

# DETERMINACIÓN DE ANIONES INORGÁNICOS EN AGUAS NATURALES Y POTABLES MEDIANTE ELECTROFORESIS CAPILAR ZONAL CON DETECCIÓN FOTOMÉTRICA INDIRECTA

## FUNDAMENTOS

### Movilidad electroforética

$$\vec{v}_{ef} = \mu_{ef} \vec{E}$$

$$E = \frac{\phi_2 - \phi_1}{L}$$

velocidad electroforética

donde  $\mu_{ef}$  es el escalar movilidad electroforética entre el vector velocidad electroforética de un ion y el campo eléctrico,  $E$ , al que se le somete. Éste se produce al aplicar una diferencia de potencial,  $\phi_2 - \phi_1$ , entre los puntos separados una distancia  $L$ .

$$\mu_{o,ion} = \frac{z_{ion} \cdot e_o}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot R_{Stokes,ion}}$$

movilidad electroforética a dilución infinita

donde  $z_{ion}$  es el número de carga del ion considerado;  $e_o$  es la carga del protón,  $\eta$  es la viscosidad del medio y  $R_{Stokes,ion}$  es el radio de Stokes que corresponde al radio de una esfera compacta que difunde a la misma velocidad que el ion o molécula solvatada. Es significativamente diferente al radio efectivo del ion o molécula solvatada en la disolución, ya que el comportamiento en la difusión le influye la solvatación y efectos de forma. Debido a que la mayoría de los iones o moléculas no son perfectamente esféricas, el radio de Stokes, o radio hidrodinámico, es menor que el radio efectivo.

El vector campo eléctrico se orienta en el sentido de la disminución del potencial, es decir hacia el electrodo negativo, luego si estamos ante un catión (número de carga positivo) el valor de su movilidad electroforética será positivo y su vector velocidad tendrá el mismo signo (sentido) que el vector campo eléctrico  $E$ , es decir hacia el electrodo negativo. Y viceversa para un anión.

La presencia de una nube de contraiones rodeando al ion considerado reduce su movilidad absoluta,  $\mu_{o,ion}$ , y esta disminución es proporcional a la raíz cuadrada de la fuerza iónica,  $I$ , siguiendo el modelo de Debye-Hückel-Onsager (DHO)<sup>i</sup>, o bien otros modelos más completos para fuerzas iónicas más altas, como el de Falkenhagen *et al.*<sup>ii</sup> y Pitts<sup>iii</sup> (FP).

$$\mu_{act,ion} = \mu_{o,ion} - (A \cdot \mu_{o,ion} + B) \cdot \sqrt{I}$$

movilidad electroforética real considerando teoría DHO

$$\mu_{act,ion} = \mu_{o,ion} - (A \cdot \mu_{o,ion} + B) \cdot \frac{\sqrt{I}}{1 + D \cdot a \cdot \sqrt{I}}$$

$$A \equiv 2.8023 \cdot 10^6 \cdot \frac{0.5}{(1 + \sqrt{0.5}) \cdot (\epsilon \cdot T)^{3/2}}$$

$$B \equiv 4.2746 \cdot 10^{-9} \cdot \frac{1}{\eta \cdot (\epsilon \cdot T)^{1/2}}$$

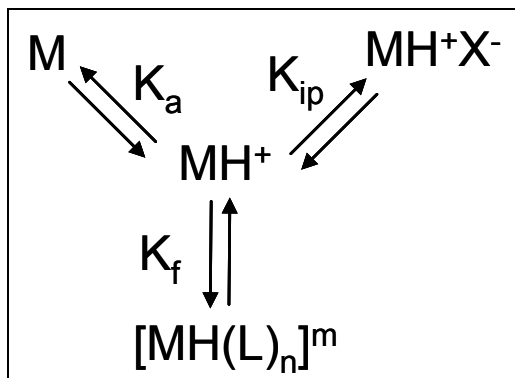
$$D \equiv 5.029 \cdot 10^9 \cdot \frac{1}{(\epsilon \cdot T)^{1/2}}$$

movilidad electroforética real según FP (ion monovalente)

$\epsilon$  y  $\eta$  son la constante dieléctrica relativa y la viscosidad del medio, respectivamente;  $T$  es la temperatura en la escala de grados absolutos y las unidades de todos los parámetros vienen expresadas en el sistema internacional, salvo la fuerza iónica,  $I$ , que está en la escala de

molaridad. El modelo más completo de FP tiene en cuenta el radio finito del ion monovalente y de su contraion, donde  $a$  es la distancia de máxima aproximación entre el catión y su contraion. Se puede calcular como la suma del radio de ambos,  $a = R_{Stokes, ion^+} + R_{Stokes, contra-ion^-}$

La presencia de equilibrios del ion considerado (ácido-base, complejación, asociaciones iónicas, etc) modifica esta movilidad electroforética real.



Algunos de los posibles equilibrios experimentados para el caso de una especie catiónica ( $MH^+$ ) en el medio de separación electroforético.

También pueden producirse equilibrios de homo- y/o heteroconjugación<sup>iv</sup> que modifiquen dicha movilidad electroforética real en separaciones electroforéticas con disolventes no acuosos tales como acetonitrilo o metanol. En general se puede escribir que la movilidad electroforética observada resulta de un valor medio de las movilidades electroforéticas reales de cada una de las formas químicas en las que se presente el compuesto A considerado

$$\mu_{ef A} = \sum_i \alpha_{A,i} \mu_{act,A,i}$$

$$\alpha_{A,i} \equiv \frac{n_{A,i}}{\sum_i n_{A,i}} = \frac{C_{A,i}}{\sum_i C_{A,i}}$$

movilidad electroforética observada

donde  $\alpha_{A,i}$  es el coeficiente de distribución: una relación entre los moles o concentración de la forma química  $i$ -ésima respecto al total de moles de la especie A. Si alguna forma química  $A_i$  es neutra, su movilidad real  $\mu_{act,A,i}$  será nula y no contribuirá en nada al valor observado global de movilidad electroforética  $\mu_{ef A}$ .

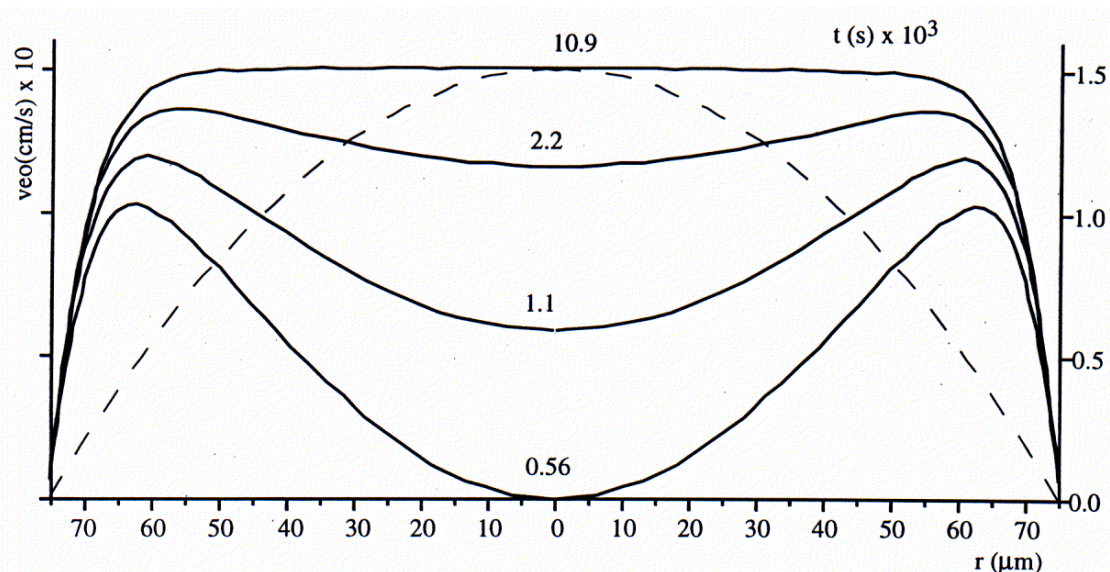
### Movilidad electroosmótica

La mayoría de las superficies se encuentran con carga eléctrica. De ahí que la química se pueda considerar como un caso particular de la más general electro-química. La superficie interna de un capilar de vidrio no es una excepción y los grupos silanol (Si-OH) terminales del vidrio se encuentran, por encima de pH 2-4, desprotonados (Si-O<sup>-</sup>) presentando toda una superficie con carga negativa en contacto con el medio de separación interno. Esta superficie interna cargada redistribuye los iones presentes en la disolución, repeliendo en parte a los aniones y atrayendo cationes en esta zona de la disolución próxima a la pared interna del capilar.

De esta forma, existen láminas de disolución próximas a la pared interna con una densidad neta de carga positiva en lugar de nula. Este efecto de la pared desaparece en cuanto nos alejamos un poco de ella (décimas de nanómetro) y fuera de esta zona las láminas de disolución presentan ya una densidad de carga neta nula, como cabe esperar para una disolución.

En esta situación, si se aplica una diferencia de potencial en los extremos del capilar, estas láminas de disolución con carga neta positiva se mueven hacia el electrodo negativo. En este movimiento, por efecto de la viscosidad, van arrastrando a las capas internas de carga neta nula. Al cabo de unas décimas de milisegundo, contados a partir del momento en el que se aplica la diferencia de potencial entre los extremos del capilar, se llega a una situación estacionaria en la que todas las láminas de la disolución se mueven a una misma velocidad

(velocidad electroosmótica) lo que genera un flujo de la disolución interna del capilar hacia el electrodo negativo.



Perfiles de velocidad electroosmótica desde  $t=0$  contado en el momento en el que se aplica la diferencia de potencial entre los extremos del capilar dispuesto en la figura verticalmente (20 kV). Medio interno: agua a 25°C conteniendo un único electrolito monovalente de concentración 0.1 mol/L, en un capilar de 150  $\mu\text{m}$  de diámetro interno con un potencial zeta típico de 50mV y al que se le somete a un campo eléctrico de 386 V/cm en dirección vertical y sentido positivo en vertical. En discontinuo aparece el perfil parabólico en régimen estacionario al empujar el mismo fluido para alcanzar la misma velocidad de régimen.

La velocidad electroosmótica del fluido interno del capilar en régimen estacionario depende del potencial de la disolución en contacto con la pared del capilar (potencial zeta,  $\Psi_o$ ), de su viscosidad y de la constante dieléctrica del medio

$$\vec{v}_{eo} = \mu_{eo} \vec{E}$$

$$\mu_{eo} = \frac{\epsilon_o \epsilon \Psi_o}{\eta}$$

velocidad electroosmótica

donde  $\mu_{eo}$  es el escalar movilidad electroosmótica entre el vector velocidad electroosmótica de la disolución interna del capilar y el campo eléctrico,  $E$ , al que se le somete. Éste se produce al aplicar una diferencia de potencial,  $\phi_2 - \phi_1$ , entre los puntos separados una distancia  $L$ .  $\Psi_o$  es el potencial zeta de la disolución interna del capilar;  $\epsilon_o$  es la constante dieléctrica en el vacío;  $\epsilon$  y  $\eta$  son la constante dieléctrica relativa y la viscosidad del medio, respectivamente.

La movilidad global de los analitos, por tanto, es la resultante de la suma de ambas movilidades, la electroosmótica del conjunto del medio de separación más la electroforética propia de cada analito. Como, en la mayoría de los casos, la magnitud de la movilidad electroosmótica es bastante superior a la movilidad electroforética de los analitos, todas las especies inyectadas suelen salir por el extremo donde se aplica el potencial negativo arrastrados por el flujo electroosmótico de la disolución. Eso sí, en primer lugar aparecerán por el detector acoplado (UV o MS) las especies catiónicas, después el conjunto de las especies neutras sin separar (sólo poseen movilidad electroosmótica, la cual es la misma para el conjunto de la disolución), y, por último las especies aniónicas.

La existencia de este flujo electroosmótico no representa ningún inconveniente en las separaciones en CE, y, de hecho, es, en muchos casos, muy importante para conducir convenientemente a los analitos en el sentido deseado.

En caso de que no sea conveniente la presencia de dicho flujo, puede ser disminuido e incluso eliminado mediante dos formas, fundamentalmente: o por disminución del pH o, si conviene llevar a cabo las separaciones en medio neutro o básico donde los grupos silanol se encuentran desprotonados, mediante la adición de aditivos, tales como la dietilentriamina (DETA) u otras di-aminas o tri-aminas que a esos pH se encuentran en forma de catión orgánico que se une

por interacciones electrostáticas a parte de los grupos silanol desprotonados con lo que disminuye el número de sitios libres y, por tanto, también disminuye la magnitud del flujo electroosmótico cuando se aplica la diferencia de potencial en la separación.

Incluso también es posible, si conviene para la separación, cambiar el sentido de dicho flujo mediante la adición de sales de amonio cuaternarias anfífilas, tales como el bromuro de cetiltrimetil amonio (CTAB) que genera una doble capa eléctrica en la pared interna del capilar con carga positiva que redistribuye los aniones de la disolución interna próximos a la pared, y, por ende, el flujo electroosmótico se orienta hacia el electrodo positivo.

### **Modalidades de electroforesis capilar**

Todas las modalidades de electroforesis capilar, que son bastantes, se basan en combinar convenientemente estas dos movilidades: la electroforética de los analitos y la electroosmótica del medio de separación. Así, aparecen la electrocromatografía capilar (CEC), la electroforesis capilar en gel (CGE), la isotacoforesis capilar (CITP), el enfoque isoelectrónico capilar (CIEF), la cromatografía electrocinética micelar capilar (MEKC), la electroforesis capilar zonal (CZE), la electroforesis capilar en medio no acuoso (NACE), etc.

Como un extremo de la explotación de dichas movilidades podemos comentar la electrocromatografía capilar, CEC, en la que sólo se emplea la movilidad electroosmótica para mover en forma de flujo tapón el medio de separación (la fase móvil) a través de una columna capilar empaquetada (empaquetamientos idénticos a los de HPLC) produciéndose las separaciones mediante interacciones cromatográficas con la fase estacionaria (separación, por tanto, de compuestos neutros). El empleo del campo eléctrico aplicado sirve como impulsor de la fase móvil sin tener que emplear bombas de alta presión que, además, generan flujos de tipo parabólico en columnas capilares que disminuyen la eficacia de las separaciones.

Como extremo contrario podemos comentar la electroforesis capilar zonal en la separación de aniones inorgánicos (CZE de aniones inorgánicos). En ella, dado que los aniones inorgánicos suelen tener movilidades electroforéticas bastante altas y comparables a la movilidad electroosmótica, si se llevan a cabo separaciones de estos compuestos habría que esperar bastante tiempo hasta que los analitos llegaran al detector situado en el extremo del capilar del electrodo negativo. En estos casos, como no interesa la presencia del flujo electroosmótico para no ralentizar las separaciones, éste se disminuye o bien se cambia de sentido, tal como se comentó en el apartado anterior, mediante el empleo de aditivos y la migración de los analitos se produce por sus movilidades electroforéticas hacia el electrodo positivo donde se sitúa ahora el detector.

### **Electroforesis capilar frente a cromatografía líquida**

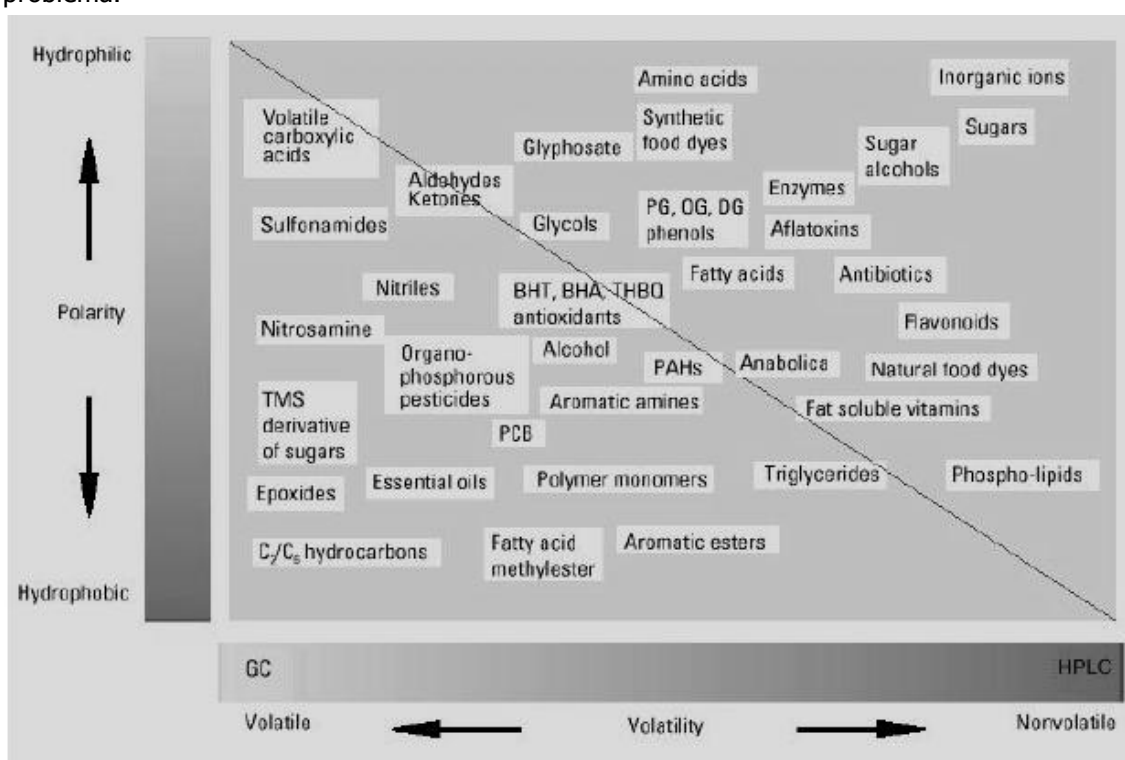
Cuando se intentó históricamente llevar a cabo separaciones electroforéticas en tubos abiertos en "U" se separaban inicialmente las bandas de los compuestos al aplicar una diferencia de potencial entre los extremos del tubo, pero progresivamente iban deformándose las bandas separadas debido a procesos de dispersión de tipo convectivo. De ahí que la electroforesis se desarrollara históricamente sobre soportes planos que estabilizaran las bandas separadas de los compuestos, tales como electroforesis en papel o sobre gel. La electroforesis en tubo abierto comenzó su desarrollo cuando se observó que la disminución del diámetro del capilar eliminaba el problema de los movimientos turbulentos permitiendo sólo movimientos de tipo laminar, estabilizándose las separaciones por la propia viscosidad del disolvente estabilizado en ese tubo capilar.

En la actualidad, la electroforesis capilar se acopla a los mismos detectores que la cromatografía líquida (UV y MS) y el acoplamiento CE-MS, bien controlado, presenta algún inconveniente frente a LC-MS pero grandes ventajas:

- Una sensibilidad similar ya que aunque se inyecte un volumen de nanolitros frente a los microlitos en HPLC la alta eficacia de las separaciones en CE genera picos con un número de platos muy alto obteniéndose LOD similares a los de HPLC.
- Es más sostenible y económico ya que los volúmenes de disolventes y sales es ínfimo comparado con HPLC.

- Muy versátil ya que con el mismo tipo de capilares se pueden elaborar columnas para electrocromatografía capilar (CEC), o llevar a cabo separaciones en otras modalidades de CE tales como electroforesis capilar en gel (CGE), isotacoforesis capilar (CITP), enfoque isoelectrico capilar (CIEF), cromatografía electrocinética micelar capilar (MEKC), electroforesis capilar zonal (CZE), ...lo que permite el análisis de compuestos de muy diversa naturaleza química y polaridad, desde iones inorgánicos hasta macromoléculas como proteínas.
- Es aplicable a los mismos problemas analíticos que LC y además permite manejar analitos de cualquier rango de polaridad, desde hidrofóbicos como hidrocarburos hasta iónicos como sales de compuestos iónicos los cuales resultan muy difíciles de manejar en HPLC.

Como principal desventaja se puede señalar que la composición de la muestra que se inyecta afecta en gran medida a la eficacia de las separaciones y tiene que ser optimizada con cuidado, cosa que en HPLC es poco importante. En este sentido, es más robusto un método puesto a punto en HPLC que en CE, salvo que se dedique el tiempo suficiente en CE a controlar dicho problema.



### Detección fotométrica indirecta con electroforesis capilar (CE-IUV o CE-LIF)

En la determinación de aniones inorgánicos la principal dificultad es su nula o muy baja absorción UV, con lo que no resulta fácil su análisis mediante CE-UV y el acoplamiento a MS puede presentar problemas debido a la generación de compuestos poco volátiles. Estos mismos problemas los presenta también la separación de estos compuestos en LC-UV o LC-MS.

Por este motivo, se suelen desarrollar métodos empleando detección indirecta fotométrica, bien mediante un cromóforo o bien mediante un fluoróforo incorporado al medio de separación, de forma que al pasar por el detector una banda de un anión inorgánico se observa una disminución de la señal fotométrica registrándose picos negativos que se pueden integrar y analizar en la forma habitual. Se suele representar el descenso de absorbancia como señal positiva en el registrador para visualizar los picos en su manera habitual.

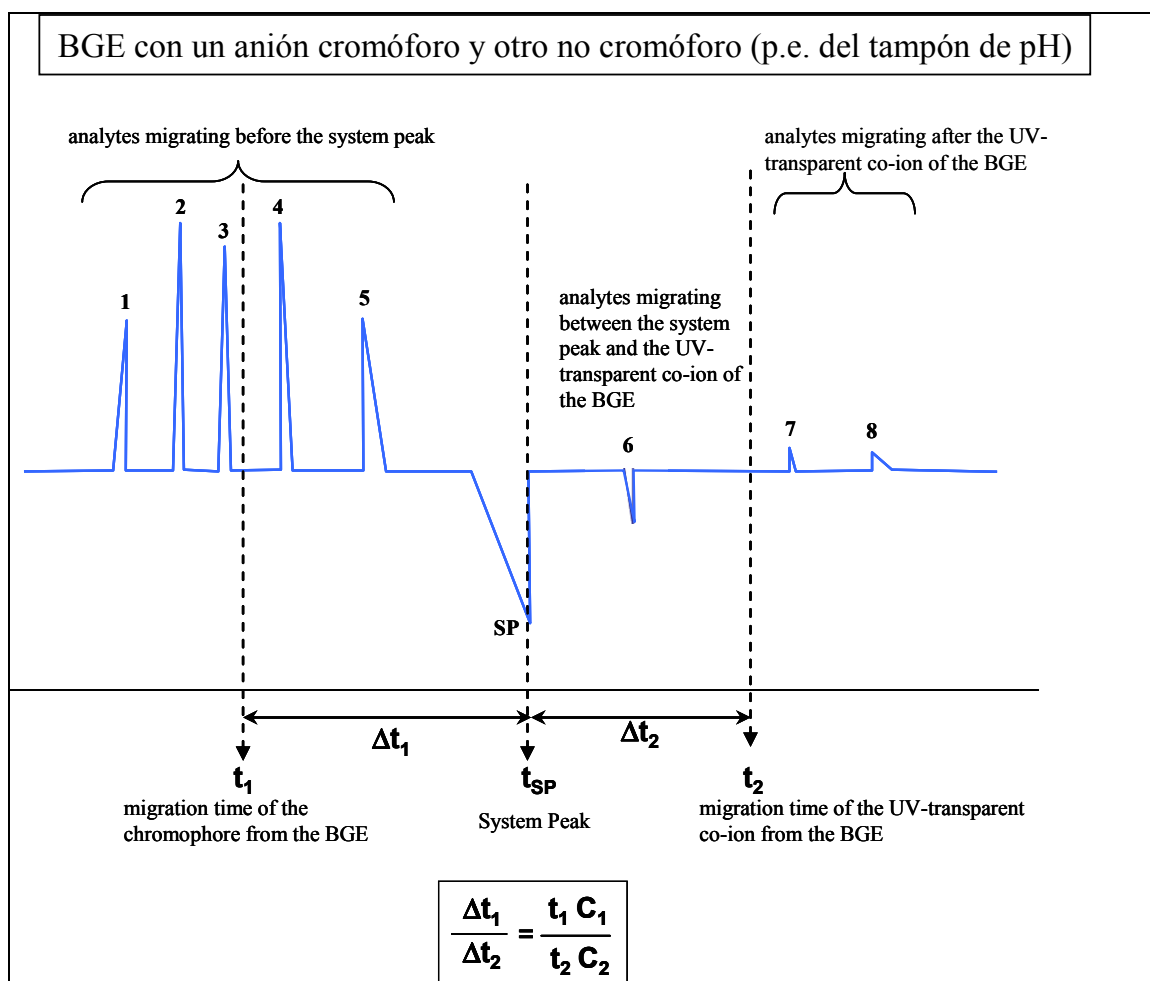
Como se comentó en el apartado anterior, la movilidad electroosmótica se disminuye (añadiendo, por ejemplo, DETA) o bien se invierte (añadiendo una sal de amonio cuaternaria anfifílica, por ejemplo, CTAB) para obtener tiempos de análisis adecuados.

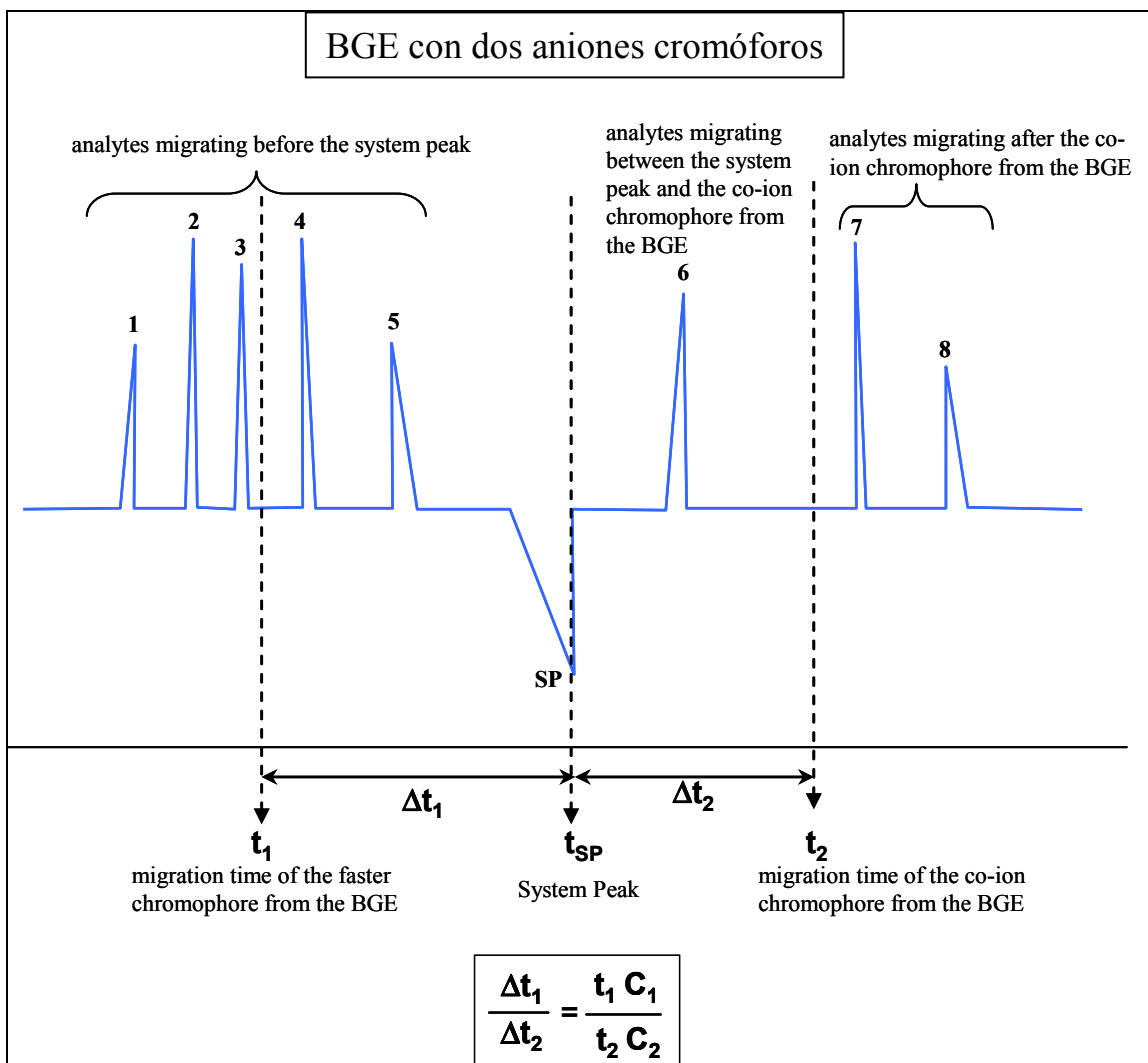


A la vista de la figura, se podría pensar en incluir en el medio de separación varios probes a la vez para controlar la forma de los picos de los analitos en distintos tiempos de migración. Es posible hacerlo, pero el problema que presenta el preparar un medio de separación complejo en detección fotométrica indirecta es la aparición de los denominados picos de sistema o system peaks<sup>vii</sup>.

Cuando la movilidad de un analito es intermedia entre las movilidades de dos co-iones del medio de separación (*background electrolyte*, BGE, en inglés), el ion del analito principalmente desplaza el co-ion del BGE con el cual su movilidad electroforética es más parecida. Sin embargo, si uno de los co-iones del BGE con los que casa la movilidad de un analito es una especie transparente al UV la detección se ve muy comprometida ya que no desplazaría nada del co-ion cromóforo y no se observaría ningún pico en el electroferograma. El pico de sistema se crea por la ausencia de un componente del BGE con la mayor diferencia en movilidad relativa a la de los analitos. La posición del pico del sistema es intermedia entre la movilidad de dos co-iones del BGE. Incluso se desplaza más hacia la posición de uno u otro co-ion del BGE en proporción a la concentración de cada co-ion en el BGE. Estas reglas pueden justificarse cualitativamente, por efectos de isotacoforesis transicional de los iones de los analitos y del co-ion del BGE con el que estén más próximos en movilidad.

Por lo tanto, se pueden optimizar separaciones en CE-detección indirecta con múltiples probes, pero controlando muy bien su naturaleza y composición para controlar la posición de los distintos picos de sistema que van a aparecer. Existirán n-1 picos de sistema si se emplean n aniones distintos como co-iones en el BGE con la particularidad mencionada de que si alguno de ellos es transparente al UV pueden no visualizarse los picos de los analitos cuyos iones desplacen a los iones del co-ion del BGE transparente.





Otra característica que resulta muy importante en CE, en la mayoría de sus modalidades y entre ellas ésta que nos ocupa es el efecto de focalización eléctrica o electrostaking. La muestra que se inyecta en el capilar en "sandwich" entre el BGE ha de tener una conductividad mucho menor que la del BGE para conseguir que los analitos se focalicen en una zona muy estrecha en la interfase muestra-BGE. El electrostaking ocurre sólo unos instantes antes de que la zona de los analitos migre dentro del grueso de la disolución del BGE.

El límite de detección (LOD) en detección indirecta para un analito que no absorba en UV depende de<sup>vii</sup>:

$$LOD = \frac{C_p}{TR D_R} = \frac{N_{BL}}{TR \epsilon_M l}$$

dependencia del límite de detección LOD en detección UV indirecta

donde  $C_p$  es la concentración del probe cuyos iones desplaza preferentemente el analito considerado,  $TR$  es la relación de transferencia (el número de moles del probe desplazados por 1 mol del analito),  $D_r$  es la reserva dinámica (la relación absorbancia de fondo/ruido de la línea base),  $N_{BL}$  es el ruido de la línea base,  $\epsilon_M$  es la absorptividad molar del probe y  $l$  es el paso óptico, es decir el diámetro interno del capilar en el punto donde se encuentra situado el detector.

Por lo tanto, el límite de detección y la eficacia de la separación en CE-IUV se pueden mejorar:

- 1º) eligiendo un/os probe/s que migre/n próximo/s a los tiempos de migración de los analitos para generar picos lo más simétricos posible.



2º) eligiendo un/os probe/s que posea/n una alta absorptividad molar. El aumento de la concentración del probe aumenta simultáneamente la absorbancia de fondo, pero también aumenta el ruido. Además si es alta puede generar calibrados no lineales, luego se intenta siempre mantenerla lo más baja posible.

3º) elaborando un BGE lo más simple posible en composición para controlar en lo posible los n-1 picos de sistema que resultarán del total de n aniones diferentes presentes en el BGE.

### **Características físico-químicas de las aguas potables respecto a los analitos<sup>viii</sup>**

Las aguas superficiales normalmente no contienen **cloruros** en concentraciones tan altas como para afectar el sabor, excepto en aquellas fuentes provenientes de terrenos salinos o de acuíferos con influencia de corrientes marinas. En las aguas superficiales por lo general no son los cloruros sino los sulfatos y los carbonatos los principales responsables de la salinidad. Los límites fijados en el agua por las normas de calidad se sustentan más en el gusto que le imparten al agua que en motivos de salubridad. La OMS considera que por encima de 250 mg/L, los cloruros pueden influir en la corrosividad del agua.

Los **sulfatos** son un componente natural de las aguas superficiales y por lo general en ellas no se encuentran en concentraciones que puedan afectar su calidad. Pueden provenir de la oxidación de los sulfuros existentes en el agua y, en función del contenido de calcio, podrían impartirle un carácter ácido. Los sulfatos de calcio y magnesio contribuyen a la dureza del agua y constituyen la dureza permanente. El sulfato de magnesio confiere al agua un sabor amargo. Por sus efectos laxantes, su influencia sobre el sabor y porque no hay métodos definidos para su remoción, la OMS recomienda que en aguas destinadas al consumo humano, el límite permisible no exceda 250 mg/L, pero indica, además, que este valor guía está destinado a evitar la probable corrosividad del agua.

El nitrógeno es un nutriente importante para el desarrollo de los animales y las plantas acuáticas. Por lo general, en el agua se lo encuentra formando amoníaco, **nitratos y nitritos**. Si un recurso hídrico recibe descargas de aguas residuales domésticas, el nitrógeno estará presente como nitrógeno orgánico amoniacal, el cual, en contacto con el oxígeno disuelto, se irá transformando por oxidación en nitritos y nitratos. Este proceso de nitrificación depende de la temperatura, del contenido de oxígeno disuelto y del pH del agua.

En los sistemas acuáticos y terrestres, los materiales nitrogenados tienden a transformarse en nitratos. Los nitritos (sales de ácido nitroso,  $\text{HNO}_2$ ) son solubles en agua. Se transforman naturalmente a partir de los nitratos, ya sea por oxidación bacteriana incompleta del nitrógeno en los sistemas acuáticos y terrestres o por reducción bacteriana.

El ion nitrito es menos estable que el ion nitrato. Es muy reactivo y puede actuar como agente oxidante y reductor, por lo que sólo se lo encuentra en cantidades apreciables en condiciones de baja oxigenación. Esta es la causa de que los nitritos se transformen rápidamente para dar nitratos y que, generalmente, estos últimos predominen en las aguas, tanto superficiales como subterráneas. El uso excesivo de fertilizantes nitrogenados, incluyendo el amoníaco, y la contaminación causada por la acumulación de excretas humanas y animales pueden contribuir a elevar la concentración de nitratos en agua. Generalmente, los nitratos son solubles, por lo que son movilizados con facilidad de los sedimentos por las aguas superficiales y subterráneas. La presencia de nitratos y nitritos no es extraña, especialmente en aguas almacenadas en cisternas en comunidades rurales. En la práctica, difícilmente los nitritos se encuentran en aguas tratadas debido a que se oxidan fácilmente y se convierten en nitratos durante la cloración.

Aunque la toxicidad relativa de los nitratos es bien conocida, es difícil establecer cuál es el nivel de una dosis nociva. Los nitritos tienen mayor efecto nocivo que los nitratos. Una vez en la sangre, el nitrito reacciona con el ion ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) de la desoxihemoglobina y forma metahemoglobina, en la cual el hierro se encuentra en estado férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ), por lo que es incapaz de transportar el oxígeno. Por ello se relaciona al nitrito con una anomalía en la sangre de los niños (metahemoglobinemia) por la ingestión de aguas con un contenido mayor de 10 mg/L de nitratos (como N) y como resultado de la conversión de nitrato en nitrito. La mayor parte de estos casos se asocian a aguas que contienen más de 45 mg/L de nitrato.

El **fluoruro** es un elemento esencial para la nutrición del hombre. Su presencia en el agua de consumo a concentraciones adecuadas combate la formación de caries dental, principalmente en los niños (0,8 a 1,2 mg/L). Sin embargo, si la concentración de fluoruro en el agua es alta, podría generar manchas en los dientes ("fluorosis dental") y dañar la estructura ósea.

Las principales fuentes de concentraciones contaminantes de flúor en el agua son los efluentes de fábricas de acero y metales o de fábricas de plásticos y fertilizantes.

Las especies químicas de fósforo más comunes en el agua son los **ortofosfatos**, los fosfatos condensados (piro-, meta- y polifosfatos) y los fosfatos orgánicos. Estos fosfatos pueden estar solubles como partículas de detritus o en los cuerpos de los organismos acuáticos.

Su presencia está asociada con la eutrofización de las aguas, con problemas de crecimiento de algas indeseables en embalses y lagos, con acumulación de sedimentos, etcétera. Para una buena interpretación de la presencia de fosfatos en las fuentes de aguas crudas, es recomendable la diferenciación analítica de las especies químicas existentes en ellas.

La fuente principal de los fosfatos orgánicos son los procesos biológicos. Estos pueden generarse a partir de los ortofosfatos en procesos de tratamiento biológico o por los organismos acuáticos del cuerpo hídrico. Otra fuente importante de fosfatos en las aguas superficiales son las descargas de aguas que contienen como residuo detergentes comerciales.

Las normas de calidad de agua no han establecido un límite definitivo. Sin embargo, es necesario estudiar la concentración de fosfatos en el agua, su relación con la productividad biológica y los problemas que estos pueden generar en el proceso de filtración y en la producción de olores.

En las aguas existe un equilibrio de **carbonatos** y bicarbonatos con el ácido carbónico, con tendencia a que prevalezcan los iones de bicarbonato. De ahí que un agua pueda tener baja alcalinidad y un pH relativamente alto o viceversa. Los carbonatos (junto con los sulfatos) presentes en las aguas superficiales son, por lo general, los principales responsables de la salinidad.

Se ha observado<sup>ix</sup> que debido a los procesos de desinfección (**cloración, ozonación**) de las aguas potables se pueden formar como subproductos diferentes especies halogenadas. Cuando se emplea ozono como desinfectante, se pueden formar bromato ( $\text{BrO}_3^-$ ) y yodato ( $\text{IO}_3^-$ ), los cuales pueden resultar tóxicos.

El empleo de dióxido de cloro ( $\text{ClO}_2$ ) puede ser causa de formación de cloritos ( $\text{ClO}_2^-$ ) y cloratos ( $\text{ClO}_3^-$ ). El uso de ácido hipocloroso ( $\text{HClO}$ ) puede generar contaminación por clorato como resultado de su desproporción. La cloración con  $\text{Cl}_2$  gas se sabe que es causa de mal sabor y olor y que genera subproductos como los trihalometanos (cloroformo, bromoformo,...) los cuales son carcinógenos potentes.

El yoduro ( $\text{I}^-$ ) y bromuro ( $\text{Br}^-$ ) presente en las aguas resulta inestable si el anión perclorato ( $\text{ClO}_4^-$ ) está presente. Sin embargo, debido a su alto poder de oxidación, el perclorato no es fácil de encontrar en las aguas potables.

El hipoclorito ( $\text{ClO}^-$ ), uno de los posibles agentes desinfectantes, es también muy reactivo y se desproporciona a cloruro y clorato en las muestras de aguas potables en unos pocos minutos.

Valores paramétricos<sup>x</sup> (el nivel máximo o mínimo fijado):

nitrito  $\leq 50$  mg/L

nitrito en Red  $\leq 0.5$  mg/L

nitrito en salida de potabilizadora (ETAP)  $\leq 0.1$  mg/L

$(\text{nitrito}/3) + (\text{nitrito}/50) < 1$  mg/L

fluoruro  $\leq 1.5$  mg/L

sulfato  $\leq 250$  mg/L

cloruro  $\leq 250$  mg/L

cloro libre residual ( $\text{Cl}_2 + \text{HClO} + \text{ClO}^-$ ): 1.0 mg/L

## REALIZACIÓN

### Separaciones con distintos medios (BGE's)

- I.** Preparar disoluciones de tetraborato sódico 0.100 mol/L (100.0 mL, calentar); ácido bórico (pKa 9.2) 0.100 mol/L (25.0 mL); Tris (pKb 5.9) 0.500 mol/L (25.0 mL); óxido de cromo ( $\text{CrO}_3$ , pKas -0.7, 5.7) 1.00 mol/L (10.0 mL) (ya preparada); y dietilentriamina (DETA, pKbs 3.9, 4.6, 9.1; 103.2 u.m.a., 98%(p/p), 0.96 g/mL) 1.00%(p/v) (10.0 mL) en agua de calidad UHQ.
- II.** Preparar disoluciones patrón de 100 mg/L de cada uno de los analitos (cloruro, sulfato, nitrito, nitrato, fosfato, fluoruro, carbonato) en agua UHQ (ya preparadas).
- III.** Determinar los tiempos de migración de los analitos en un BGE (10.0 mL) compuesto por 10 mM de cromato como probe en un tampón bórico/borato 60mM (pH=8.8) empleando 3.6 mM de DETA como minimizador del flujo electrosmótico. ¿Existen picos de sistema? ¿Por qué?
- IV.** Identificar el tiempo de migración del pico del carbonato (no cuantificable) para conocer la zona de posibles interferencias con los picos de los analitos. Justificar el aspecto del electroferograma obtenido. ¿Qué ha sucedido?
- V.** Comparar la eficacia en la separación de nuestros analitos en presencia de carbonato con otro BGE (10.0 mL) compuesto por 10 mM de cromato como probe en un tampón Tris de pH=8.1 empleando 3.6mM de DETA como minimizador del flujo electrosmótico. ¿Existen picos de sistema? ¿Por qué?
- VI.** ¡BGE libre! Pensar, probar y optimizar la composición de un BGE que sea más eficaz que los BGEs probados y que sea más simple todavía que el BGE anterior a pH=9.2. ¿Existen picos de sistema? ¿Por qué?

### Identificación y cuantificación de los analitos en muestras de aguas naturales y potables

- I.** En el BGE elegido inyectar las diversas muestras de aguas naturales y de la red de suministro sin tratamiento alguno e identificar la existencia o no de los analitos. ¿Cómo salir de dudas de la presencia de un analito?
- II.** A la vista de los analitos existentes preparar los calibrados con patrón externo correspondientes en el rango de concentraciones adecuado para cada analito.
- III.** Cuantificar cada uno de los analitos en las muestras de aguas mediante su correspondiente calibrado con patrón externo, expresando el resultado de manera correcta con su intervalo de confianza y el número de cifras significativas adecuado. Comprobar si se cumple la normativa para estos analitos en aguas potables<sup>x</sup>.

<sup>i</sup> Bockris, J.O'M., Reddy, A.K.N., *Modern Electrochemistry 1: Ionics*, 2<sup>nd</sup> ed., Plenum Press, New York 1998.

<sup>ii</sup> Falkenhagen, H., Leist, M., Kelbg, G., *Ann. Phys.* 1952, 11, 51-59.

<sup>iii</sup> Pitts, E., *Proc. Roy. Soc. (London)* 1953, 217A, 43-70.

<sup>iv</sup> Chmurzyński, L., Pawlak, Z., *J. Chem. Thermodynamics* 1998, 30, 27-35.

<sup>v</sup> *Journal of Chromatography*, 640 (1993) 403-412.

<sup>vi</sup> *Trends in analytical chemistry*, vol. f3, no. 8, 1994.

<sup>vii</sup> *Journal of Chromatography A*, 834 (1999) 189-212.

<sup>viii</sup> Aspectos fisicoquímicos de la calidad del agua. Ada Barrenechea Martel.

<sup>ix</sup> *Analytica Chimica Acta* 360 (1998) 161-166.

<sup>x</sup> B.O.E. nº 45 de 21/02/2003 pág. 7228-7245.