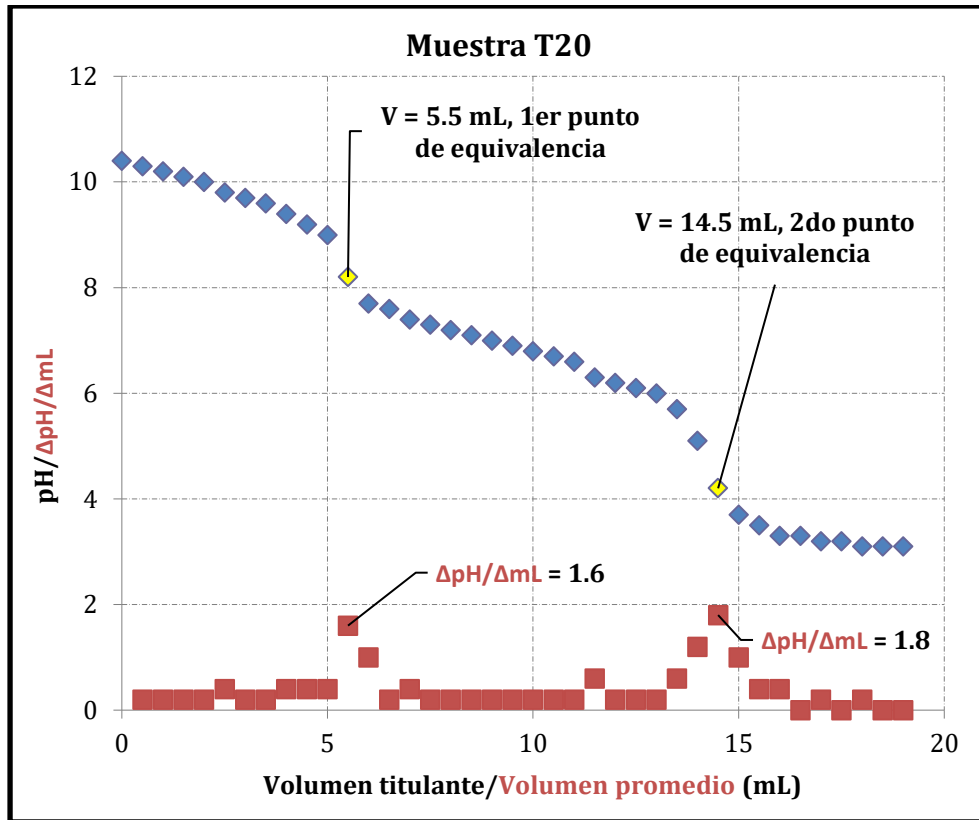


Imagen 39. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T20.

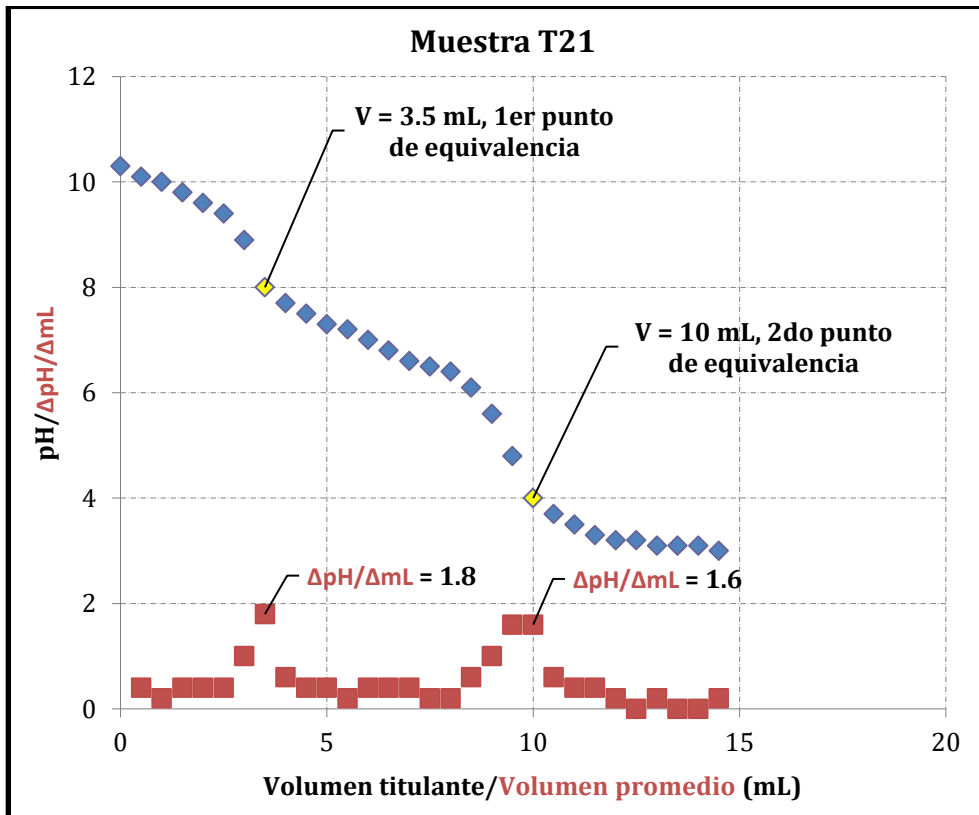


Imagen 40. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T21.

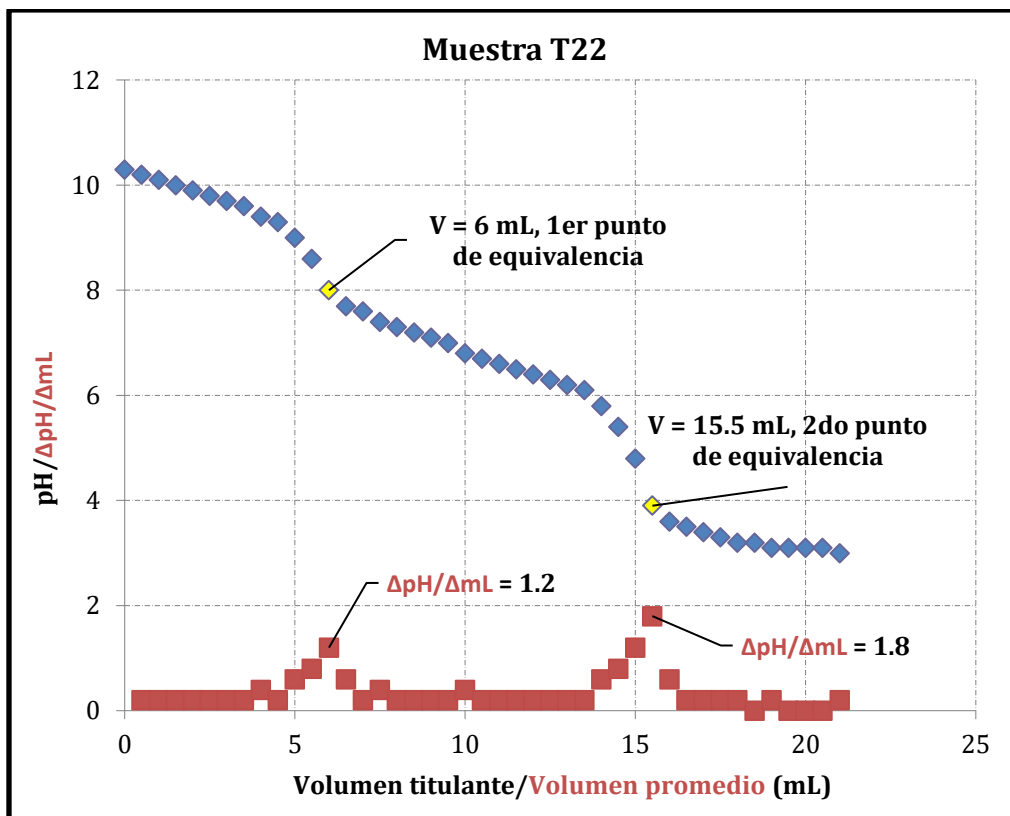


Imagen 41. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T22.

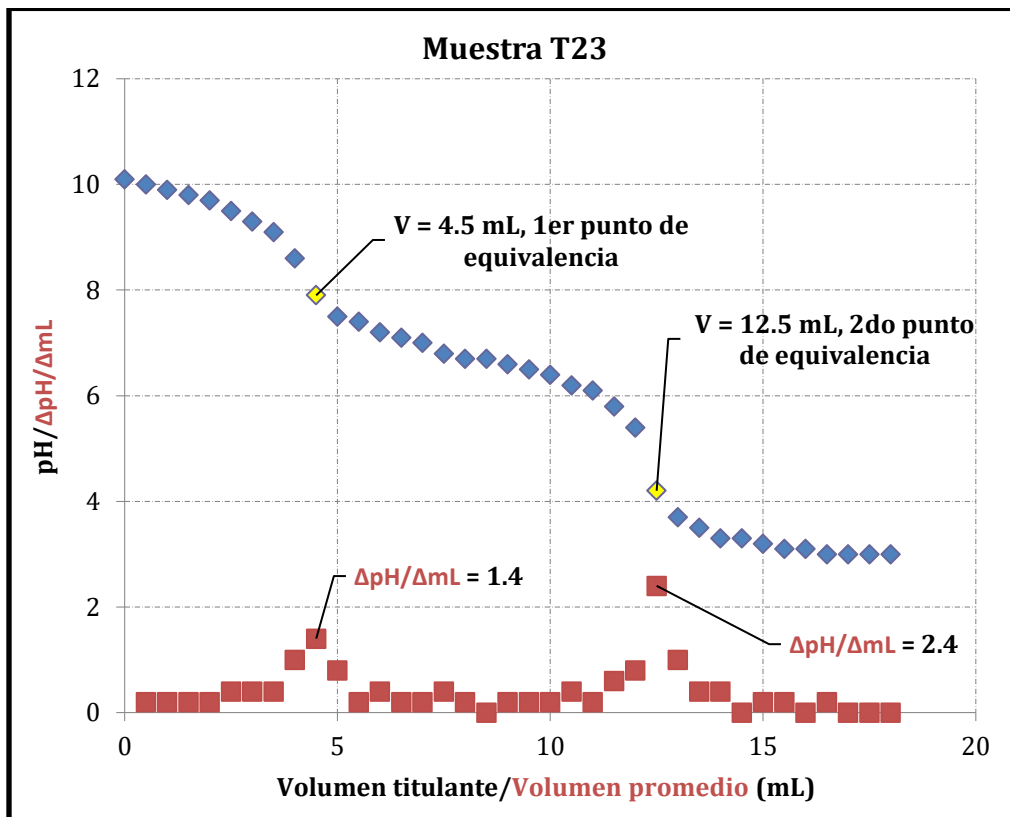


Imagen 42. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T23.

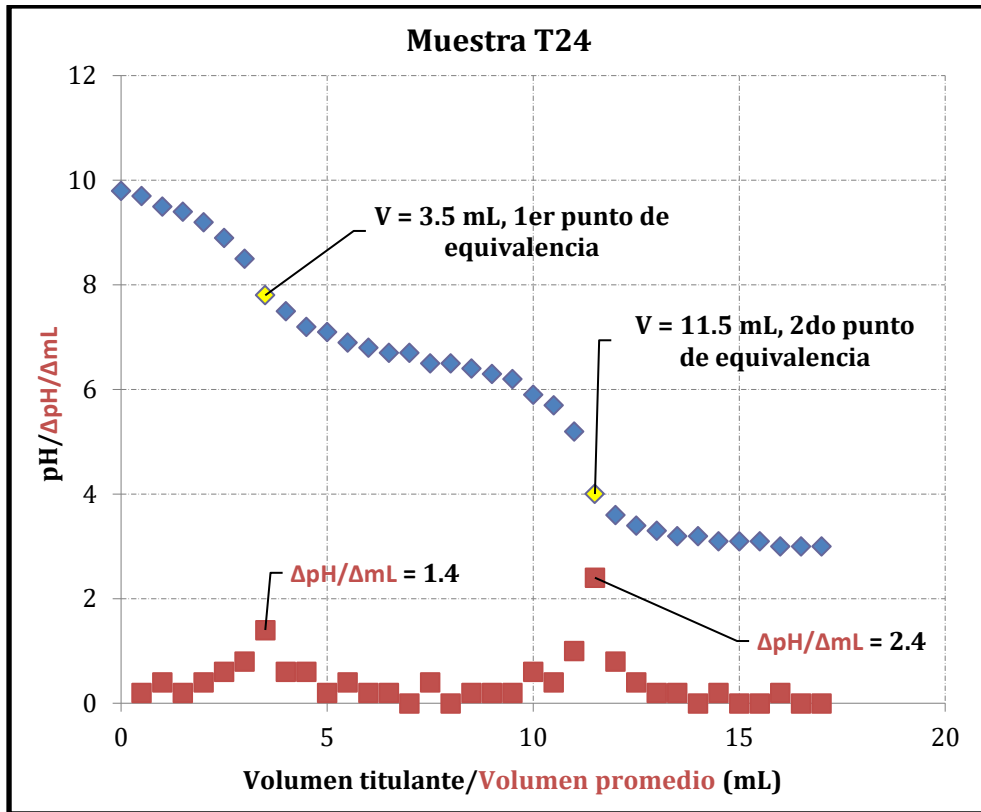


Imagen 43. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T24.

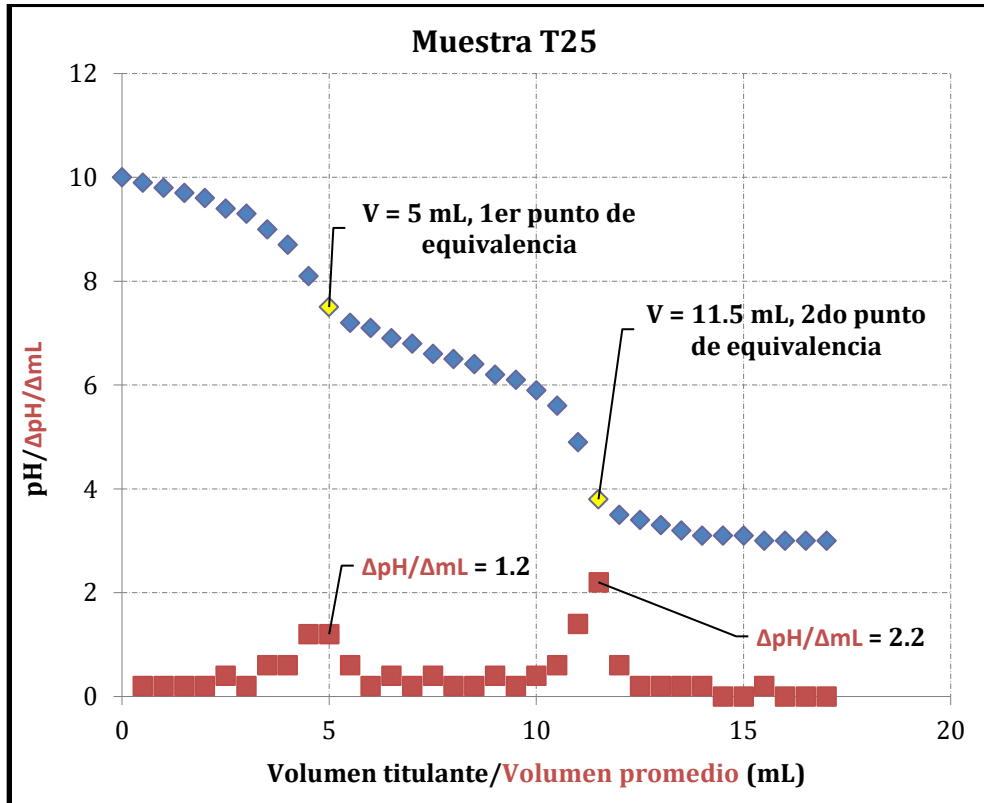


Imagen 44. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T25.

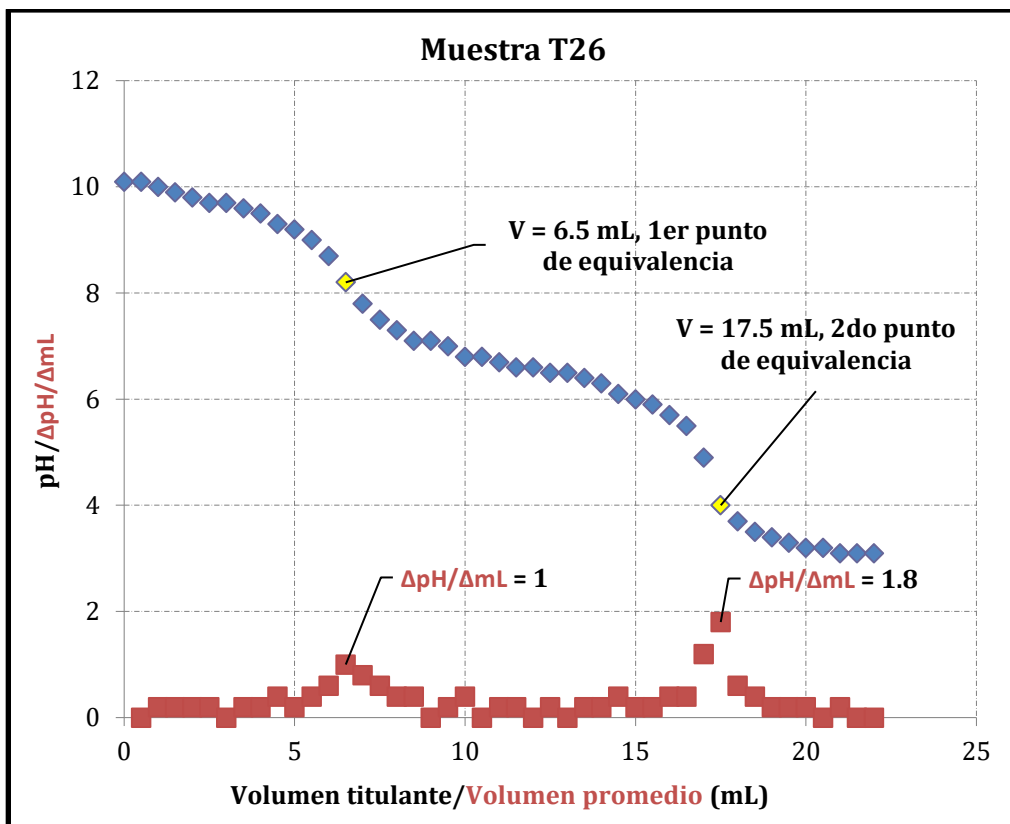


Imagen 45. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T26.

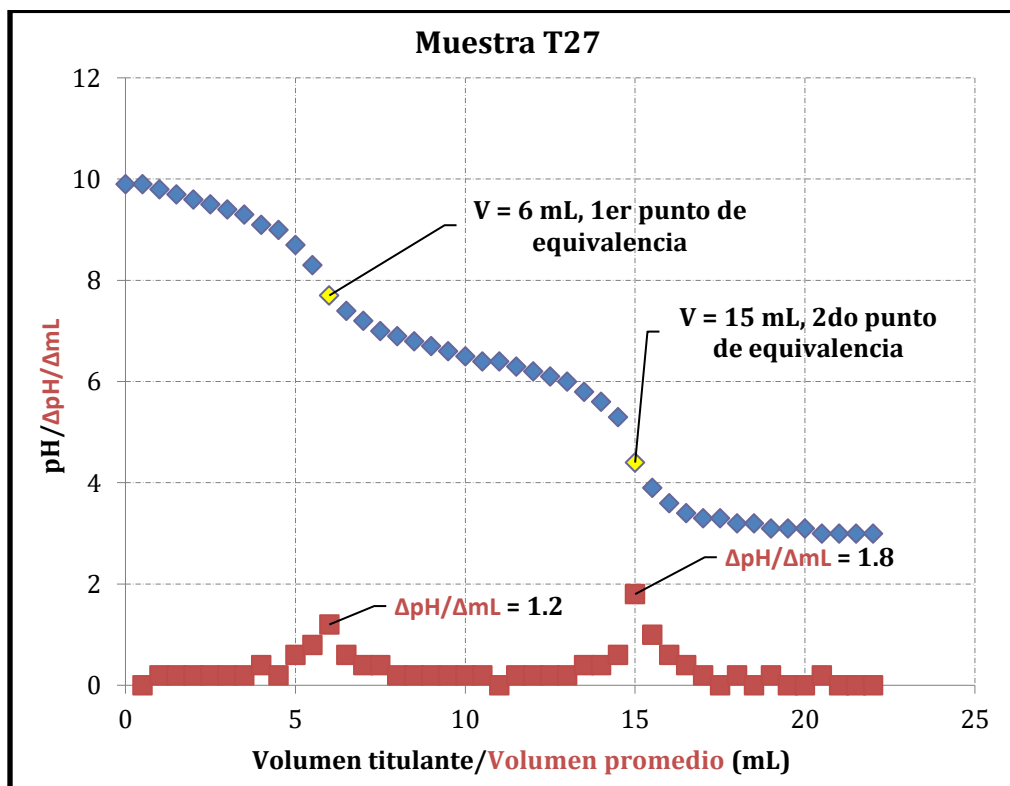


Imagen 46. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T27.

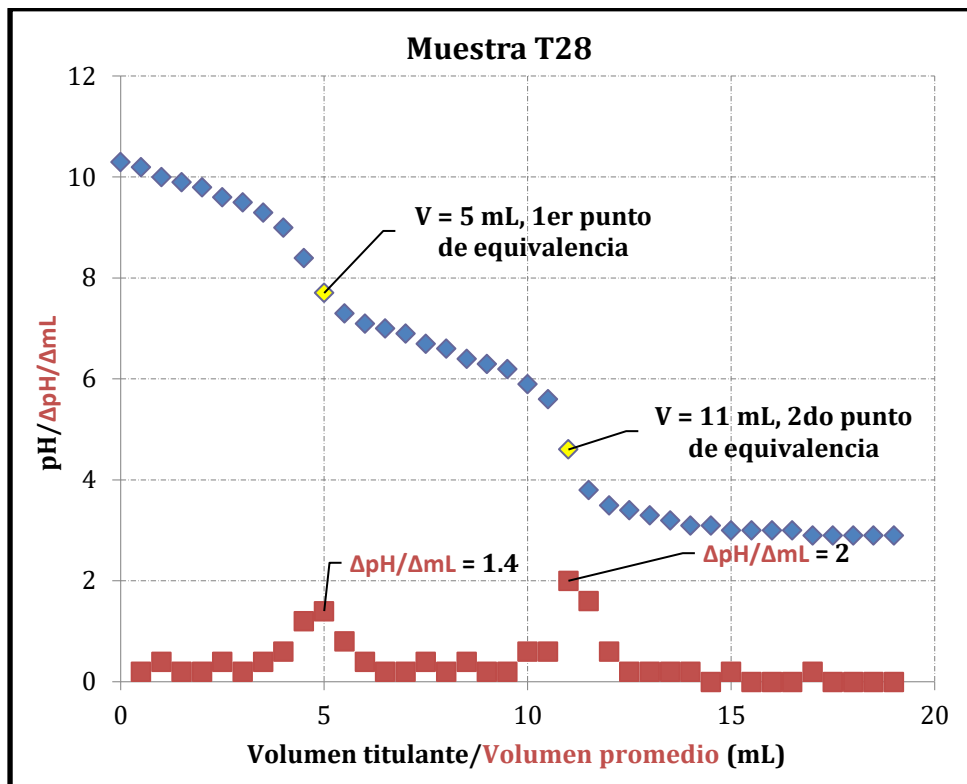


Imagen 47. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T28.

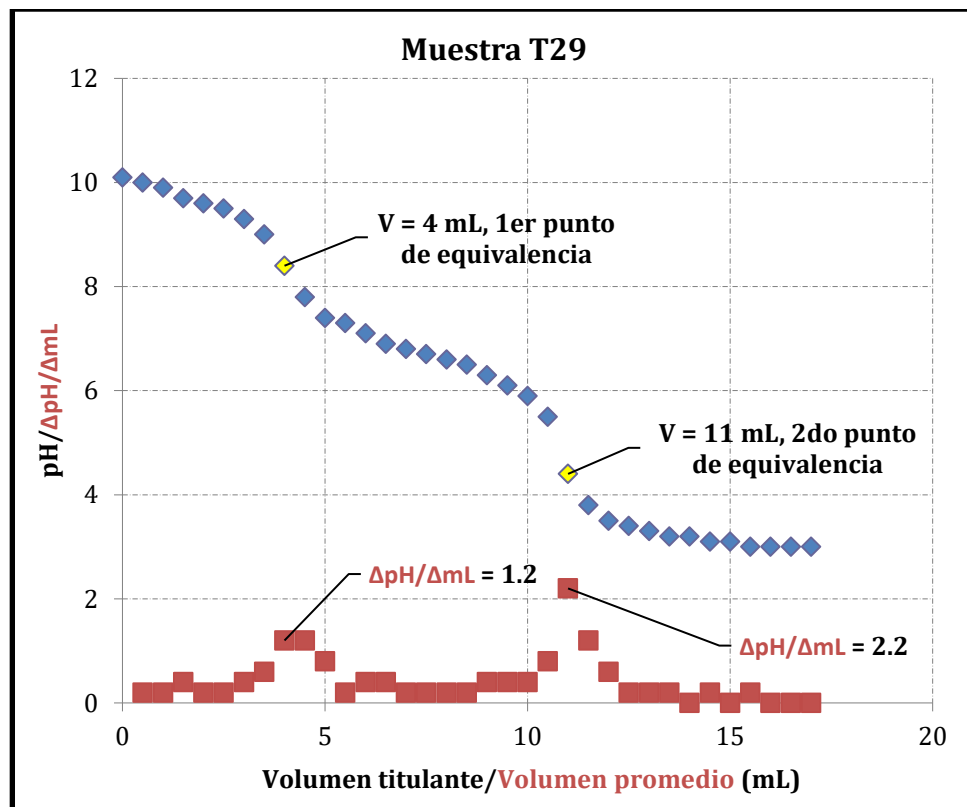


Imagen 48. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T29.

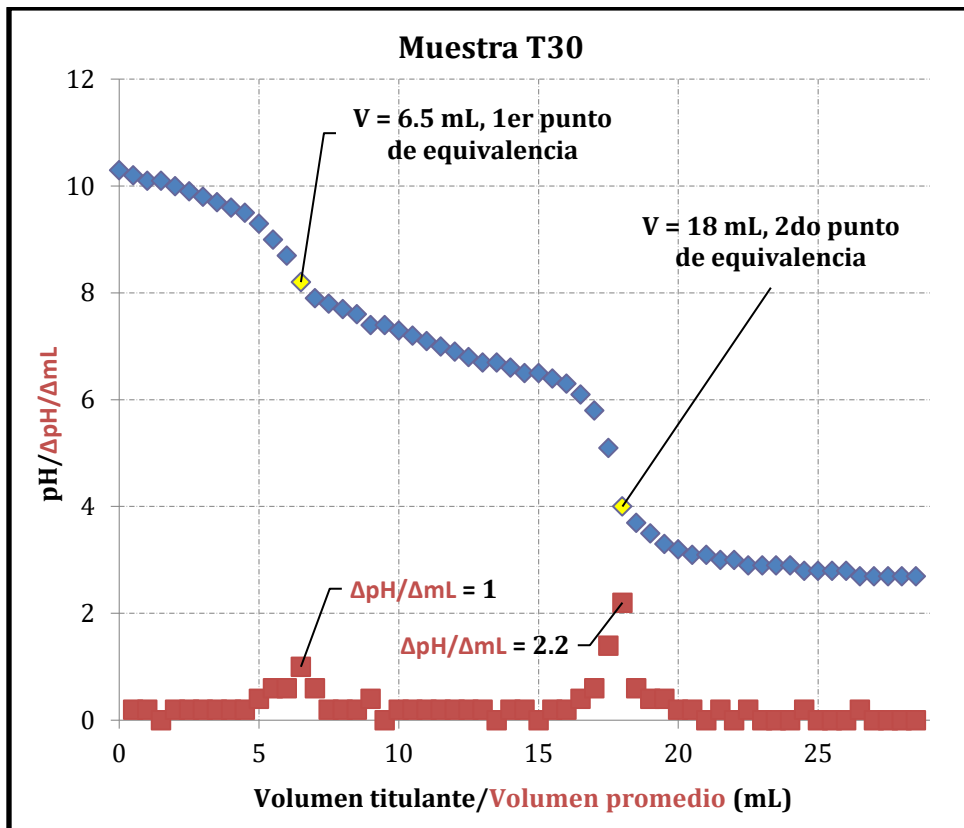


Imagen 49. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T30.

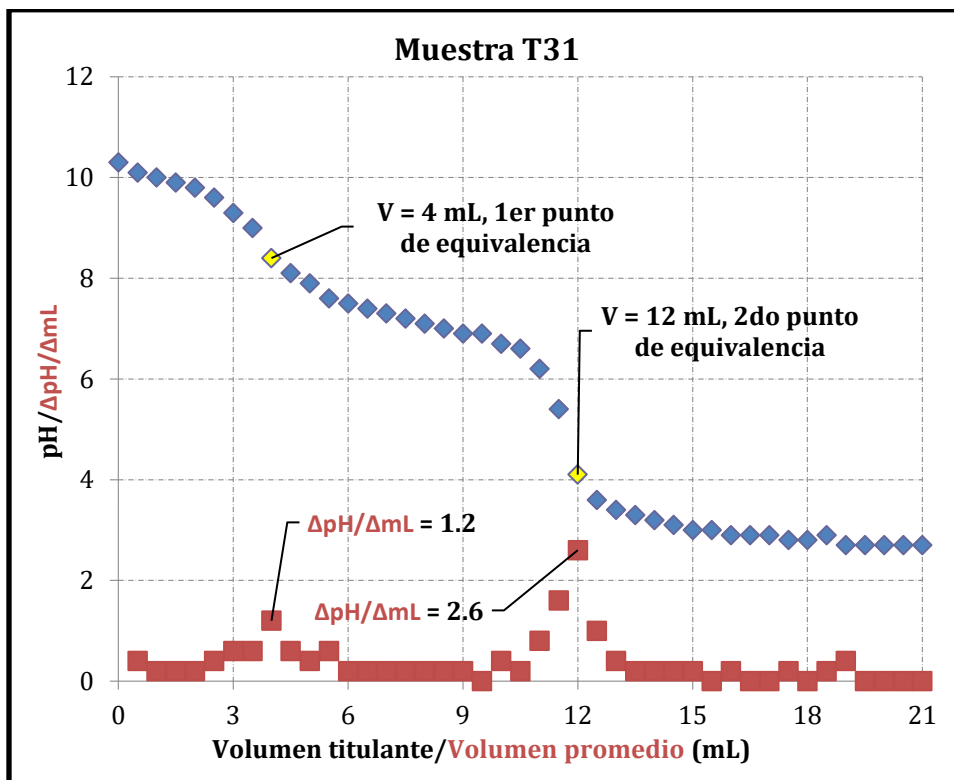


Imagen 50. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T31.



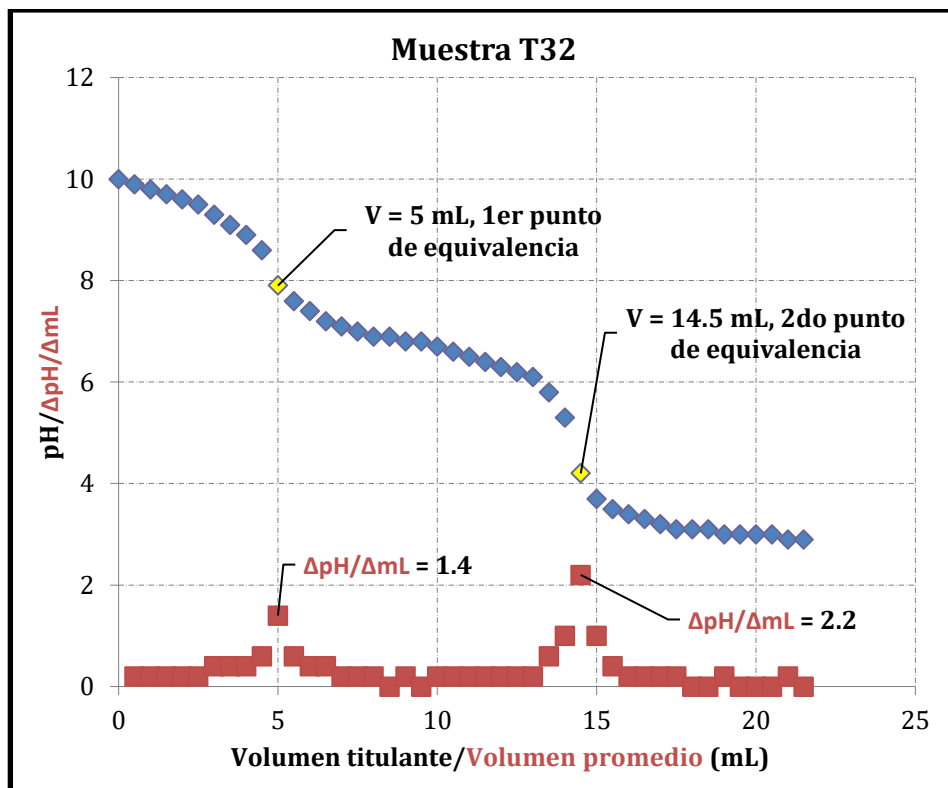


Imagen 51. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T32.

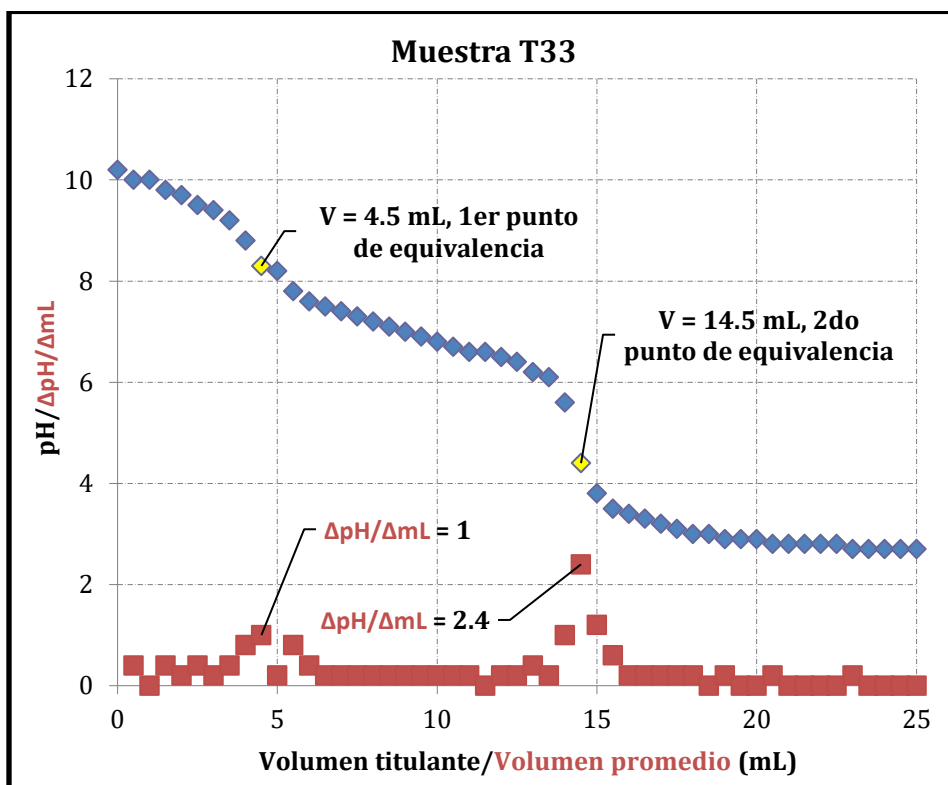


Imagen 52. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T33.

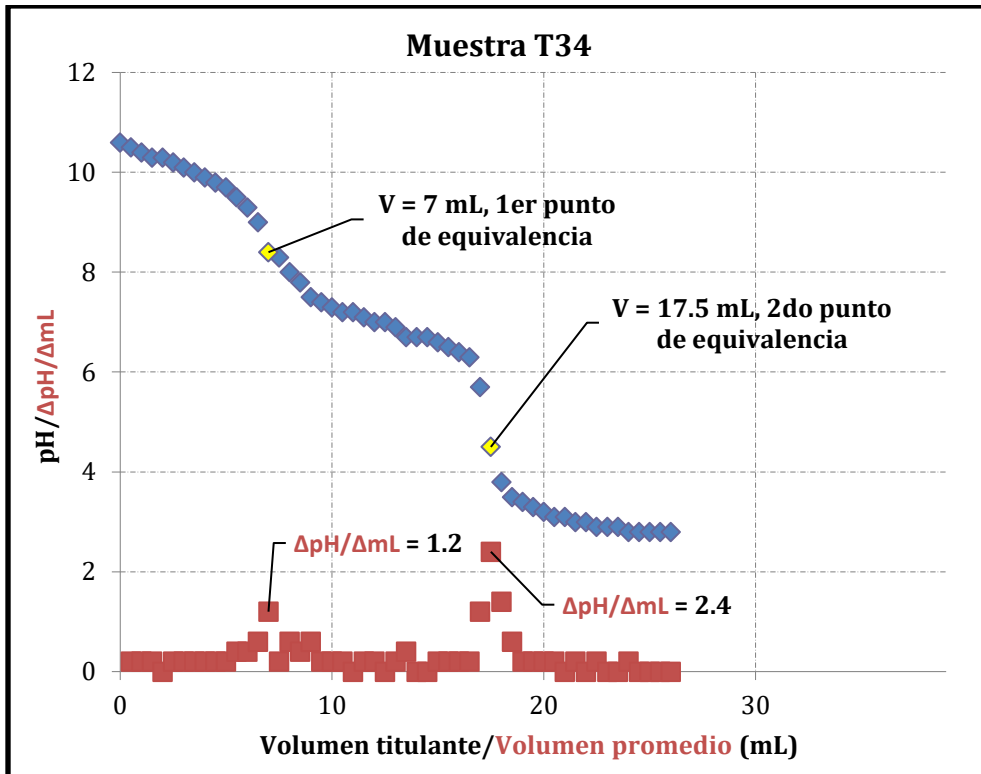


Imagen 53. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T34.

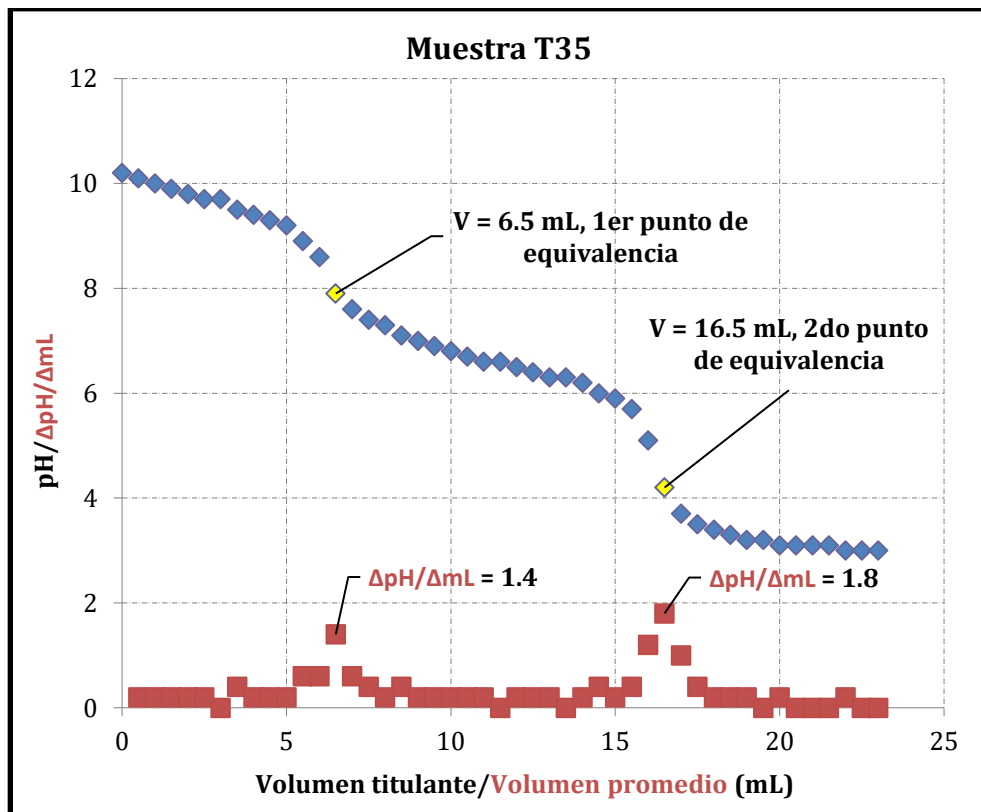


Imagen 54. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T35.

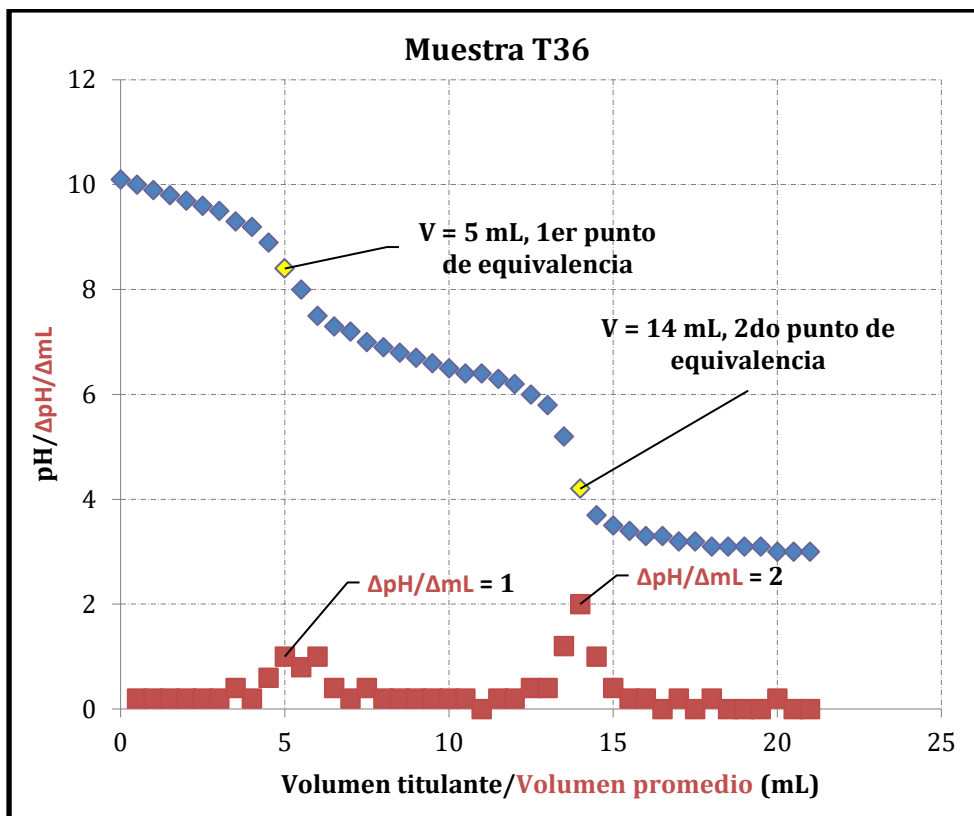


Imagen 55. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T36.

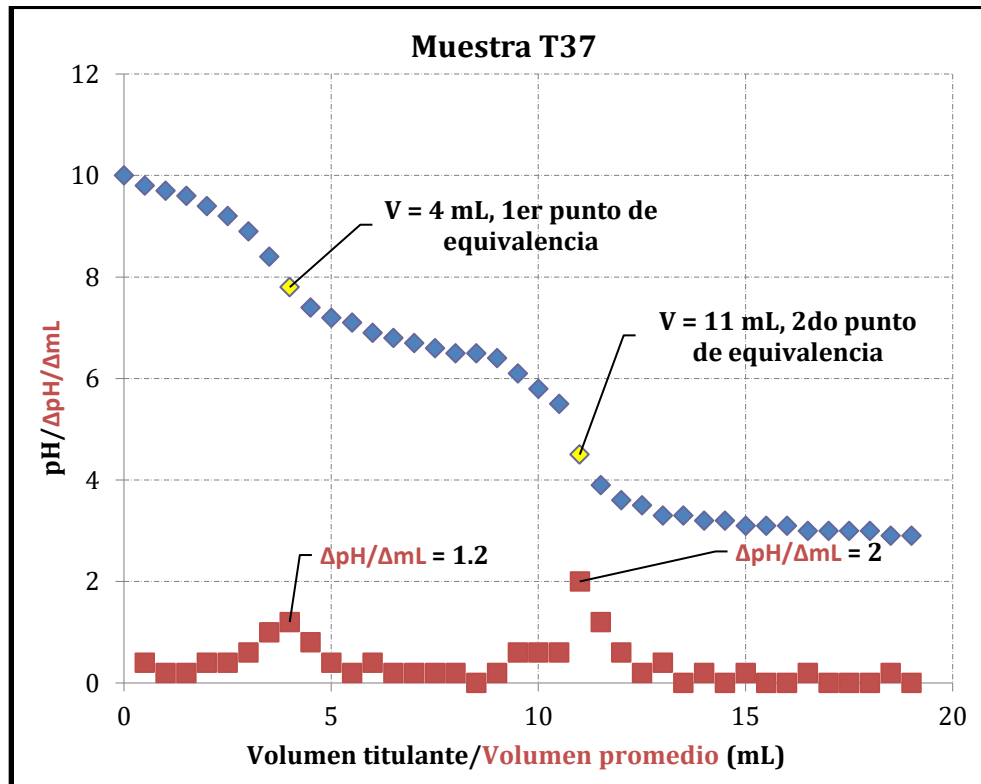


Imagen 56. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T37.

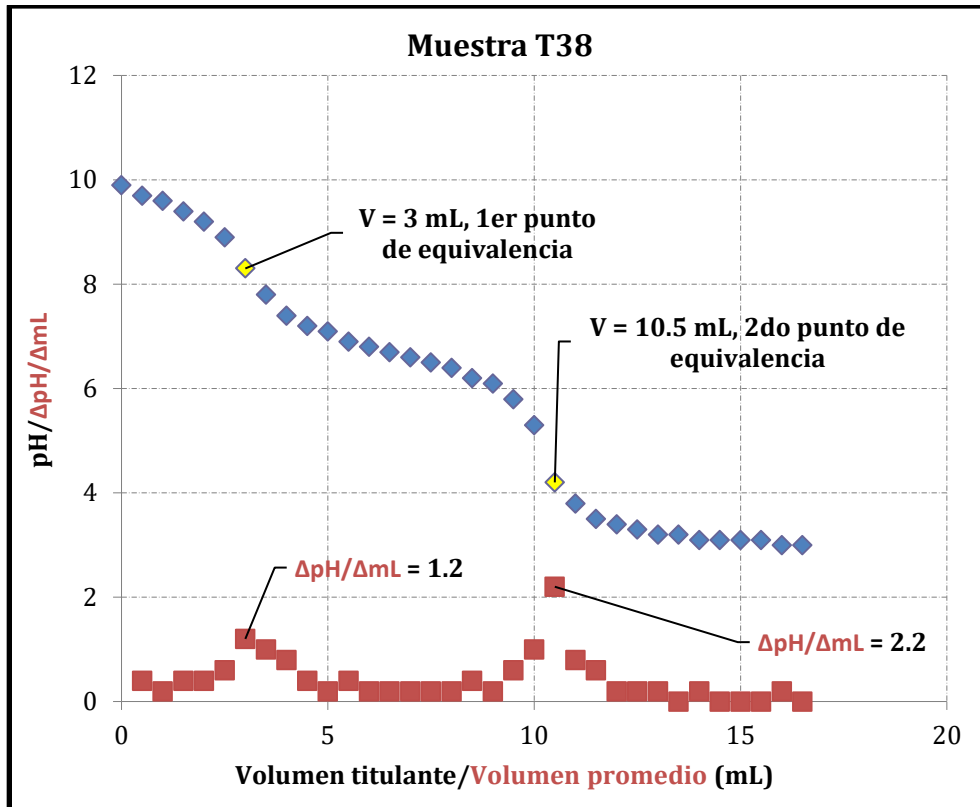


Imagen 57. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T38.

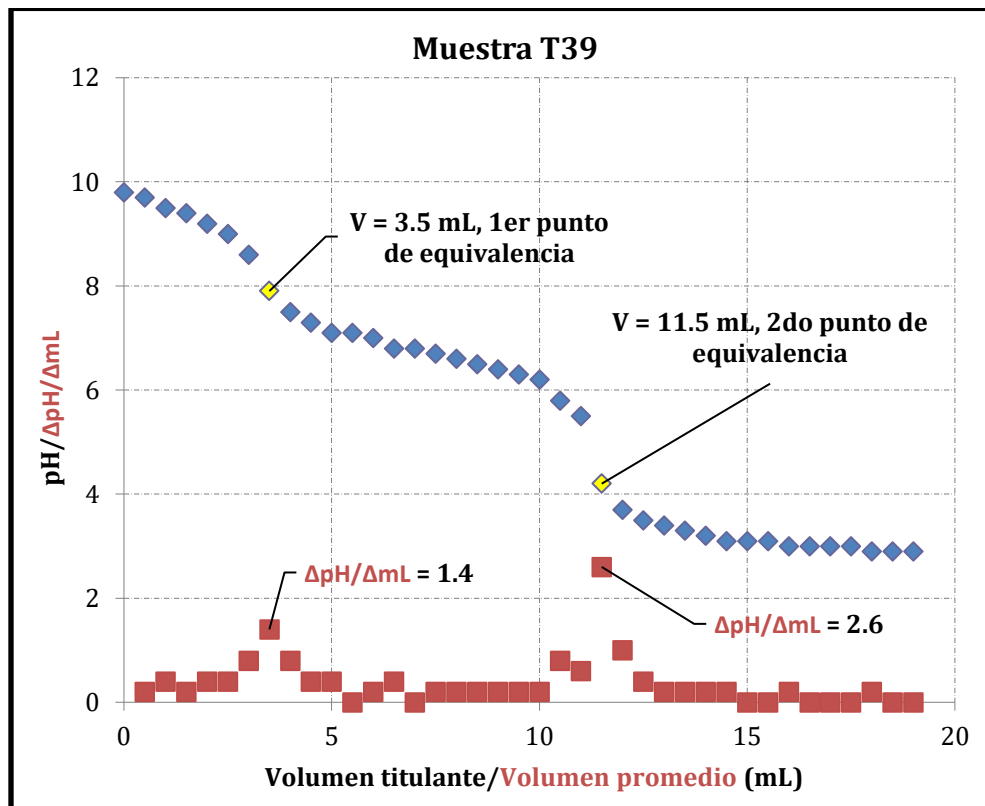


Imagen 58. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T39.

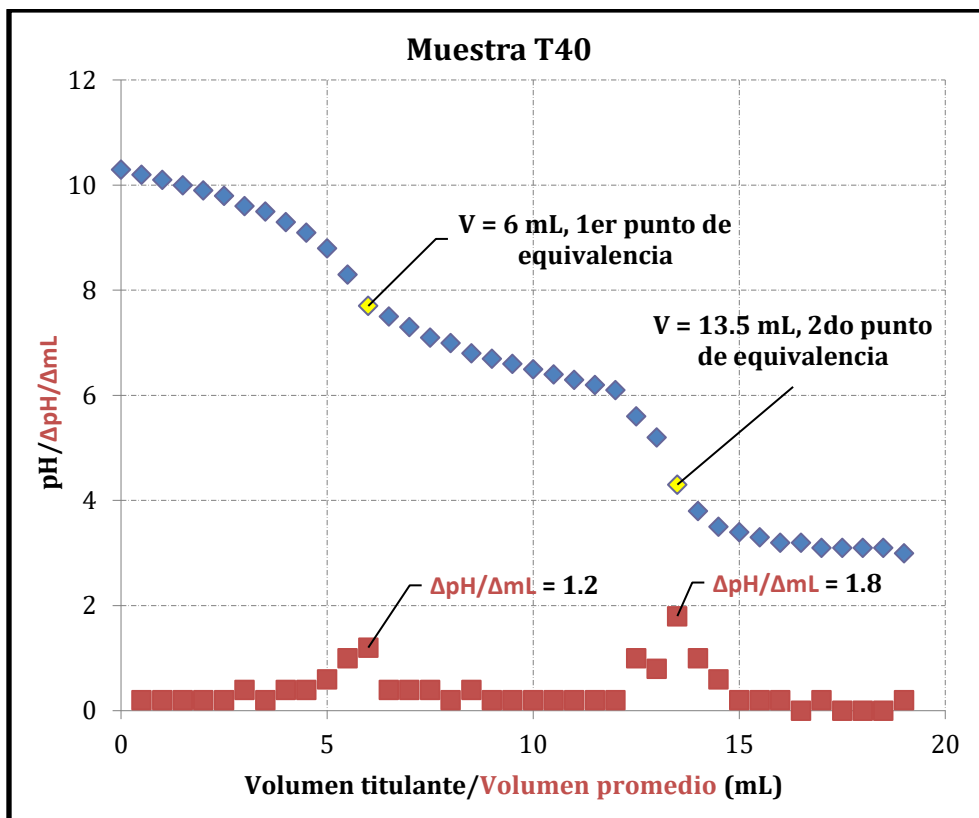


Imagen 59. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T40.

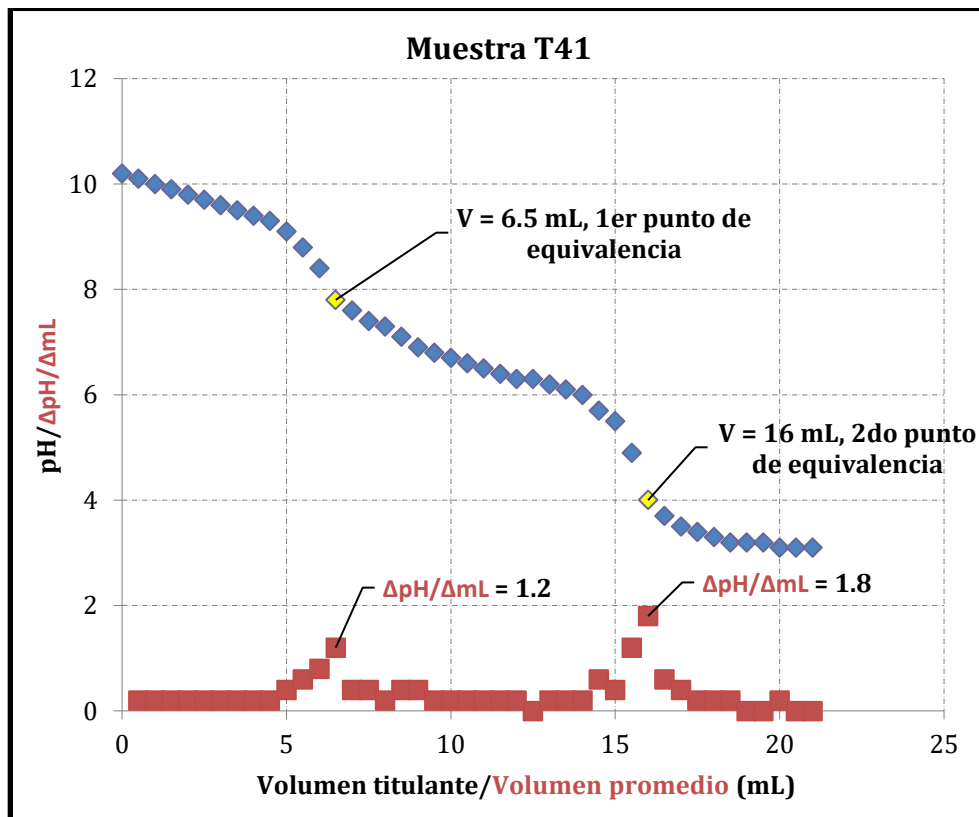


Imagen 60. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T41.

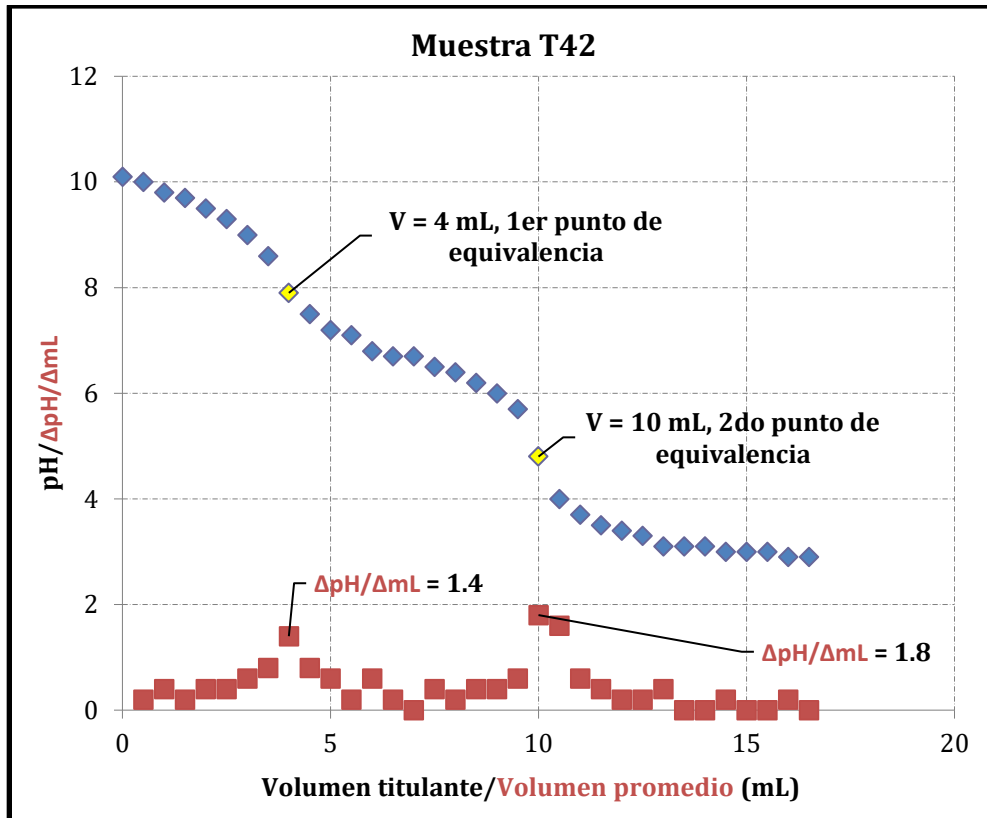


Imagen 61. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T42.

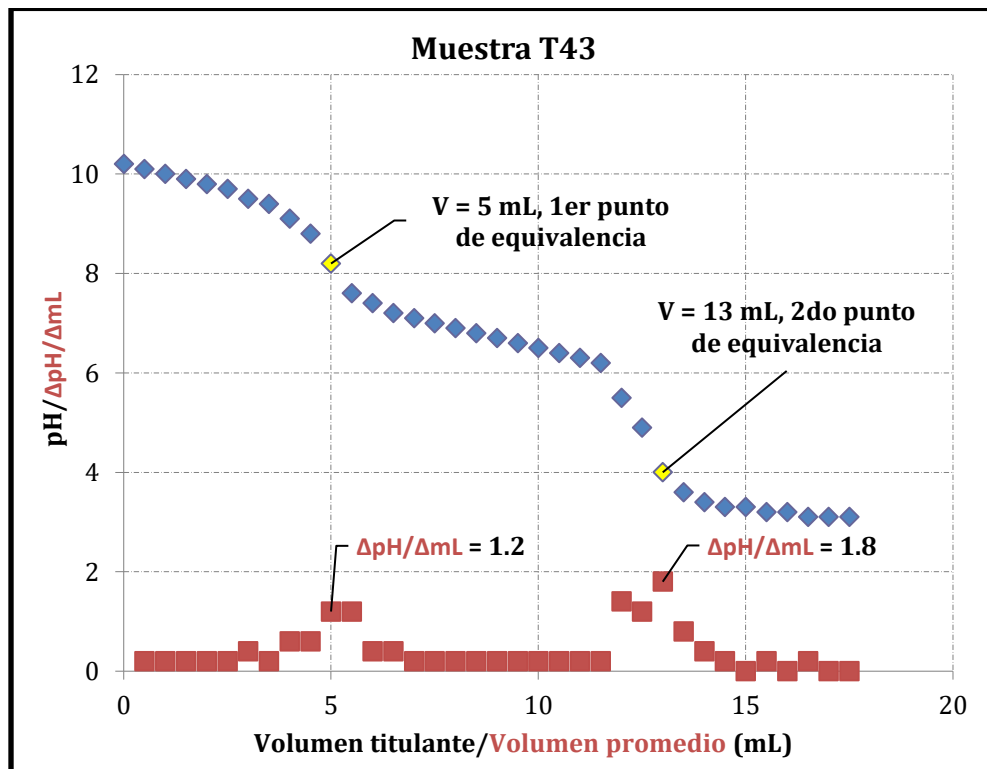


Imagen 62. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T43.

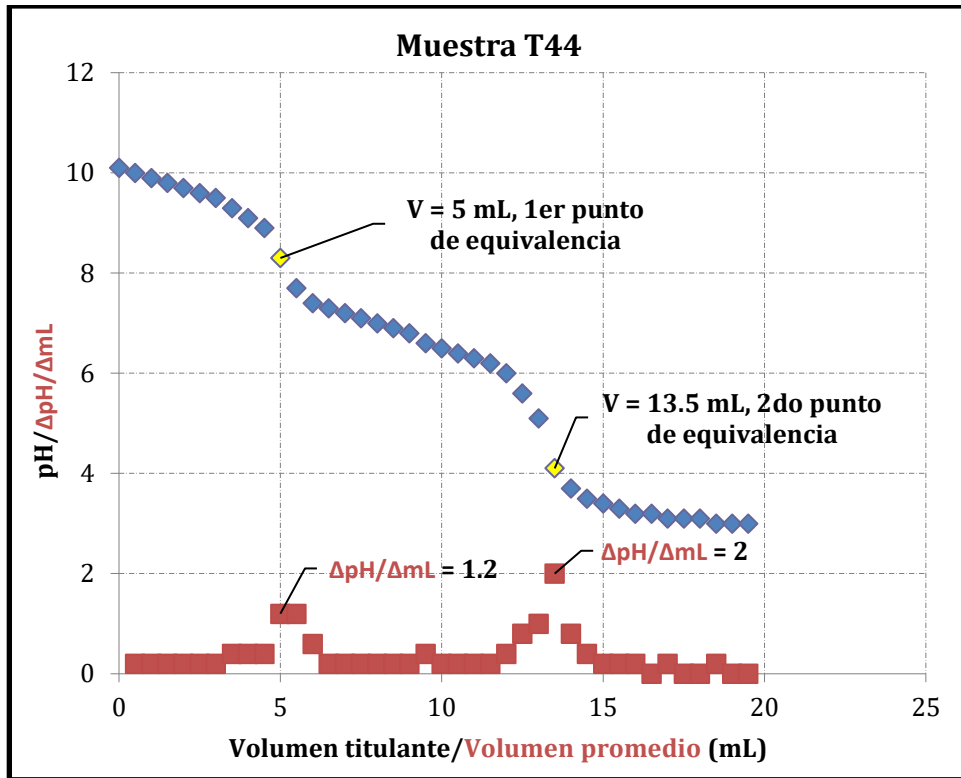


Imagen 63. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T44.

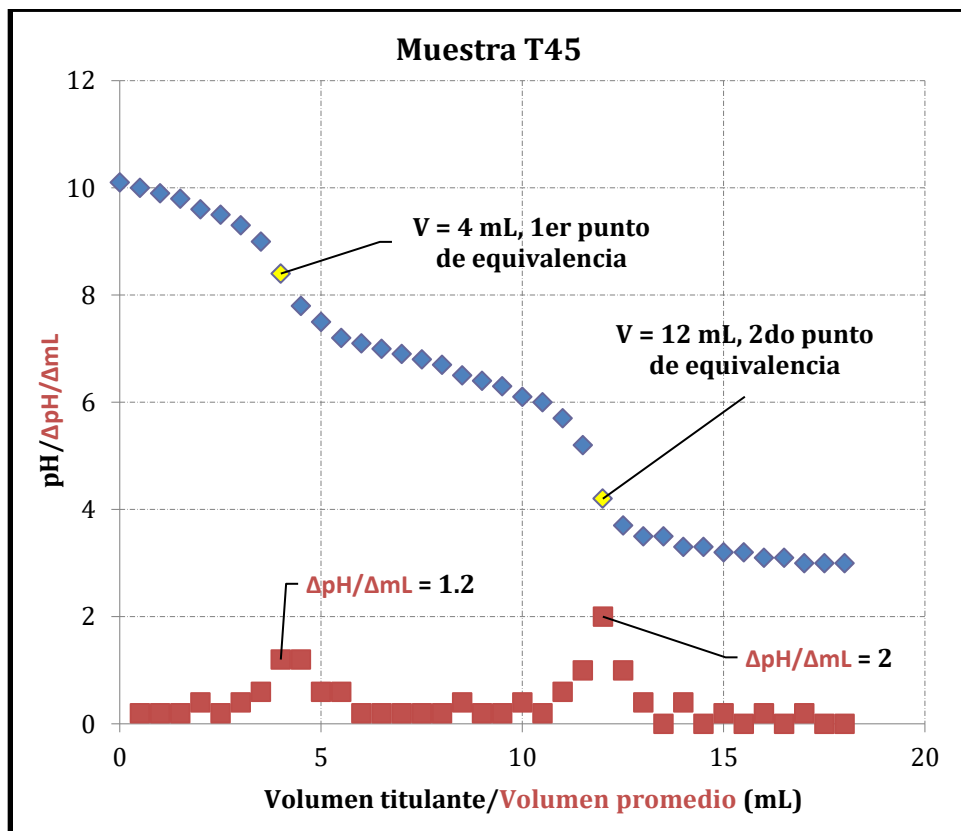


Imagen 64. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T45.

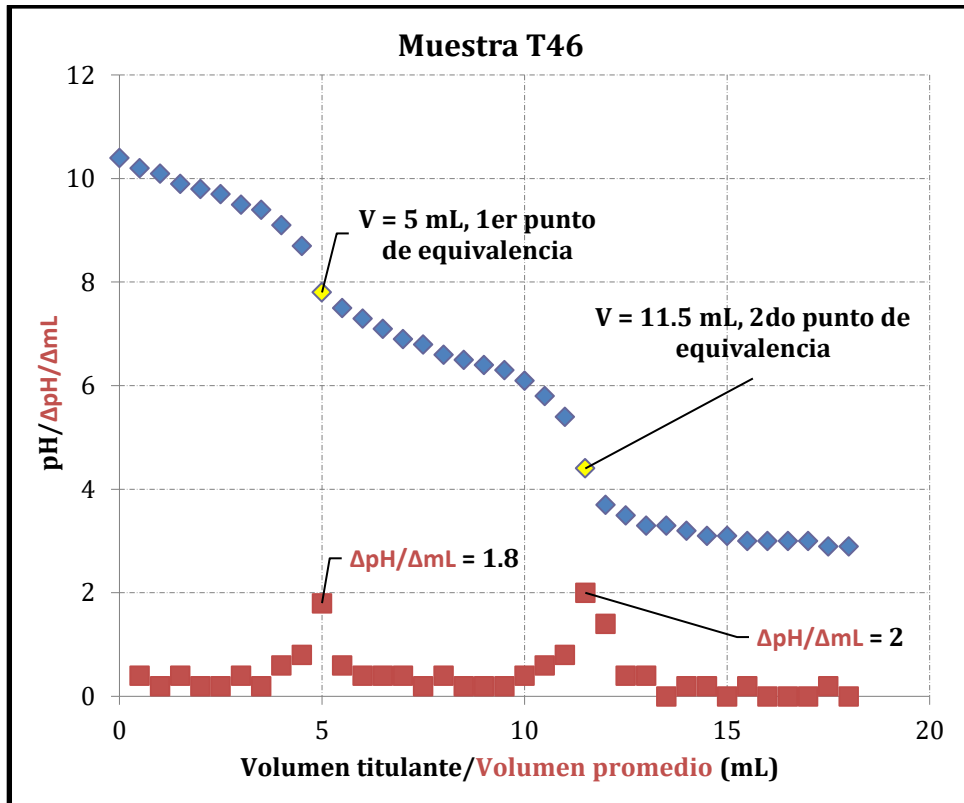


Imagen 65. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T46.

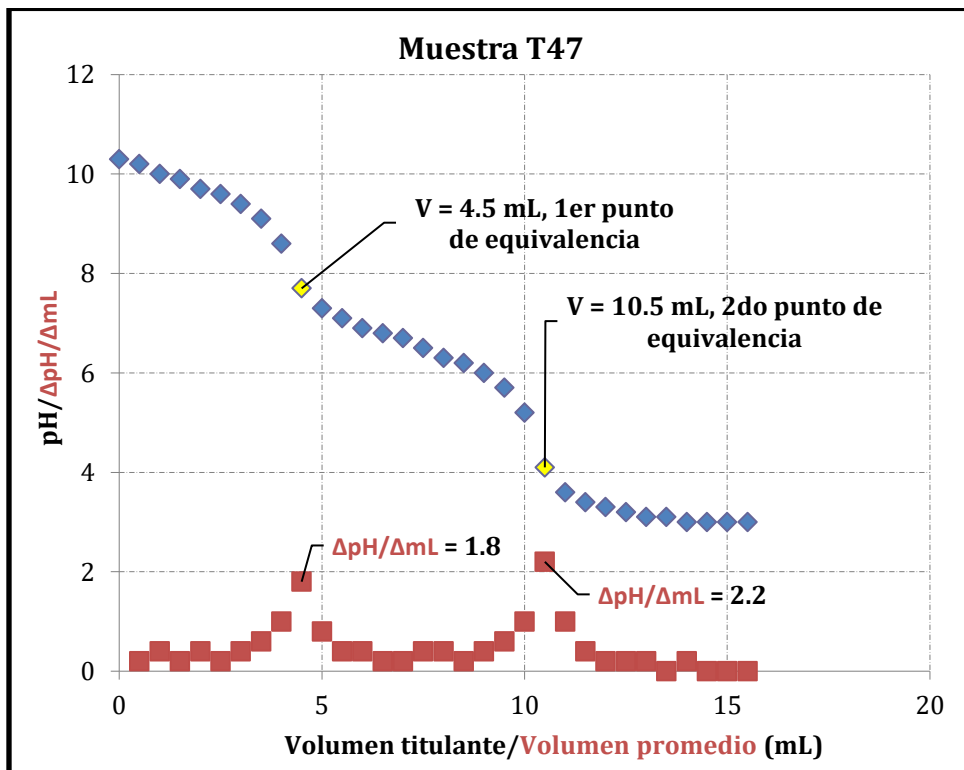


Imagen 66. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T47.



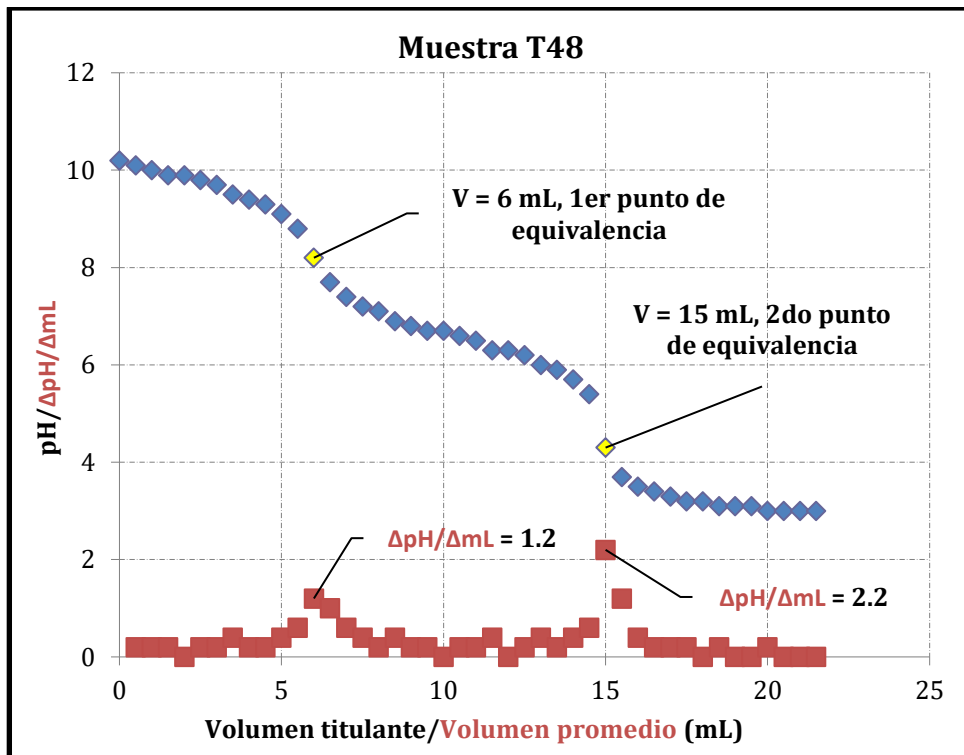


Imagen 67. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T48.

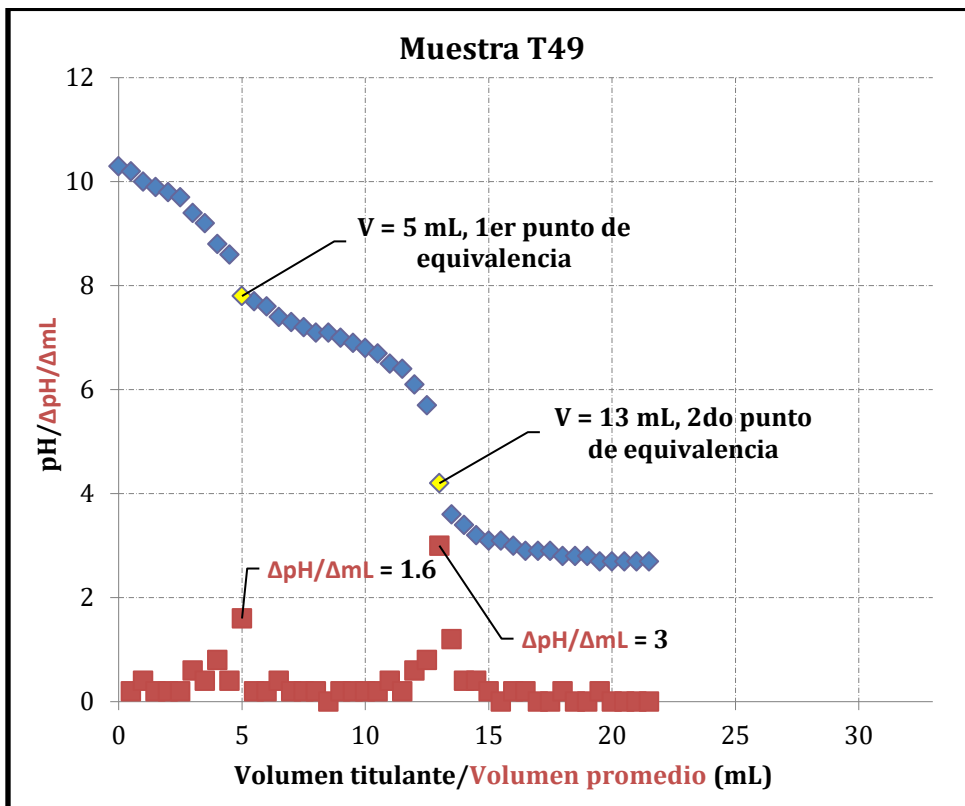


Imagen 68. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T49.

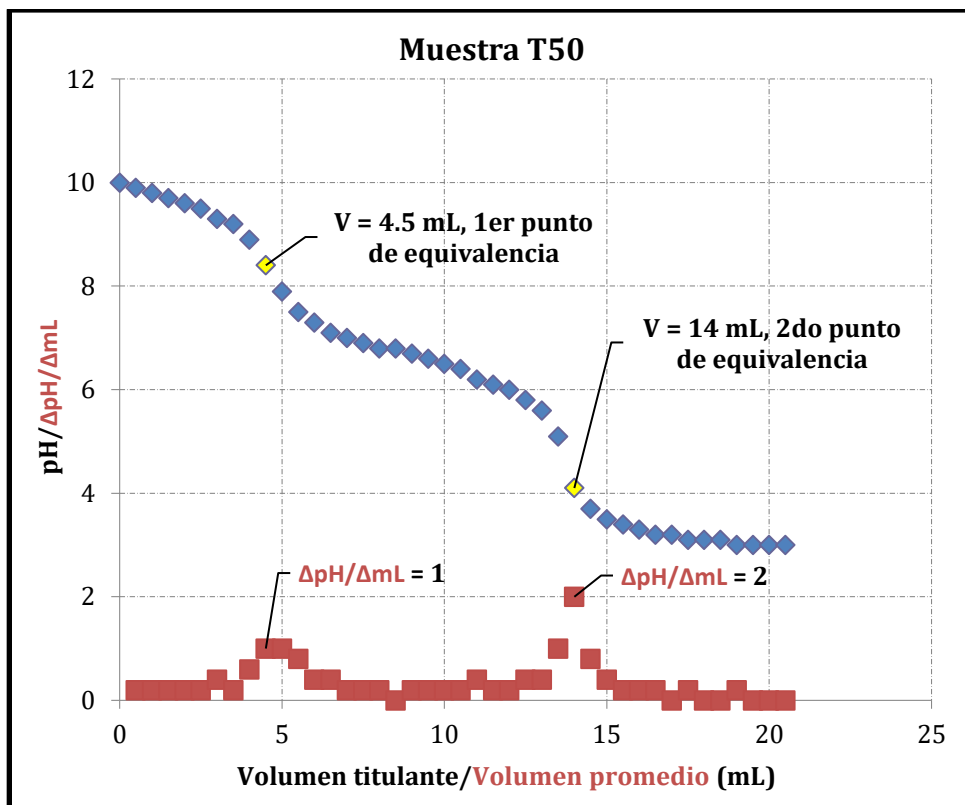


Imagen 69. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T50.

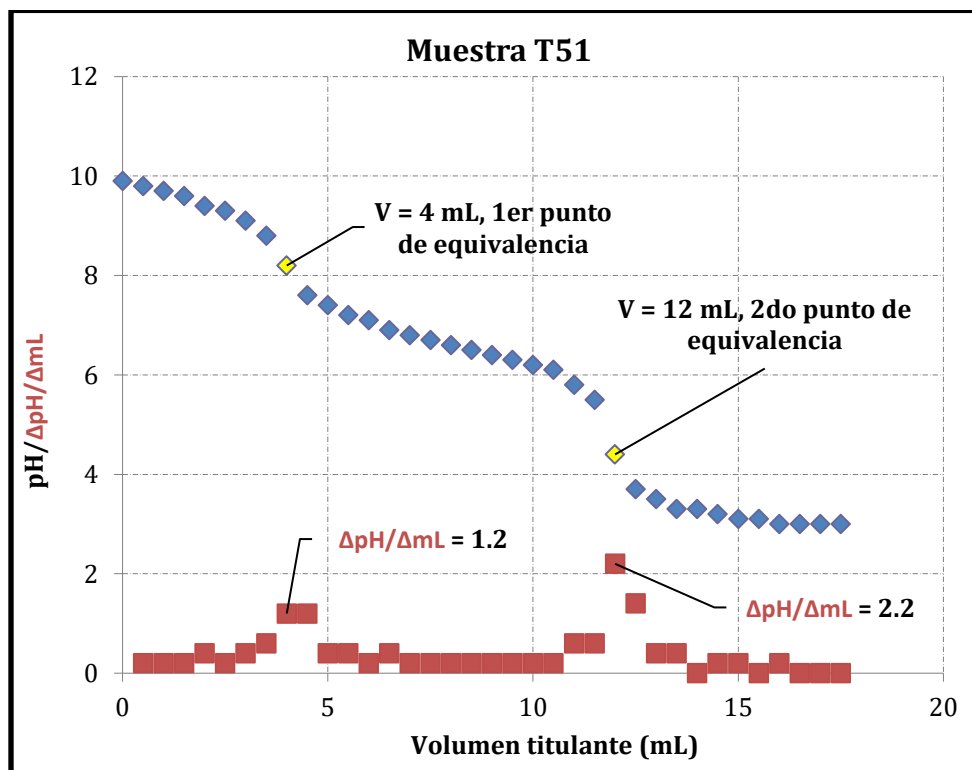


Imagen 70. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T51.

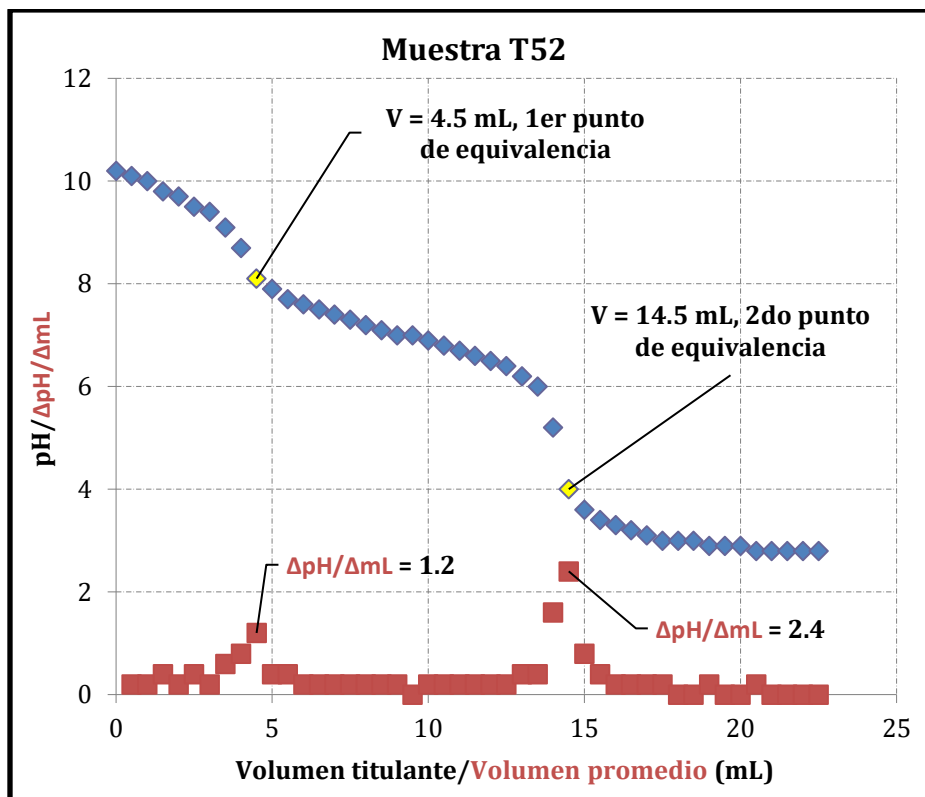


Imagen 71. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T52.

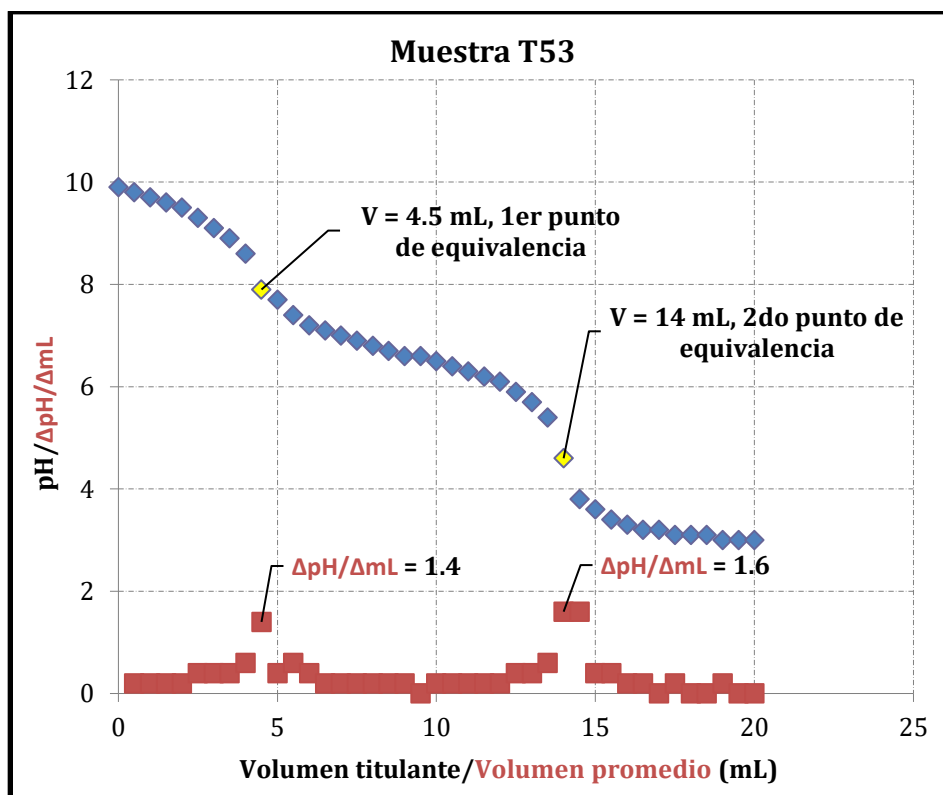


Imagen 72. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T53.

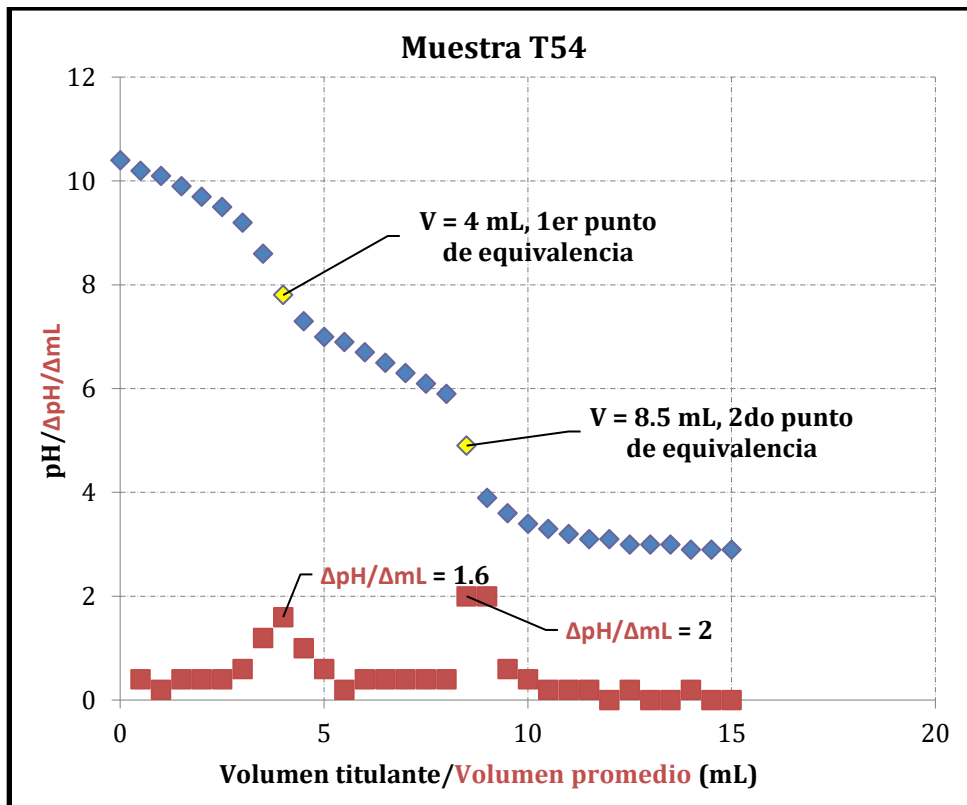


Imagen 73. Curva de valoración y gráfico de primera derivada de la muestra T54.

Anexo V. Gráficos de las curvas de calibración elaboradas para la evaluación del intervalo de linealidad.

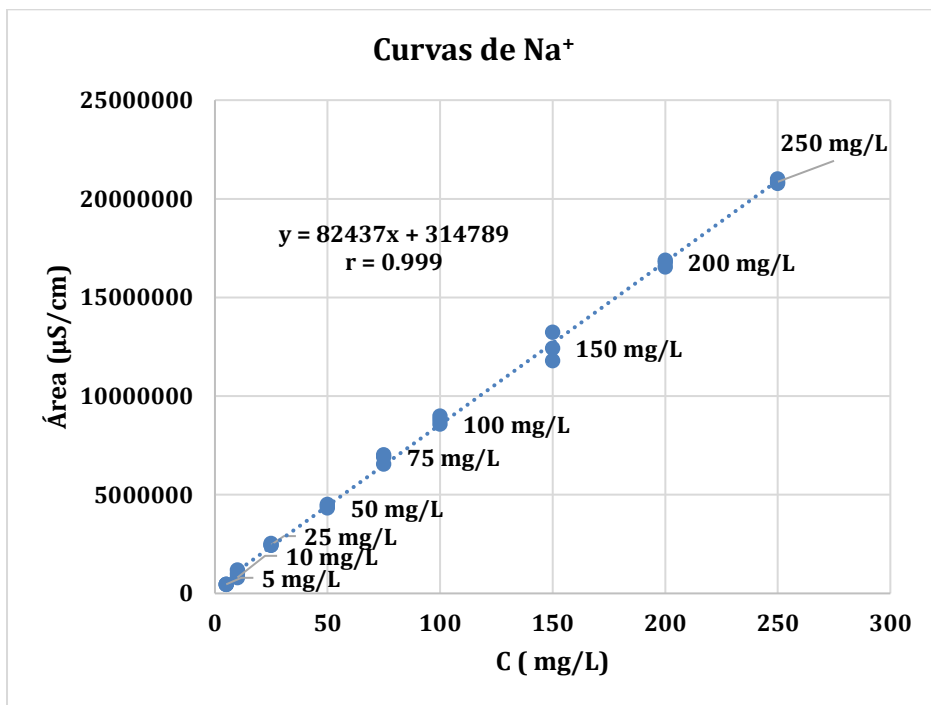


Imagen 74. Curvas de calibración de Na<sup>+</sup>.

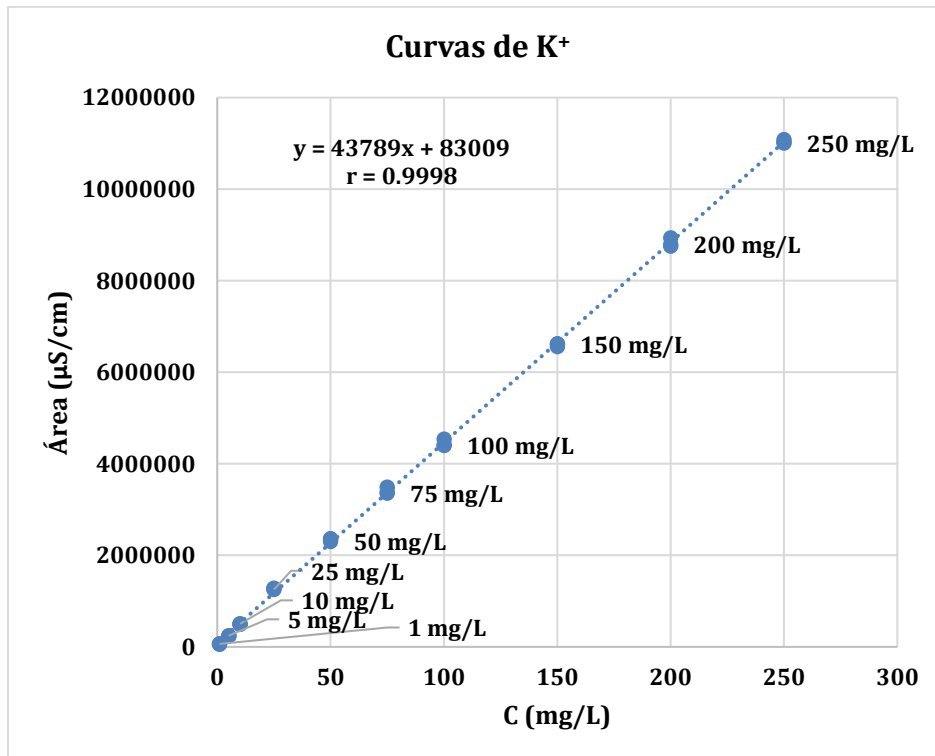


Imagen 75. Curvas de calibración de K<sup>+</sup>.

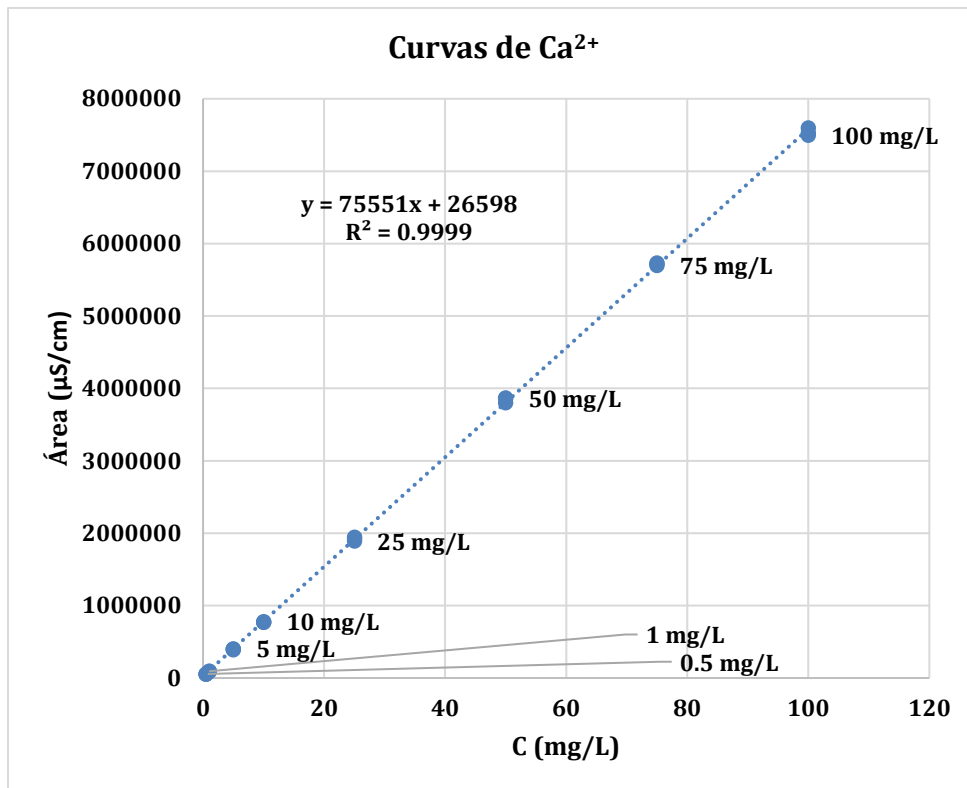


Imagen 76. Curvas de calibración de Ca<sup>2+</sup>.

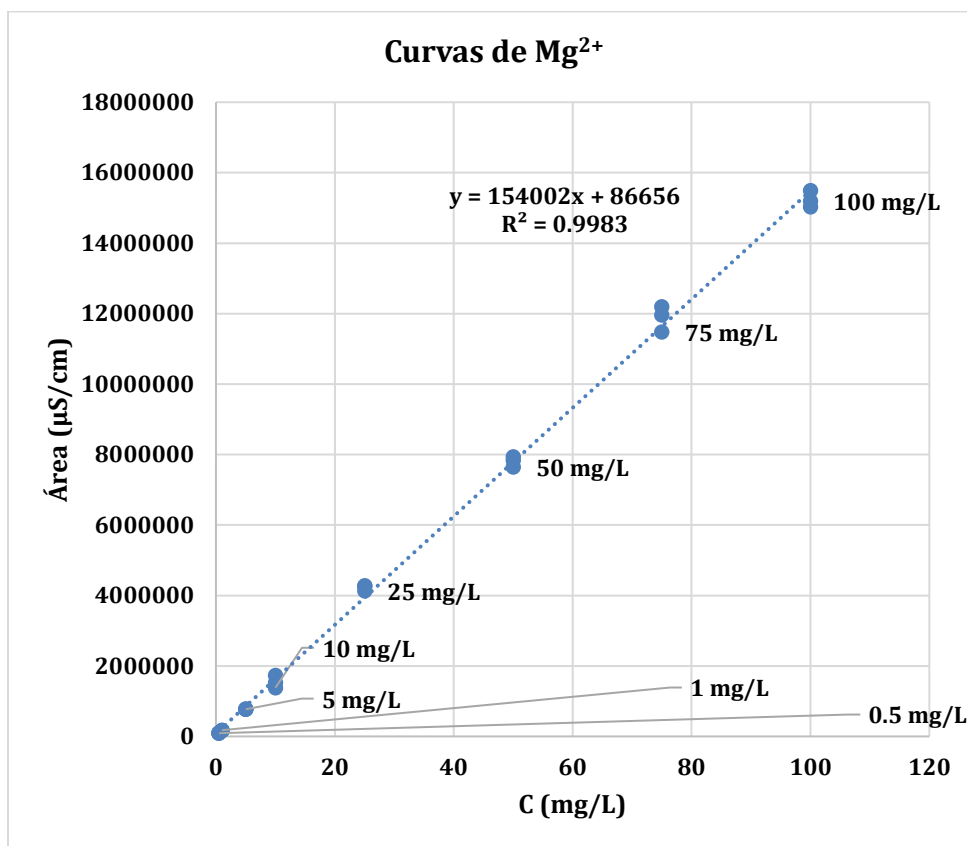


Imagen 77. Curvas de calibración de Mg<sup>2+</sup>.

Anexo VI. Curvas de calibración utilizadas en la evaluación de exactitud.

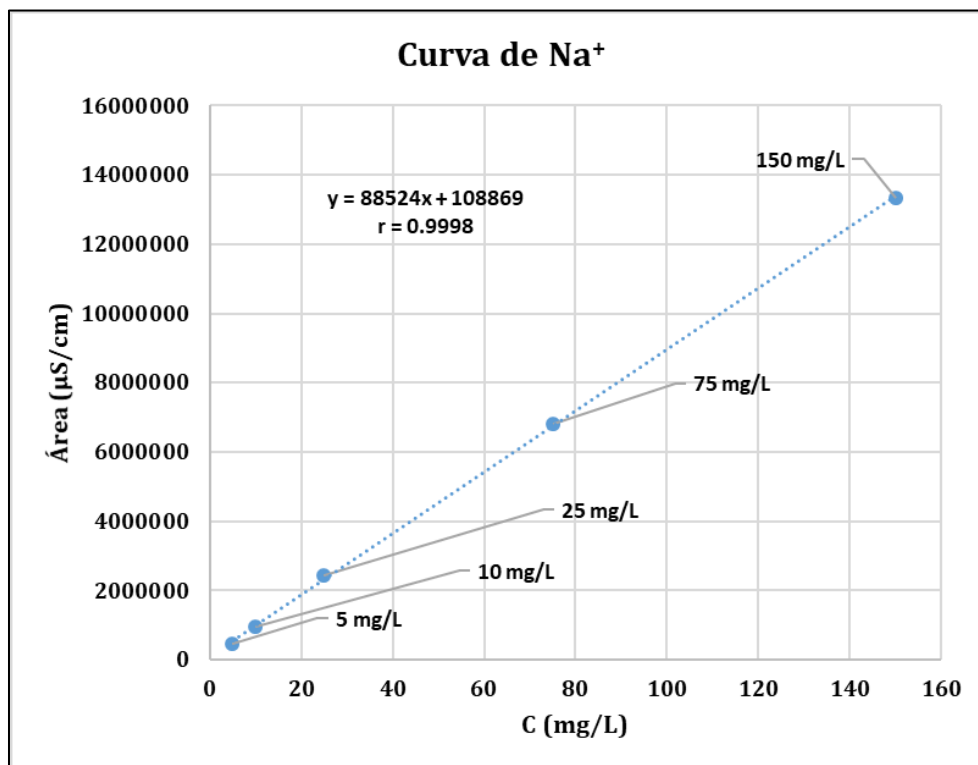


Imagen 78. Curva de calibración de Na<sup>+</sup> utilizada en la evaluación de exactitud.

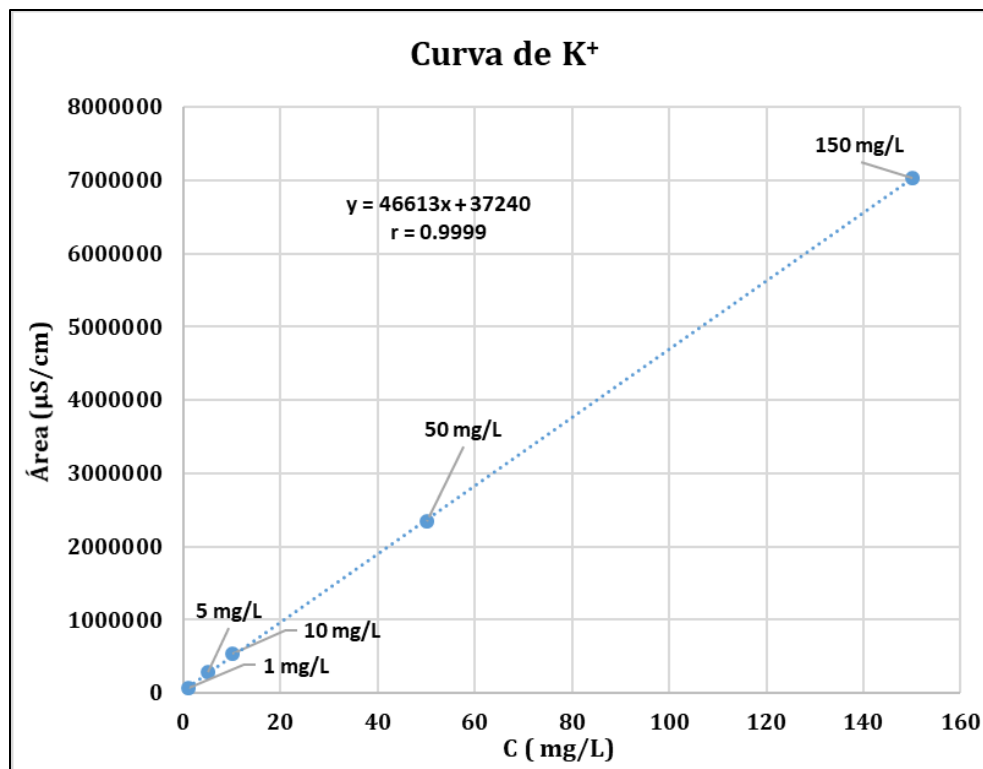


Imagen 79. Curva de calibración de K<sup>+</sup> utilizada en la evaluación de exactitud.

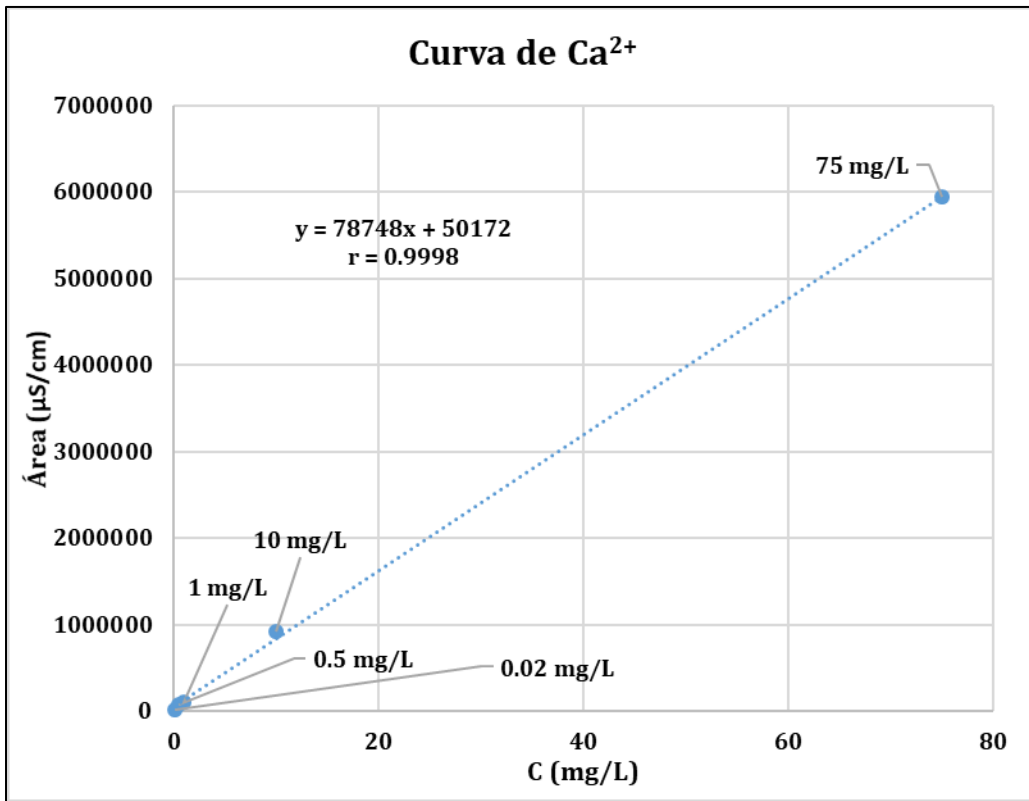


Imagen 80. Curva de calibración de Ca<sup>2+</sup> utilizada en la evaluación de exactitud.

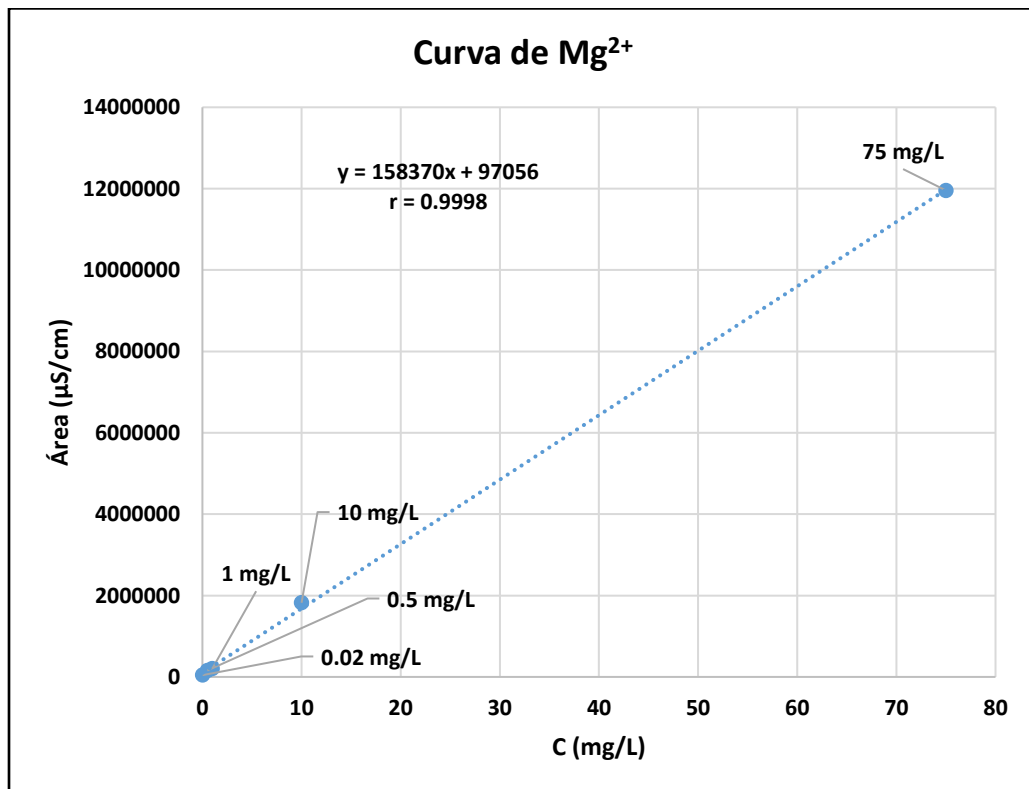


Imagen 81. Curva de calibración de Mg<sup>2+</sup> utilizada en la evaluación de exactitud.



**Anexo VII. Valores de área de los blancos de cada muestra.**

*Tabla 29. Valores de área de los blancos de 5 mg/L de cada muestra.*

Muestra	Área (µS/cm)			
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>
<b>T9</b>	10 128 148.5	425 788	17 694	23 909.5
<b>T54</b>	11 085 653.5	371 190.5	24 009	32 577.5
<b>T1</b>	12 008 511	513 907.5	9 041.5	9 450
<b>T11</b>	12 170 267	506 517.5	19 646	15 345
<b>T5</b>	11 811 575	477 001	14 320	13 717.5

*Tabla 30. Valores de área de los blancos de 50 mg/L de cada muestra.*

Muestra	Área (µS/cm)			
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>
<b>T9</b>	9 056 649	382 734	19 158	24 605
<b>T54</b>	10 135 883	348 245	57 844	100 470.5
<b>T1</b>	10 720 493	453 101	26 677	23 712.5
<b>T11</b>	10 500 654	434 404.5	15 853	15 894
<b>T5</b>	10 528 984	426 340	8 023	8 904

*Tabla 31. Valores de área de los blancos de 70 mg/L de cada muestra.*

Muestra	Área (µS/cm)			
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>
<b>T9</b>	8 058 909	340 613	20 033.1	19 288
<b>T54</b>	8 916 456	300 266	20 021	19 884
<b>T1</b>	9 810 239.5	415 107	13 997	8 243
<b>T11</b>	9 480 281.353	407 575	19 890	10 647
<b>T5</b>	9 418 546	383 521	11 339	14 082

*Tabla 32. Valores de área de los blancos de 100 mg/L de cada muestra.*

Muestra	Área (µS/cm)			
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>
<b>T9</b>	6 887 686.5	284 198	21 502	20 578
<b>T54</b>	7 503 135.5	251 481	24 607.64	122 139
<b>T1</b>	8 293 675	351 986	16 968.5	19 690
<b>T11</b>	7 851 080	322 083	15 129.5	11 976.6
<b>T5</b>	7 973 382	324 708.5	15 715	25 556

## Bibliografía

(1) Brady N.C., Weil R.R. (2017). The Nature and Properties of Soils. 15ta edición. Pearson. Boston. EUA. 1104 páginas.

(2) <https://www.soils.org/files/about-soils/soils-overview.pdf>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(3) [https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/edu/?cid=nrcs142p2\\_054308](https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/edu/?cid=nrcs142p2_054308)

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(4) <http://www.css.cornell.edu/courses/260/weathering.pdf>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(5) [https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/nj/home/?cid=nrcs141p2\\_018993](https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/nj/home/?cid=nrcs141p2_018993)

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(6) [ftp://ftp.fao.org/fi/cdrom/fao\\_training/fao\\_training/general/x6706s/x6706s07.htm](ftp://ftp.fao.org/fi/cdrom/fao_training/fao_training/general/x6706s/x6706s07.htm)

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(7) [https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/edu/?cid=nrcs142p2\\_054286](https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/edu/?cid=nrcs142p2_054286)

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(8) <http://www.fao.org/docrep/field/003/AC172E/AC172E04.htm>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(9) [http://ftp.fao.org/fi/cdrom/fao\\_training/fao\\_training/general/x6706s/x6706s08.htm](http://ftp.fao.org/fi/cdrom/fao_training/fao_training/general/x6706s/x6706s08.htm)

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(10) <http://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/soil-classification/usda-soil-taxonomy/en/#c178254>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(11) <http://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/soil-classification/fao-legend/en/#c201113>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(12) <http://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/soil-classification/world-reference-base/en/>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(13) <https://es.scribd.com/document/279280467/34c-Suelos-y-edafizacion-pdf>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(14) <http://eusoils.jrc.ec.europa.eu/Library/Maps/Circumpolar/Download/123.pdf>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(15) [http://www.ujaen.es/huesped/pidoceps/telav/fundespec/materia\\_organica.htm](http://www.ujaen.es/huesped/pidoceps/telav/fundespec/materia_organica.htm)

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(16) <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.226.4056&rep=rep1&type=pdf>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(17) <https://www.qld.gov.au/environment/land/soil/soil-properties/ph-levels>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(18) Carter M.R., Gregory E.G. (2008). Soil Sampling and Methods of Analysis. 2da edición. CRC Press. USA. 1262 páginas.

(19) Robertson G.P. (1999). Standard Soil Methods for Long-term Ecological Research. Oxford University Press. 480 páginas.

(20) Metson A.J. (1956). Methods of chemical analysis for soil survey samples. New Zealand Department of Scientific Industrial Research. 207 páginas.

(21) Ciesielski H., Sterckeman T., Santerne M., Willery Jp. (1997). A comparison between three methods for the determination of cation exchange capacity and exchangeable cations in soils. Agronomie EDP Sciences 17 (1), 9-16.

(22) <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/9080.pdf>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(23) <https://s3.amazonaws.com/udextension/lawngarden/files/2012/10/CHAP9.pdf>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(24) Ciesielski H., Sterckeman T., Santerne M., Willery Jp. (1997). Determination of cation exchange capacity and exchangeable cations in soils by means of cobalt hexamine trichloride. Effects of experimental conditions. Agronomie EDP Sciences 17 (1), 1-7.

(25) Morel R. (1957). Etude expérimentale des phénomènes d'échange sur différents minéraux argileux. Ann. Agron., 8, 5-90.

(26) <https://enviroliteracy.org/land-use/soil/soil-ecosystems/>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(27) [http://media.iupac.org/publications/analytical\\_compendium/TOC\\_cha9.html](http://media.iupac.org/publications/analytical_compendium/TOC_cha9.html)

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(28)<http://media.rsc.org/Modern%20chemical%20techniques/MCT5%20Chromatography.pdf>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(29) Skoog D.A., Holler F.J., Crouch S.R. (2008). Principios de Análisis Instrumental. 6ta edición. CENGAGE Learning. 1064 páginas.

(30)<http://www.chromatography-online.org/ion-chromatography/Detectors-for-Ion-Exchange-Chromatography/The-Electrical-Conductivity-Detector.php>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(31)[https://partners.metrohm.com/GetDocument?action=get\\_dms\\_document&docid=880907](https://partners.metrohm.com/GetDocument?action=get_dms_document&docid=880907)

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(32)[https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV\\_guide\\_2nd\\_ed\\_ES.pdf](https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf)

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(33) [http://www.cem.es/cem/metrologia/glosario\\_de\\_terminos?page=6](http://www.cem.es/cem/metrologia/glosario_de_terminos?page=6)

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(34)<http://www.cofepris.gob.mx/TyS/Documents/TercerosAutorizados/cvfaq032011.pdf>

Última fecha de consulta: 09/10/2019

(35) ISRIC (2002). Procedures for soil analysis. International Soil Reference and Information Centre, Food and Agriculture Organisation of the United Nations. Technical Paper. Wageningen, The Netherlands, 120 páginas.

(36) Chávez E. (2019). Rehabilitación de suelos salino-sódicos para el establecimiento de una cobertura vegetal en el ex lago de Texcoco. Tesis de Doctorado. UNAM. CDMX, México, 93 páginas.

(37) Galindo V.B. (2016). Desarrollo y validación de una metodología para la determinación simultánea de los iones  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{M}^{2+}$  por medio de cromatografía de iones con detección conductimétrica en muestras ambientales. Tesis de Licenciatura. UNAM. CDMX, México, 79 páginas.

(38) Ramírez I.I. (2018). Desarrollo y validación de una metodología para la determinación simultánea de aniones mayoritarios por medio de cromatografía de iones con detección conductimétrica en muestras ambientales. Tesis de Licenciatura. UNAM. CDMX, México, 98 páginas.

(39) Freeze R.A, Cherry J.A. (1979). Groundwater. 1era edición. Prentice Hall, EUA, 606 páginas.

(40) Miller J.N, Miller J.C. (2002). Estadística y Quimiometría para Química Analítica. 4ta edición. Prentice Hall, España, 278 páginas.

(41) Taverniers I., De Loose M., Van Bockstaele E. (2004). Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. TrAC. 23 (8), 535-552. DOI: 10.1016/j.trac.2004.04.00.

(42) Sastre M., Santaballa J.A. (1989). A Note on the Meaning of the Electroneutrality Condition for Solutions. J. Chem. Educ. 66 (5), 403-404. DOI: <https://doi.org/10.1021/ed066p403>.