

**DETERMINACIÓN DE IONES Y TRIAZINAS MEDIANTE ELECTROFORESIS  
CAPILAR CON DETECCIÓN EN UV**

**ALBERTO SÁNCHEZ LÓPEZ**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
BUCARAMANGA  
2007**

**DETERMINACIÓN DE IONES Y TRIAZINAS MEDIANTE ELECTROFORESIS  
CAPILAR CON DETECCIÓN EN UV**

**ALBERTO SÁNCHEZ LÓPEZ**

**Código: 2038124**

**Tesis presentada como requisito parcial para optar el título de  
Magíster en Química**

**Director:**

**Dr. Jairo René Martínez Morales, Profesor Titular, Escuela de Química**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
BUCARAMANGA  
2007**

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Pág</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. ESTADO DEL ARTE</b>	<b>3</b>
<b>2.1. GENERALIDADES</b>	<b>3</b>
<b>2.2. EL AGUA EN COLOMBIA</b>	<b>4</b>
<b>2.3. ANÁLISIS QUÍMICO</b>	<b>6</b>
<b>2.4. ELECTROFORESIS CAPILAR</b>	<b>9</b>
2.4.1. Generalidades	9
2.4.2. Detectores	12
2.4.2.1. Detección indirecta	12
2.4.3. Electroforesis capilar de zona	14
2.4.4. Electroforesis capilar en fase micelar	15
2.4.4.1. <i>Stacking</i> en modo normal	17
2.4.4.2. Inyección electrocinética con <i>stacking</i> de analitos neutros en condiciones de conductividad continua	19
<b>2.5. ESPECIES QUÍMICAS DISUELTAS EN AGUAS</b>	<b>22</b>
2.5.1. Iones disueltos en aguas	22
2.5.1.1. Cloruro	23
2.5.1.2. Nitrito	24
2.5.1.3. Nitrato	24
2.5.1.4. Sulfato	25
2.5.1.5. Fluoruro	26
2.5.1.6. Fosfato	26

2.5.1.7. Amonio	26
2.5.1.8. Potasio	27
2.5.1.9. Sodio	27
2.5.1.10. Magnesio	28
2.5.1.11. Litio	28
2.5.1.12. Estroncio	28
2.5.1.13. Bario	29
2.5.1.14. Calcio	29
2.6. Triazinas	29
<b>2.7. VALIDACIÓN DE LAS METODOLOGÍAS ANALÍTICAS</b>	<b>34</b>
2.7.1. Calificación del instrumento	35
2.7.2. Validación del método	36
2.7.2.1. Precisión	36
2.7.2.2. Exactitud	37
2.7.2.3. Especificidad	37
2.7.2.4. Límite de detección y límite de cuantificación	38
2.7.2.5. Linealidad y rango	39
2.7.2.6. Robustez	39
<b>3. PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>40</b>
<b>3.1. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS</b>	<b>40</b>
3.1.1. Equipo de electroforesis capilar	41
3.1.1.1. Fuentes de poder	42
3.1.1.2. Detector	42
3.1.1.3. Capilar	42
3.1.1.4. Adquisición de datos	43
3.1.2. Equipos menores	43
3.1.3. Materiales	44
3.1.4. Reactivos	44

3.1.4.1.	Reactivos analíticos	44
3.1.4.2.	Patrones certificados	46
<b>3.2.</b>	<b>DETERMINACIÓN DE ANIONES Y CATIONES POR CZE</b>	<b>49</b>
3.2.1.	Soluciones	49
3.2.2.	Condiciones analíticas	49
3.2.3.	Validación de la metodología	51
3.2.3.1.	Precisión	51
3.2.3.2.	Exactitud	51
3.2.3.3.	Especificidad	51
3.2.3.4.	Linealidad y rango	52
3.2.3.5.	Límites de detección y cuantificación	52
3.2.3.6.	Robustez	53
3.2.4.	Determinación de iones en muestras reales	54
3.2.4.1.	Preparación de la muestra	54
3.2.4.2.	Determinación de aniones	54
3.2.4.3.	Determinación de cationes	55
<b>3.3.</b>	<b>DETERMINACIÓN DE TRIAZINAS</b>	<b>55</b>
3.3.1.	Soluciones de trabajo	55
3.3.2.	Selección de las condiciones analíticas para la determinación de triazinas	56
3.3.2.1.	Extracción de triazinas mediante SPME	56
3.3.3.	Determinación de triazinas en muestras reales	57
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS</b>	<b>59</b>
<b>4.1.</b>	<b>DETERMINACIÓN DE ANIONES Y CATIONES POR CZE</b>	<b>59</b>
4.1.1.	Corrección del área del pico con el tiempo de retención	59
4.1.2.	Corrección del tiempo de retención	61
4.1.3.	Condiciones analíticas	62

4.1.4.	Precisión	63
4.1.5.	Exactitud	64
4.1.6.	Especificidad	65
4.1.7.	Linealidad y rango	67
4.1.8.	Límites de detección y cuantificación	68
4.1.9.	Robustez	69
4.1.10.	Análisis de muestras reales	73
4.1.11.	Estado del análisis de iones mediante CZE frente a otras metodologías	74
<b>4.2.</b>	<b>DETERMINACIÓN DE TRIAZINAS</b>	<b>75</b>
4.2.1.	Condiciones analíticas	76
4.2.1.1.	Efecto de la concentración de SDS	77
4.2.1.2.	Efecto del fosfato-borato	78
4.2.1.3.	Efecto del modificador orgánico	78
4.2.1.4.	Efecto del voltaje de análisis	79
4.2.1.5.	Efecto del voltaje de inyección	79
4.2.2.	Límite de Detección	81
4.2.3.	Linealidad del método	81
4.2.4.	Extracción de triazinas mediante SPME	82
4.2.5.	Análisis de muestras reales	85
4.2.6.	Estado del análisis de triazinas mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC frente a otras metodologías	85
<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>87</b>
<b>6.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>89</b>
<b>7.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>90</b>

## Tabla de Anexos

	<b>Pág</b>
ANEXO 1. Precisión y exactitud de las metodologías para la determinación de iones presentes en aguas, mediante electroforesis capilar en zona	113
ANEXO 2. Características analíticas y curvas de calibración para la determinación de iones presentes en aguas mediante electroforesis capilar en zona.	120
ANEXO 3 Características en la robustez de las metodologías para la determinación de iones mediante CZE	152
ANEXO 4 Electroforegramas obtenidos en el análisis de iones presentes en muestras de agua mediante CZE	157
ANEXO 5 Electroforegramas obtenidos en el análisis de triazinas presentes en muestras de agua mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC	162
ANEXO 6 Características analíticas y curvas de calibración para la determinación de triazinas presentes en aguas mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC	170
ANEXO 7. Diseño central compuesto rotatorio para mejorar la extracción y desorción de triazinas presentes en aguas mediante SPME.	178

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1. Límites de detección logrados con absorción atómica y electroforesis capilar para diferentes iones .....</b>	<b>8</b>
<b>Tabla 2 Algunos de los agentes de visualización seleccionados para la detección indirecta de absorbancia, en un detector UV .....</b>	<b>13</b>
<b>Tabla 3. Características de algunas triazinas.....</b>	<b>31</b>
<b>Tabla 4. Diferencias entre las técnicas analíticas utilizadas en la determinación de triazinas en aguas .....</b>	<b>32</b>
<b>Tabla 5 Especificaciones técnicas y comerciales de las soluciones estándar certificadas, utilizadas como referencia para los diferentes aniones .....</b>	<b>46</b>
<b>Tabla 6 Especificaciones técnicas y comerciales de las soluciones estándar certificadas, utilizadas como referencia para los diferentes cationes .....</b>	<b>47</b>
<b>Tabla 7. Condiciones analíticas para la determinación de aniones en agua, mediante CZE .....</b>	<b>50</b>
<b>Tabla 8. Condiciones analíticas para la determinación de cationes en agua, mediante CZE .....</b>	<b>50</b>
<b>Tabla 9. Tiempos de inyección y voltajes de análisis evaluados para la determinación de iones presentes en agua, mediante CZE.....</b>	<b>54</b>
<b>Tabla 10 Volumen de inyección de una muestra acuosa a diferentes temperaturas. ....</b>	<b>72</b>
<b>Tabla 11. Concentración de los iones presentes en las muestras de agua analizadas mediante CZE.....</b>	<b>73</b>
<b>Tabla 12. Precisión, expresada como %CV para las áreas corregidas con el tiempo de retención, obtenidas con la metodología para determinación de aniones por CZE. ....</b>	<b>114</b>

Tabla 13. Precisión, expresada como %CV para las áreas corregidas con el tiempo de retención, obtenidas con la metodología para determinación de cationes por CZE. ....	115
Tabla 14. Exactitud expresada como %R, obtenidas con la metodología para determinación de aniones por CZE. ....	117
Tabla 15. Exactitud expresada como %R, obtenidas con la metodología para determinación de cationes por CZE. ....	118
Tabla 16. Características analíticas de la metodología para la determinación de aniones mediante CZE, en concentraciones bajas.....	121
Tabla 17. Características analíticas de la metodología para la determinación de aniones mediante CZE, en concentraciones altas.....	121
Tabla 18. Límites de detección y de cuantificación de la metodología para la determinación de aniones mediante CZE.....	122
Tabla 19. Características analíticas de la metodología para la determinación de cationes mediante CZE, en concentraciones bajas.....	122
Tabla 20. Características analíticas de la metodología para la determinación de cationes mediante CZE, en concentraciones altas.....	123
Tabla 21. Límites de detección y de cuantificación de la metodología para la determinación de cationes mediante CZE .....	123
Tabla 22. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el anión $Cl^{1-}$ .....	124
Tabla 23. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el anión $Cl^{1-}$ .....	124
Tabla 24. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el anión $NO_2^{1-}$ .....	125
Tabla 25. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el anión $NO_2^{1-}$ .....	125
Tabla 26. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el anión $SO_4^{2-}$ .....	126

Tabla 27. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el anión $SO_4^{2-}$ .....	126
Tabla 28. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el anión $NO_3^{1-}$ .....	127
Tabla 29. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el anión $NO_3^{1-}$ .....	127
Tabla 30. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el anión $F^{1-}$ .....	128
Tabla 31. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el anión $F^{1-}$ .....	128
Tabla 32. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el anión $PO_4^{3-}$ .....	129
Tabla 33. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el anión $PO_4^{3-}$ .....	129
Tabla 34. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión $NH_4^{1+}$ .....	130
Tabla 35. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión $NH_4^{1+}$ .....	130
Tabla 36. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión $K^{1+}$ .....	131
Tabla 37. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión $K^{1+}$ .....	131
Tabla 38. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión $Na^{1+}$ .....	132
Tabla 39. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión $Na^{1+}$ .....	132
Tabla 40. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión $Mg^{2+}$ .....	133

Tabla 41. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión $Mg^{2+}$ .....	133
Tabla 42. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión $Li^{1+}$ .....	134
Tabla 43. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión $Li^{1+}$ .....	134
Tabla 44. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión $Sr^{2+}$ .....	135
Tabla 45. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión $Sr^{2+}$ .....	135
Tabla 46. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión $Ba^{2+}$ .....	136
Tabla 47. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión $Ba^{2+}$ .....	136
Tabla 48. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión $Ca^{2+}$ .....	137
Tabla 49. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión $Ca^{2+}$ .....	137
Tabla 50. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión $Cl^{1-}$ .....	138
Tabla 51. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión $Cl^{1-}$ .....	138
Tabla 52. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión $NO_2^{1-}$ .....	139
Tabla 53. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión $NO_2^{1-}$ .....	139
Tabla 54. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión $SO_4^{2-}$ .....	140

Tabla 55. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión $SO_4^{2-}$ .....	140
Tabla 56. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión $NO_3^{1-}$ .....	141
Tabla 57. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión $NO_3^{1-}$ .....	141
Tabla 58. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión $F^{1-}$ .....	142
Tabla 59. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión $F^{1-}$ .....	142
Tabla 60. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión $PO_4^{3-}$ .....	143
Tabla 61. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión $PO_4^{3-}$ .....	143
Tabla 62. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión $NH_4^{1+}$ .....	144
Tabla 63. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión $NH_4^{1+}$ .....	144
Tabla 64. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión $K^{1+}$ .....	145
Tabla 65. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión $K^{1+}$ .....	145
Tabla 66. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión $Na^{1+}$ .....	146
Tabla 67. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión $Na^{1+}$ .....	146
Tabla 68. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión $Mg^{2+}$ .....	147

Tabla 69. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión $Mg^{2+}$ .....	147
Tabla 70. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión $Li^{1+}$ .....	148
Tabla 71. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión $Li^{1+}$ .....	148
Tabla 72. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión $Sr^{2+}$ .....	149
Tabla 73. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión $Sr^{2+}$ .....	149
Tabla 74. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión $Ba^{2+}$ .....	150
Tabla 75. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión $Ba^{2+}$ .....	150
Tabla 76. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión $Ca^{2+}$ .....	151
Tabla 77. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión $Ca^{2+}$ .....	151
Tabla 78. Tiempo de inyección y voltaje de análisis en la determinación de los aniones $Cl^{1-}$ , $NO_2^{1-}$ , $SO_4^{2-}$ , $NO_3^{1-}$ , $F^{1-}$ y $PO_4^{3-}$ presentes en aguas, mediante CZE .....	153
Tabla 79. Efectos del tiempo de inyección y del voltaje de análisis sobre el área y la selectividad para los cationes $NH_4^{1+}$ , $K^{1+}$ , $Na^{1+}$ , $Mg^{2+}$ , $Li^{1+}$ , $Sr^{2+}$ , $Ba^{2+}$ y $Ca^{2+}$ presentes en aguas, mediante CZE.....	154
Tabla 80. Características analíticas de la metodología para la determinación de triazinas mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC.....	171
Tabla 81. Límites de detección y de cuantificación de la metodología para la determinación de triazinas mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC, y	

<b>LOD de algunas metodologías de concentración de muestra reportadas en la literatura .....</b>	<b>171</b>
<b>Tabla 82. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones para la simazina .....</b>	<b>172</b>
<b>Tabla 83. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones para la atrazina.....</b>	<b>172</b>
<b>Tabla 84. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones para la ametrina .....</b>	<b>173</b>
<b>Tabla 85. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones para la prometrina.....</b>	<b>173</b>
<b>Tabla 86. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones para la terbutilazina .....</b>	<b>174</b>
<b>Tabla 87. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones para la terbutrina.....</b>	<b>174</b>
<b>Tabla 88. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración para la simazina.....</b>	<b>175</b>
<b>Tabla 89. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración para la atrazina .....</b>	<b>175</b>
<b>Tabla 90. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración para la ametrina.....</b>	<b>176</b>
<b>Tabla 91. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración para la prometrina .....</b>	<b>176</b>
<b>Tabla 92. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración para la terbutilazina.....</b>	<b>177</b>
<b>Tabla 93. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración para la terbutrina .....</b>	<b>177</b>
<b>Tabla 94. Diseño central compuesto rotatorio para mejorar la extracción por SPME.....</b>	<b>179</b>
<b>Tabla 95. Porcentajes de recuperación logrados con la extracción mediante SPME.....</b>	<b>181</b>

## INDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Diagrama del <i>stacking</i> en modo normal de analitos neutros seguido por la separación de MEKC, utilizando SDS como surfactante .....	18
Figura 2 Diagrama del <i>stacking</i> electrocinético de analitos neutros conducidos por el flujo electroosmótico seguido por la separación de MEKC, utilizando SDS como surfactante.....	21
Figura 3. Equipo de electroforesis capilar, con detector ultravioleta. ....	41
Figura 4. Separación de aniones mediante CZE. ....	66
Figura 5. Separación de cationes mediante CZE. ....	66
Figura 6. Separación de aniones mediante CZE. ....	69
Figura 7. Voltaje de inyección vs. la altura de pico obtenida con diferentes voltajes de inyección divididas en la altura del pico obtenida con una inyección de 10 kV. ....	81
Figura 8. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión $Cl^{1-}$ .....	124
Figura 9. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión $Cl^{1-}$ .....	124
Figura 10. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión $NO_2^{1-}$ .....	125
Figura 11. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión $NO_2^{1-}$ .....	125
Figura 12. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión $SO_4^{2-}$ .....	126
Figura 13. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión $SO_4^{2-}$ .....	126

<b>Figura 14. Curva de calibración en concentraciones "bajas"</b> <b>para el anión <math>NO_3^{1-}</math></b> .....	<b>127</b>
<b>Figura 15. Curva de calibración en concentraciones "altas"</b> <b>para el anión <math>NO_3^{1-}</math></b> .....	<b>127</b>
<b>Figura 16. Curva de calibración en concentraciones "bajas"</b> <b>para el anión <math>F^{1-}</math></b> .....	<b>128</b>
<b>Figura 17. Curva de calibración en concentraciones "altas"</b> <b>para el anión <math>F^{1-}</math></b> .....	<b>128</b>
<b>Figura 18. Curva de calibración en concentraciones "bajas"</b> <b>para el anión <math>PO_4^{3-}</math></b> .....	<b>129</b>
<b>Figura 19. Curva de calibración en concentraciones "altas"</b> <b>para el anión <math>PO_4^{3-}</math></b> .....	<b>129</b>
<b>Figura 20. Curva de calibración en concentraciones "bajas"</b> <b>para el catión <math>NH_4^{1+}</math></b> .....	<b>130</b>
<b>Figura 21. Curva de calibración en concentraciones "altas"</b> <b>para el catión <math>NH_4^{1+}</math></b> .....	<b>130</b>
<b>Figura 22. Curva de calibración en concentraciones "bajas"</b> <b>para el catión <math>K^{1+}</math></b> .....	<b>131</b>
<b>Figura 23. Curva de calibración en concentraciones "altas"</b> <b>para el catión <math>K^{1+}</math></b> .....	<b>131</b>
<b>Figura 24. Curva de calibración en concentraciones "bajas"</b> <b>para el catión <math>Na^{1+}</math></b> .....	<b>132</b>
<b>Figura 25. Curva de calibración en concentraciones "altas"</b> <b>para el catión <math>Na^{1+}</math></b> .....	<b>132</b>
<b>Figura 26. Curva de calibración en concentraciones "bajas"</b> <b>para el catión <math>Mg^{2+}</math></b> .....	<b>133</b>
<b>Figura 27. Curva de calibración en concentraciones "altas"</b> <b>para el catión <math>Mg^{2+}</math></b> .....	<b>133</b>

<b>Figura 28. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión <math>Li^{1+}</math> .....</b>	<b>134</b>
<b>Figura 29. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión <math>Li^{1+}</math> .....</b>	<b>134</b>
<b>Figura 30. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión <math>Sr^{2+}</math> .....</b>	<b>135</b>
<b>Figura 31. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión <math>Sr^{2+}</math> .....</b>	<b>135</b>
<b>Figura 32. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión <math>Ba^{2+}</math> .....</b>	<b>136</b>
<b>Figura 33. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión <math>Ba^{2+}</math> .....</b>	<b>136</b>
<b>Figura 34. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión <math>Ca^{2+}</math> .....</b>	<b>137</b>
<b>Figura 35. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión <math>Ca^{2+}</math> .....</b>	<b>137</b>
<b>Figura 36. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión <math>Cl^{1-}</math> .....</b>	<b>138</b>
<b>Figura 37. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión <math>Cl^{1-}</math> .....</b>	<b>138</b>
<b>Figura 38. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión <math>NO_2^{1-}</math> .....</b>	<b>139</b>
<b>Figura 39. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión <math>NO_2^{1-}</math> .....</b>	<b>139</b>
<b>Figura 40. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión <math>SO_4^{2-}</math> .....</b>	<b>140</b>
<b>Figura 41. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión <math>SO_4^{2-}</math> .....</b>	<b>140</b>

<b>Figura 42. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión <math>NO_3^{1-}</math> .</b>	<b>141</b>
<b>Figura 43. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión <math>NO_3^{1-}</math> .</b>	<b>141</b>
<b>Figura 44. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión <math>F^{1-}</math> .</b>	<b>142</b>
<b>Figura 45. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión <math>F^{1-}</math> .</b>	<b>142</b>
<b>Figura 46. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión <math>PO_4^{3-}</math> .</b>	<b>143</b>
<b>Figura 47. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión <math>PO_4^{3-}</math> .</b>	<b>143</b>
<b>Figura 48. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión <math>NH_4^{1+}</math> .</b>	<b>144</b>
<b>Figura 49. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión <math>NH_4^{1+}</math> .</b>	<b>144</b>
<b>Figura 50. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión <math>K^{1+}</math> .</b>	<b>145</b>
<b>Figura 51. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión <math>K^{1+}</math> .</b>	<b>145</b>
<b>Figura 52. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión <math>Na^{1+}</math> .</b>	<b>146</b>
<b>Figura 53. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión <math>Na^{1+}</math> .</b>	<b>146</b>
<b>Figura 54. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión <math>Mg^{2+}</math> .</b>	<b>147</b>
<b>Figura 55. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión <math>Mg^{2+}</math> .</b>	<b>147</b>

<b>Figura 56. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión <math>Li^{1+}</math> .</b>	<b>148</b>
<b>Figura 57. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión <math>Li^{1+}</math> .</b>	<b>148</b>
<b>Figura 58. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión <math>Sr^{2+}</math> .</b>	<b>149</b>
<b>Figura 59. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión <math>Sr^{2+}</math> .</b>	<b>149</b>
<b>Figura 60. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión <math>Ba^{2+}</math> .</b>	<b>150</b>
<b>Figura 61. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión <math>Ba^{2+}</math> .</b>	<b>150</b>
<b>Figura 62. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión <math>Ca^{2+}</math> .</b>	<b>151</b>
<b>Figura 63. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión <math>Ca^{2+}</math> .</b>	<b>151</b>
<b>Figura 64. Separación de aniones mediante CZE Dependencia que tienen con el voltaje de análisis y con el tiempo de inyección: .</b>	<b>155</b>
<b>Figura 65. Separación de cationes mediante CZE Dependencia que tienen con el voltaje de análisis y con el tiempo de inyección: .</b>	<b>156</b>
<b>Figura 66. Separación de aniones mediante CZE. A) Blanco; B) muestra de agua del acueducto Morrorrico; C) mezcla patrón de aniones. .</b>	<b>158</b>
<b>Figura 67. Separación de cationes mediante CZE. A) Blanco; B) muestra de agua del acueducto Morrorrico; C) mezcla patrón de cationes. .</b>	<b>159</b>
<b>Figura 68. Separación de aniones mediante CZE. A) Blanco; B) muestra de agua del acueducto Piedecuesta; C) mezcla patrón de aniones. .</b>	<b>160</b>
<b>Figura 69. Separación de cationes mediante CZE. A) Blanco; B) muestra de agua del acueducto Piedecuesta; C) mezcla patrón de cationes. .</b>	<b>161</b>

Figura 70. Electroforegramas obtenidos para una mezcla de triazinas, mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC. Condiciones de análisis: SDS, A) 25 mM; B) 50 mM; C) 75 mM. ....	163
Figura 71. Electroforegramas obtenidos para una mezcla de triazinas, mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC. Condiciones de análisis: <i>buffer</i> de análisis: Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> , y Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , respectivamente a: A) 25 mM y 25 mM; B) 15 mM y 15 mM; C) . 10 mM y 10 mM. ....	164
Figura 72. Electroforegrama obtenido para una mezcla de triazinas, mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC. Condiciones de análisis: inyección en modo hidrodinámico, 10 s, 3000 Pa; <i>buffer</i> de análisis: Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> , 10 mM; Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 10 mM; SDS, 25 mM; 1-propanol, 4 %p/p; temperatura de análisis, 25 °C; y detección, 222 nm; voltaje de análisis, + 10 kV.....	165
Figura 73. Electroforegramas obtenidos para una mezcla de triazinas, mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC. Condiciones de análisis: inyección en modo electrocinético, 150 s, A) 10 kV; B) 12 kV; C) 13 kV.....	166
Figura 74. Electroforegramas obtenidos para una mezcla de triazinas, mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC. Condiciones de análisis: inyección en modo electrocinético, 150 s, A) 15 kV; B) 20 kV.....	167
Figura 75. Electroforegramas obtenidos para una mezcla de triazinas, mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC. Condiciones de análisis: inyección en modo electrocinético, 10 kV, A) 100 s; B) 150 s; C) 300 s. ....	168
Figura 76. Electroforegramas obtenidos para una mezcla de triazinas, extraídas con SPME y analizadas mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC. A) Blanco; B) Muestra de agua del acueducto Bosconia; C) Muestra de agua enriquecida con solución patrón de triazinas. ....	169
Figura 77. Curva de calibración de área corregida con el tiempo de retención vs. concentración para la simazina.....	172
Figura 78. Curva de calibración de área corregida con el tiempo de retención vs. concentración para la atrazina. ....	172

<b>Figura 79. Curva de calibración de área corregida con el tiempo de retención vs. concentración para la ametrina. ....</b>	<b>173</b>
<b>Figura 80. Curva de calibración de área corregida con el tiempo de retención vs. concentración para la prometrina. ....</b>	<b>173</b>
<b>Figura 81. Curva de calibración de área corregida con el tiempo de retención vs. concentración para la terbutilazina. ....</b>	<b>174</b>
<b>Figura 82. Curva de calibración de área corregida con el tiempo de retención vs. concentración para la terbutrina. ....</b>	<b>174</b>
<b>Figura 83. Residuales de la curva de calibración para la simazina. ....</b>	<b>175</b>
<b>Figura 84. Residuales de la curva de calibración para la atrazina. ....</b>	<b>175</b>
<b>Figura 85. Residuales de la curva de calibración para la ametrina. ....</b>	<b>176</b>
<b>Figura 86. Residuales de la curva de calibración para la prometrina. ....</b>	<b>176</b>
<b>Figura 87. Residuales de la curva de calibración para la terbutilazina. ....</b>	<b>177</b>
<b>Figura 88. Residuales de la curva de calibración para la terbutrina. ....</b>	<b>177</b>
<b>Figura 89. Efecto de las variables individuales del proceso de SPME sobre el área total de los electroforegramas. ....</b>	<b>180</b>

## ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

$A_{corr,i}$	Área de un pico corregida con su respectivo tiempo de retención.
BGS	<i>Background solution</i> (solución electrolítica).
CE	<i>Capillary electrophoresis</i> (electroforesis capilar).
CEF	<i>Chromatography exponential function</i> .
CIEF	<i>Capillary isoelectric focusing</i> (isoelectroenfoco capilar)
CITP	<i>Capillary isotachophoresis</i> (isotacoforesis capilar)
CMC	<i>Critical micelle concentration</i> (Concentración micelar crítica)
CTAB	<i>Cetyltrimethylammonium bromide</i> (bromuro de cetiltrimetilamonio)
CZE	<i>Capillary zone electrophoresis</i> (Electroforesis capilar en zona)
DEA	<i>Diethanolamine</i> (dietanolamina)
DTS	<i>Dissolved totals solids</i> (sólidos disueltos totales)
ECD	<i>Electron Capture Detector</i> (Detector de captura de electrones).
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i> (Ácido etilendiaminotetraacético)
EKSI-NA-CCC	<i>Electrokinetic stacking injection of neutral analytes under continuous conductivity conditions</i> (Inyección electrocinética con <i>stacking</i> de analitos neutros en condiciones de conductividad continua)
EOF	<i>Electroosmotic flow</i> (Flujo electroosmótico)
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FESI	<i>Field-enhanced sample injection</i> (Inyección de muestra por incremento campo)
GFAAS	<i>Graphite furnace atomic absorption spectroscopic</i> (Espectroscopia de absorción atómica con horno de grafito)

HCSSM	Modo de <i>stacking</i> por alta conductividad en la muestra
HIBA	<i>α-hydroxyisobutyric acid</i> (Ácido $\alpha$ -hidroxi-isobutírico)
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i> (cromatografía líquida de alta resolución)
HRGC	<i>High resolution gas chromatography</i> (cromatografía de gases de alta resolución)
Hz	Hertz
IC	<i>Ionic chromatography</i> (cromatografía iónica)
ISO	<i>International standardization organization</i>
IUPAC	<i>International union of pure and applied chemistry</i>
kHz	Kilo-hertz
kV	Kilovoltios
$LD_{50}$	<i>Median Lethal Dose</i> (dosis letal media)
LOD	<i>Limit of detection</i> (límite de detección)
LOQ	<i>Limit of quantification</i> (límite de cuantificación)
MEKC	<i>Micellar electrokinetic chromatography</i> (electroforesis capilar en fase micelar)
MEKC-ESIMS	<i>Micellar electrokinetic chromatography-Electrospray ionization mass spectrometry</i> (Cromatografía electrocinética micelar acoplado a espectrometría de masas de ionización por electroespray)
$\mu\text{m}$	Micro-metro
$\mu\text{S}$	Micro-siemen
m-SRMM	<i>Modified stacking using reverse migrating micelles</i> (Modificación del <i>stacking</i> con micelas migrando en reversa)
PDMS/DVB	<i>Poly(Dimethylsiloxane)/Divinylbenzene</i> (Polidimetilsiloxano/divinilbenceno)
ppb	Partes por billón
ppm	Partes por millón

REPSM	<i>Reverse electrode polarity stacking mode</i> (Modo de <i>stacking</i> por inversión de la polaridad de los electrodos)
RP-SWMR	<i>Reverse polarity-stacking with matrix removal</i> (Modo de <i>stacking</i> por remoción de matriz)
SDS	Sodium dodecyl sulfate (Dodecilsulfato de sodio)
SNM	<i>Normal stacking mode</i> ( <i>Stacking</i> en modo normal)
SPE	<i>Solid-Phase extraction</i> (Extracción en fase sólida)
SPME	<i>Solid-Phase Microextraction</i> (Microextracción en fase sólida)
SRW	<i>Stacking using reverse migrating micelles and a water plug</i> ( <i>Stacking</i> usando micelas migrando en reversa y agua pura)
<i>stacking</i>	Concentración en línea
<i>Sweeping</i>	Captura y acumulación de analitos por micelas que penetran la zona de la muestra (que está dentro del capilar y que no contiene micelas) durante la aplicación de un voltaje
TSD	Detector selectivo termoiónico
TTAB	<i>Teradecyltrimethylammonium</i> (bromuro de tetradecilamonio)
USP	United States Pharmacopeia
UV	Detector ultravioleta

TÍTULO: Determinación de iones y triazinas presentes en aguas, mediante electroforesis capilar con detección en UV\*.

Autor: Alberto Sánchez López\*\*

Palabras claves: Aniones; Cationes; Triazinas; SDS; CZE; MEKC; SPME; EKSI-NA-CCC.

Se implementaron dos metodologías en el modo de electroforesis capilar en zona (CZE) para la determinación de iones inorgánicos presentes en aguas. Con la primera se analizaron los aniones  $Cl^{-}$ ,  $NO_2^{-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^{-}$ ,  $F^{-}$  y  $PO_4^{3-}$  y con la segunda, los cationes  $NH_4^{1+}$ ,  $K^{1+}$ ,  $Na^{1+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Li^{1+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ . Ambas metodologías exhibieron linealidad, robustez, precisión y exactitud en un rango aceptable para el proceso de análisis de cada una de las especies. A excepción del ión nitrito, se detectaron concentraciones por debajo del máximo valor permitido por la legislación colombiana. Estas metodologías son herramientas muy útiles para analizar de forma rutinaria varios iones en una sola corrida, con bajos requerimientos de solventes, muestra y tiempo de análisis.

Por otro lado, se implementaron dos métodos para el análisis de seis triazinas (simazina, atrazina, ametrina, prometrina, terbutilazina y terbutrina), mediante cromatografía electrocinética micelar (MEKC). El primero, se conoce como inyección electrocinética con *stacking* de analitos neutros en condiciones de conductividad continua (EKSI-NA-CCC), y consiste en concentrar los analitos en el momento de la inyección. El segundo, es una extensión del primero, con microextracción en fase sólida (SPME), para aumentar su sensibilidad. Se encontró que ambos métodos son prácticos para detectar estos pesticidas en aguas en concentraciones del orden de  $\mu g$  por litro. Cabe resaltar que se utilizó un diseño experimental compuesto central rotatorio, fraccionado, para obtener las condiciones que mostraron la mejor eficiencia de extracción y desorción de las triazinas, presentes en aguas.

---

\* Trabajo de investigación

\*\* Facultad de Ciencias. Postgrado en Química. Director Jairo R. Martínez, Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

TITLE: Determination of ions and triazines presents in water by capillary electrophoresis using a UV detection systems.

Author: Alberto Sánchez López\*\*

Key words: Anions; Cations; Triazines; SDS; CZE; MEKC; SPME; EKSI-NA-CCC.

It was implemented two methodologies of capillary zone electrophoresis (CZE) for making the determination of inorganic ions presents in water. With the first methodology it was analyzed the ions  $Cl^{1-}$ ,  $NO_2^{1-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^{1-}$ ,  $F^{1-}$  y  $PO_4^{3-}$  and with the second one the cations  $NH_4^{1+}$ ,  $K^{1+}$ ,  $Na^{1+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Li^{1+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ . Both methodologies displayed Linearity, robustness, precision, and accuracy in an acceptable range for the process of analysis of each one of the species. With the exception of the nitrite ion, concentrations below the maximum value allowed by the Colombian Legislation were detected. These methodologies are very useful tools to analyze in a routine form several ions in a single running, with low requirements of solvent, sample and time of analysis.

On the other hand, two methods for the analysis of six triazines were implemented (simazine, atrazine, ametryne, prometryne, terbuthylazine and terbuthryne), by means of micellar electrokinetic chromatography (MEKC). The first one known as electrokinetic stacking injection of neutral analytes under continuous conductivity conditions (EKSI-NA-CCC), and consists in concentrating the analytes at the moment of the injection. The second method is an extension of first one, with solid phase micro-extraction (SPME), to increase its sensitivity. Both methods are practical to detect pesticides in water in concentrations as low as  $\mu g/L$ . It was performed a central composite rotatory experimental design, to obtain the conditions that showed the best efficiency of extraction and desorption of triazines presents in water.

---

\* Investigation work

\*\* Science Faculty. Graduated Chemistry School. Directed by: Jairo René Martínez Morales, Chemistry School, Industrial University of Santander, Bucaramanga, Colombia.

## 1. INTRODUCCIÓN

Actualmente existe un gran número de metodologías para determinar iones disueltos en aguas [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]. La detección de iones en solución del orden de partes por billón ha sido posible gracias a los desarrollos de nuevas metodologías de muestreo y extracción de analitos, así como la construcción de instrumentos analíticos con sistemas de separación y detección más sofisticados y eficaces [8]. La electroforesis capilar (CE), por ejemplo, es una técnica de separación de iones basada en sus diferencias de movilidad a través de una solución buffer contenida en un capilar, cuando se aplica un campo eléctrico muy intenso, del orden de varias decenas de kilovoltios [9, 10, 11]. Desde su introducción, la CE se ha utilizado ampliamente en la separación y cuantificación de analitos de origen bioquímico (carbohidratos, purinas, nucleótidos, oligonucleótidos, proteínas, etc.) [12]. Desde 1985 se ha venido utilizando para el monitoreo de iones (orgánicos e inorgánicos) presentes en diferentes matrices acuosas (aguas industriales, aguas residuales, aguas potables, etc.) [7].

En una primera fase, en este trabajo se hizo uso de la electroforesis capilar, en el modo electroforesis capilar en zona (CZE), para analizar las siguientes especies disueltas en matrices acuosas, a saber: los aniones cloruro, nitrito, sulfato, nitrato, fluoruro y fosfato, y los cationes amonio, potasio, sodio, magnesio, litio, estroncio, bario y calcio. A excepción del caso del ion nitrito, la determinación de iones presentes en agua se llevó a cabo con unos límites de detección por debajo de los valores de concentración máximos permitidos por los entes reguladores del agua potable en Colombia. En segunda fase, se analizaron sustancias neutras (triazinas) mediante electroforesis capilar en fase micelar (MEKC).

La CE se destaca por ofrecer una separación rápida, con bajos niveles de detección de masa. Sin embargo, los límites de detección de concentración pueden constituir una desventaja analítica frente a otras técnicas, puesto que son muy altos [13, 14, 15]. Para remediar esta circunstancia, se ha utilizado una gran cantidad de metodologías de “concentración en línea” o *stacking*, con lo cual estos límites se han logrado disminuir en varios órdenes de magnitud. El proceso de *stacking* consiste en aumentar la densidad de masa de analitos en el extremo del capilar sobre el cual se lleva a cabo la inyección de la muestra.

Lo novedoso de este trabajo fue que el análisis de triazinas (simazina, atrazina, ametrina, prometrina, terbutilazina y terbutrina) presentes en agua se llevó a cabo por primera vez mediante la técnica de *stacking*: inyección electrocinética con *stacking* de analitos neutros en condiciones de conductividad continua (EKSI-NA-CCC) en línea con MEKC (electroforesis capilar en fase micelar). Los límites de detección no alcanzaron los valores máximos permitidos para estas sustancias en aguas potables, pero debido a su comodidad, la metodología aquí implementada puede ser utilizada en monitoreos de aguas naturales donde se sospeche de vertimientos de pesticidas en concentraciones mayores a 20 ppb.

Finalmente, se analizaron muestras de agua potable procedentes de acueductos de Bucaramanga y su área metropolitana. Para analizar los iones se utilizaron metodologías con el modo de electroforesis capilar en zona. En todos los casos, se halló la presencia de los aniones  $Cl^{1-}$ ,  $NO_2^{1-}$ ,  $SO_4^{2-}$  y  $NO_3^{1-}$ ; y los cationes  $K^{1+}$ ,  $Na^{1+}$ ,  $Mg^{2+}$  y  $Ca^{2+}$  en concentraciones bajas. Para las triazinas, simazina, atrazina, ametrina, prometrina, terbutilazina y terbutrina, se utilizó microextracción en fase sólida, como método de preconcentración de muestra, seguido de EKSI-NA-CCC en línea con MEKC para la separación y análisis. Ninguna triazina fue detectada.

## **2. ESTADO DEL ARTE**

### **2.1. GENERALIDADES**

Las naciones han consensuado mecanismos para controlar serios impactos ambientales: como el aumento sensible de la contaminación, el calentamiento global, la disminución de la base productiva de los recursos naturales y el aumento de la pobreza, principalmente, en el cual prima la racionalidad económica sobre la ambiental. A pesar de haber observado algunos acercamientos para atenuar la problemática las perspectivas parecieran no ser muy halagüeñas, como lo muestran algunas estadísticas ambientales: más de mil millones de personas beben aguas insalubres, mientras que 2.400 millones carecen de servicios sanitarios adecuados, y se prevé que, dentro de 25 años, unos 3.000 millones de personas sufrirán condiciones de escasez de agua, si el consumo y la contaminación química continúan con las tendencias actuales [16].

Entre los numerosos agentes químicos que afectan la calidad de las aguas las triazinas merecen especial atención, ya que su uso, como cualquier otro tóxico, esta asociado a un riesgo [17]. En Colombia hay desarrollo de la industria agroquímica que los gobiernos se han encargado de fortalecer, con políticas que favorecen su mercado, contradiciendo su compromiso de promover los mercados verdes y la producción limpia sostenible, consignado actualmente en la Ley 812 de junio de 2003 del Congreso de Colombia que aprobó el Plan de Desarrollo 2003 – 2006. Además, la orientación de nuestra agricultura está obedeciendo más a los patrones e intereses de capitales norte americanos, con un alto costo energético e impactos negativos, en detrimento de la soberanía alimentaria, el equilibrio ambiental, la justicia social y la calidad de vida de los nacionales [18].

No solo las triazinas sino también los DTS (sólidos disueltos totales) afectan la calidad del agua. Estos, en altas concentraciones, causan efectos fisiológicos, corrosivos y mal sabor. Los DTS y la conductividad son parámetros que generalmente se usan para indicar la magnitud de iones disueltos en el agua. El término DTS es asociado con las sales inorgánicas (cloruros, sulfatos, nitratos, sodio, potasio, calcio, magnesio), cantidades pequeñas de materia orgánica y otros materiales presentes en agua [19].

## **2.2. EL AGUA EN COLOMBIA**

En Colombia el Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial [20] es el ente encargado de gestionar los recursos naturales en conjunto, las cuencas y los acuíferos en particular. Además, es el encargado de velar por la disponibilidad y las limitaciones de calidad del agua y así evitar problemas en los seres vivos o sobre actividades industriales.

De igual manera, se sabe que la protección ambiental está sobre la agenda de muchos países. Nuevas reglas y regulaciones son impuestas para monitorear en aguas, aire, suelos, etc., un gran número de iones; compuestos peligrosos, como las triazinas, y sustancias orgánicas en niveles de concentración muy bajos, que llegan a las aguas de forma natural, por compuestos antropogénicos, y/o de forma artificial, por degradación de productos industriales, desechos de actividades urbanas o de agricultura [21].

Cabe resaltar que Colombia es afortunada geográficamente respecto a la disponibilidad del agua, ya que se encuentra ubicada en una zona donde convergen grandes masas de aire húmedas que llegan desde la Amazonía y desde los océanos Atlántico y Pacífico, pero, sus fuentes hídricas son

contaminadas diariamente por actividades humanas y no existen registros periódicos de tales efectos. Esto se debe, en gran parte, a que no se tienen las herramientas necesarias para conocer el comportamiento ambiental de la industria colombiana [22, 23].

Los impactos sobre la calidad del agua, por parte de las industrias, corresponden a la contaminación por vertimiento tanto de sustancias tóxicas para los ecosistemas y los seres humanos como de impurezas de todo tipo que pueden causar problemas en los sistemas de enfriamiento, calefacción, generación de vapor, manufactura [24].

En resumen, las sustancias tóxicas, según la normatividad vigente en Colombia (decreto 1594 de 1984 del Código de Recursos Naturales y de Ley Sanitaria), son aquellas que, emitidas bien sea en forma rutinaria o de manera accidental, alcanzan niveles de concentración en los que pueden causar algún tipo de daño en la salud. Esta definición abarca numerosas sustancias. Por lo tanto, científicos de diferentes áreas (analítica, ambiental), entidades ambientalistas y políticas trabajan en la reglamentación e implementación de metodologías que mejoren el desarrollo tecnológico sin afectar la calidad del medio ambiente.

Actualmente, existe una serie de decretos que agrupan las características organolépticas, microbiológicas, físicas, químicas y de uso para los diferentes tipos de agua. Por ejemplo, el decreto número 475, de marzo 10 de 1998, establece las normas técnicas de calidad de agua potable. Este decreto también define los diferentes tipos de agua: cruda, para consumo humano y potable.

Además, en el congreso de la república existe un proyecto de ley (Proyecto de ley 365 – Cámara de 2005, por el cual se establece medidas para orientar la planificación y administración del recurso hídrico en el territorio nacional) que busca racionalizar el uso del agua, de manera que los beneficios socioeconómicos

y ambientales derivados de las políticas e inversiones públicas y privadas que se desarrollen sean siempre superiores a sus costos.

Vale decir que ninguna norma colombiana especifica sobre las metodologías que se deben utilizar para realizar los análisis químicos y monitorear la calidad del agua. Esto permite a los laboratorios tener libre albedrío para tal efecto.

### **2.3. ANÁLISIS QUÍMICO**

La determinación y análisis de diferentes especies químicas (iones inorgánicos, triazinas) disueltas en agua son de gran interés en industrias, clínicas, ciencias forenses, agricultura, acueductos, entre otros [25].

Para llevar a cabo los análisis químicos existen varias metodologías que van desde las antiguas técnicas de química mojada, las cuales son tediosas y difíciles de reproducir [7, 26], hasta los novedosos métodos instrumentales (HPLC, cromatografía líquida de alta resolución; IC, cromatografía iónica; CE, electroforesis capilar; HRGC, cromatografía de gases de alta resolución; GFAAS, espectroscopia de absorción atómica con horno de grafito) [1] con los cuales se obtiene alta reproducibilidad, selectividad, sensibilidad y bajos límites de detección de los analitos. Generalmente, los métodos instrumentales no son competitivos entre sí [2, 27], pero cada uno presenta ciertas ventajas y desventajas que dependen del tipo de analito, la matriz de la muestra, etc.

Por ejemplo, algunas ventajas que tiene EC, son:

- Comparado con GFAAS, se gasta menos tiempo para analizar de forma rutinaria varios cationes disueltos en aguas [4].

- Comparado con IC, cada análisis tiene menor costo [2, 4].
- Solo se requieren pequeños volúmenes de muestra y además los capilares cuestan menos que las columnas de HPLC [28].

Y algunas desventajas que tiene EC, son:

- Cuando la detección de los cationes se realiza en forma indirecta, utilizando la absorción UV (ultravioleta), no se alcanzan límites de detección tan bajos como los logrados en GFAAS [29, 30]. La **Tabla 1** muestra algunos límites de detección conseguidos en GFAAS y en CE.
- Cuando las concentraciones de las especies en la matriz son muy altas cada pico pierde resolución [31].

En general, conocer las ventajas y desventajas de las técnicas analíticas es muy importante ya que le permite a la industria o alguna entidad en particular seleccionar la metodología idónea para el análisis químico que por una u otra razón requiera. Algunas de estas razones pueden ser, asegurar que el agua contenga una determinada concentración de iones y/o especies químicas, que puedan causar o evitar algún beneficio [32]; evitar la contaminación ambiental, evitar cambios en los procesos ambientales.

**Tabla 1.** Límites de detección logrados con absorción atómica y electroforesis capilar para diferentes iones

IÓN	LÍMITES DE DETECCIÓN	
	GFSAA <sup>a</sup> (ppm)	CE—UV <sup>b</sup> (ppm)
Fluoruro	-	0,03
Cloruro	-	0,01
Fósforo	0,04	-
Fosfato	-	0,04
Nitrito	-	0,02
Nitrato	-	0,02
Sulfato	-	0,01
Potasio	0,00002	0,08
Calcio	0,00005	0,02
Sodio	0,0005	0,02
Bario	0,00004	0,34
Magnesio	0,000004	0,02
Litio	0,0003	0,02
Amonio	-	0,06
Estroncio	0,06	0,15

<sup>a</sup> Espectroscopia de absorción atómica basada en la atomización con llama y electrotérmica [30].

<sup>b</sup> Detección UV indirecta [33, 34, 35, 36].

## 2.4. ELECTROFORESIS CAPILAR

### 2.4.1. Generalidades

CE (electroforesis capilar) es una técnica de separación que actualmente está adquiriendo cada vez mayor importancia en la industria. Fue introducida a principios de la década de los 80 por Jorgenson *et al.* [9]. La separación se basa en el principio de electroforesis, el cual se describe en términos generales como la migración de las sustancias, cargadas eléctricamente, en una solución conductora bajo la influencia de un campo eléctrico [10].

La separación de las sustancias se lleva a cabo en el interior de un tubo capilar, normalmente de sílice fundida, lleno de una solución tampón. Una fuente de alimentación de corriente continua suministra un elevado potencial, varias decenas de kilovoltios (kV). Gracias a la conductividad eléctrica del tampón se origina una diferencia de potencial entre los extremos del capilar. Cada sustancia introducida en el capilar se desplaza por su interior a una velocidad que depende de su carga eléctrica global, su estructura y el potencial aplicado, que son los principales responsables de la separación. Los dos extremos del capilar se sumergen en dos viales que contienen el tampón. En estos viales también están sumergidos los electrodos conectados a la fuente de energía. Al aplicar el potencial se crea un flujo de cargas positivas que van del ánodo al cátodo: el EOF (flujo electroosmótico). Al inyectarse la muestra, por el extremo del capilar correspondiente al ánodo, el potencial hace que los analitos cargados positivamente (cationes) migren hacia el cátodo: primero los más cargados y de menor tamaño, luego los menos cargados y de mayor tamaño; poco antes de llegar al extremo del cátodo serán captados por el detector. Los analitos neutros no se verán influenciados por el potencial; pero se moverán hacia el cátodo arrastrados por el flujo electroosmótico –a la misma velocidad que este– y por

tanto serán detectados después de los cationes. Por último, los analitos cargados negativamente (aniones) migrarán hacia el ánodo; pero el flujo electroosmótico puede arrastrarlos, a todos o a algunos de ellos, hacia el cátodo. Se detectan al final del análisis, después de los analitos neutros. Los aniones más cargados y de menor tamaño son los últimos en llegar. Pero cuando lo que interesa analizar es aniónico, se puede invertir la polaridad del sistema (polaridad negativa), de manera que los analitos y el flujo electroosmótico se desplacen del cátodo al ánodo [26, 37, 38]. La separación electroforética depende, en gran medida, de las cargas de los analitos y, por consiguiente, está muy influenciada por el pH del tampón; ya que cambios en el pH pueden convertir analitos neutros en cargados o viceversa, variando así su movilidad [39]. Además, el pH del tampón también puede modificar la superficie interna del capilar [39, 40], causando variaciones en los tiempos de salida.

Por sus características de funcionamiento basadas en la carga de las moléculas, la electroforesis capilar, se divide en los siguientes modos: CITP (isotacoforesis capilar), CIEF (isoelectro enfoque capilar) y CZE (electroforesis capilar de zona) [38]. Cada una de ellas es adecuada para el análisis de sustancias iónicas o fácilmente ionizables, tales como cationes y aniones orgánicos e inorgánicos, ácidos orgánicos, aminoácidos, siendo de las pocas técnicas que permiten el análisis de moléculas de elevado peso molecular, como las proteínas [41, 42]. Los compuestos neutros se analizan en un tampón con un sistema micelar que transporte los analitos. Los compuestos neutros son separados según su interacción con las micelas. Este procedimiento es un híbrido, entre la electroforesis y la cromatografía, introducido por Terabe et al., en 1984 [43]. Recibe el nombre de electroforesis capilar en fase micelar, abreviado como MEKC (micelar electrokinetic chromatography).

Para establecer un método que permita separar y cuantificar una serie de analitos en una matriz determinada, se deben optimizar las diferentes condiciones que

influyen en la separación hasta obtener la selectividad y sensibilidad deseadas. Las principales condiciones a optimizar son: la forma de detección, el voltaje aplicado, la temperatura del capilar, el volumen de muestra inyectado, la longitud del capilar, el electrolito de separación, el pH del electrolito de separación, entre otras [44, 45, 46].

Por otro lado, cuando se trabaja con electroforesis capilar en zona, se debe estar conciente que el sistema de separación deja de ser homogéneo después de que la muestra es inyectada. Esto es, una vez que los analitos entran al capilar, crean una variación en la concentración del *buffer* de separación. El sistema retiene, como efecto de memoria, esa heterogeneidad, la cual se propaga con el tiempo y al pasar por el detector se registran como zonas del sistema (o zonas propias del sistema) [47]. En detección indirecta, éstas zonas, que algunos autores llaman ondas del sistema [48, 49], son registradas como picos positivos o negativos. Aunque su apariencia no puede ser pronosticada o explicada fácilmente, siempre están presentes en el sistema de separación [47]. Štědrý *et al.* [50] reportaron que dichas zonas se debían, principalmente, a la zona de inyección o a la zona del agua. Otros autores como Gebauer *et al.* [51, 52], expusieron que su existencia, también, se debía a la presencia significativa de iones hidrógeno, iones hidróxido o más formas iónicas en el sistema de separación. Además, cada zona del sistema tiene su propia movilidad y se comporta de la misma forma cuando existe o no algún analito con el mismo tiempo de retención. Pero, la presencia del analito puede generar el fenómeno conocido como resonancia, que es análogo a los sistemas eléctricos o mecánicos [53]. En la práctica, cuando existe resonancia y el sistema de detección es indirecto, no es posible cuantificar los analitos [50].

## **2.4.2. Detectores**

En EC, se usan la mayoría de los detectores (fluorescencia, radioactividad, conductividad) utilizados en HPLC. Pero, los detectores de fotometría UV-VIS (ultravioleta visible) tienen mayor demanda [44], porque muchos solutos absorben en la región UV; además, los detectores UV son fáciles de conseguir y tienen bajo costo [54].

En todas las formas de electroforesis capilar se utiliza básicamente el mismo sistema que consiste en una fuente de alto voltaje conectada a dos recipientes, que contienen un tampón y están unidos mediante un capilar de cuarzo recubierto con una poliamida [55]. Para la detección UV en línea, una sección de la poliamida se retira, por medios físicos, químicos, mecánicos; y esta ventana se emplea como celda porta-muestra que permite el paso de la radiación que utiliza el detector [26, 37, 38].

### **2.4.2.1. Detección indirecta**

Cuando se utiliza un detector UV (ultravioleta) en la determinación de especies que tienen baja absorptividad molar se deben utilizar métodos indirectos de detección [56, 57]. En el método indirecto se utiliza un electrolito con baja concentración del coión –ión principal del electrolito que posee carga del mismo signo del analito de interés, también es conocido como agente de visualización—, que genera una línea base con bajas perturbaciones. Para escoger dicho electrolito se deben tener en cuenta las siguientes reglas [26, 56, 58, 59]:

- 1) Elegir una absorbancia para visualizar el coión que esté cercana al límite superior de la linealidad del detector.

- 2) La movilidad del coión deberá estar cercana a la movilidad del par de especies, de la muestra, que sean más difíciles de separar.
- 3) La concentración de los iones (coión y contraión) en el electrolito deberá ser la más baja posible. Por lo tanto se debe usar un electrolito que contenga un coión con alta absortividad en la longitud de onda de detección dada.
- 4) El electrolito debe contener un contraión de baja movilidad.
- 5) El coión deberá absorber en todo el ancho de la región UV, de esta forma se podrá elegir una longitud de onda donde todos los componentes de la muestra presenten la más baja absortividad.

Estas reglas muestran que la elección del electrolito es dependiente de la composición de la muestra. La **Tabla 2** muestra algunos coiones utilizados en los electrolitos y su aplicación.

**Tabla 2** Algunos de los agentes de visualización seleccionados para la detección indirecta de absorbancia, en un detector UV

Agente de visualización	$\lambda$ [nm]	Electrolito	Aplicación	Referencia
Cromato	254	Cromato (5 mM), Dietanolamina (20 mM), Bromuro de cetiltrimetilamonio (1,65 mM)	Aniones inorgánicos de alta movilidad	60

Continuación de la **Tabla 2**.

<b>Agente de visualización</b>	$\lambda$ [nm]	<b>Electrolito</b>	<b>Aplicación</b>	<b>Referencia</b>
Imidazol	214	Benzimidazol (6 mM), Ácido tartárico (2,5 mM), Éter 18-corona-6 (2 mM)	Cationes de los metales alcalinos y alcalinotérreos, aminas y amonio.	60
Dimetildifenilfosfónio	210	Dimetildifenilfosfónio (5 mM), Ácido $\alpha$ -hidroxiisobutírico (8 mM), 18-corona-6 (2 mM)	Cationes de los metales alcalinos y alcalinotérreos, amonio y metales de transición	61

### 2.4.3. Electroforesis capilar de zona

La CZE (electroforesis capilar en zona) es una modalidad ampliamente utilizada a causa de su simplicidad operacional y versatilidad. La separación de los analitos se lleva a cabo según su movilidad en solución. Esto es, al aplicar una diferencia de potencial entre los extremos del capilar los analitos migran en zonas discretas en función de sus diferentes movilidades electroforéticas. La elección del electrolito es muy importante, pues de él depende en gran medida el comportamiento electroforético de los solutos. El intervalo de aplicaciones de la CZE es diverso y las áreas de aplicación pueden ir desde problemas relacionados con la separación de especies pequeñas (iones inorgánicos disueltos en aguas) hasta la separación de especies de gran volumen (proteínas, poli-fenoles). Esto,

junto con el hecho que se requieren pequeños volúmenes de muestra, viene despertando, desde los 80, grandes expectativas en diferentes campos, tal como lo demuestra el incremento de publicaciones realizadas en las áreas de bioquímica, biotecnología, industria farmacéutica, análisis clínico, medio ambiente [26, 38, 62].

#### **2.4.4. Electroforesis capilar en fase micelar**

Abreviada como MEKC, la electroforesis capilar en fase micelar es un híbrido, entre la electroforesis y la cromatografía líquida [63]. El mecanismo de separación se basa en la distribución de los solutos en dos fases: una fase acuosa y una fase micelar. Para obtener estas fases, un surfactante es añadido al electrolito en concentración tal que supere la concentración micelar crítica (CMC) [64]. La temperatura del electrolito debe ser superior al punto de Kraft, del surfactante. Estas micelas tienen una parte hidrofílica y una parte hidrofóbica. La parte hidrofílica está orientada hacia la solución electrolítica, mientras que la parte hidrofóbica está orientada hacia el interior. En concentraciones superiores a la CMC, los monómeros y las micelas existen en equilibrio dinámico. El centro de cada micela tiene propiedades de un hidrocarburo líquido; esto es, las micelas son capaces de solubilizar moléculas hidrofóbicas o casi insolubles en medio acuoso. La micela actúa, de este modo, como fase pseudoestacionaria, ya que realiza una función similar a la de una fase estacionaria cromatográfica [65]. A pesar de su carga negativa, la micela o el conjunto micela-analito neutro migran hacia el cátodo arrastrados por el EOF. Si los solutos no son neutros, hay que tener en cuenta otros efectos: relación carga-masa, hidrofobicidad e interacción de carga. Aunque se han empleado exitosamente surfactantes catiónicos [66, 67], no iónicos [68], zwitteriónicos [68] o sales biliares [69], los surfactantes aniónicos [70, 71] son los más utilizados.

El uso de otros aditivos (metanol, ciclo-dextrinas, iones metálicos, etc.), además de las micelas, permite obtener mejoras en la selectividad y la resolución [65].

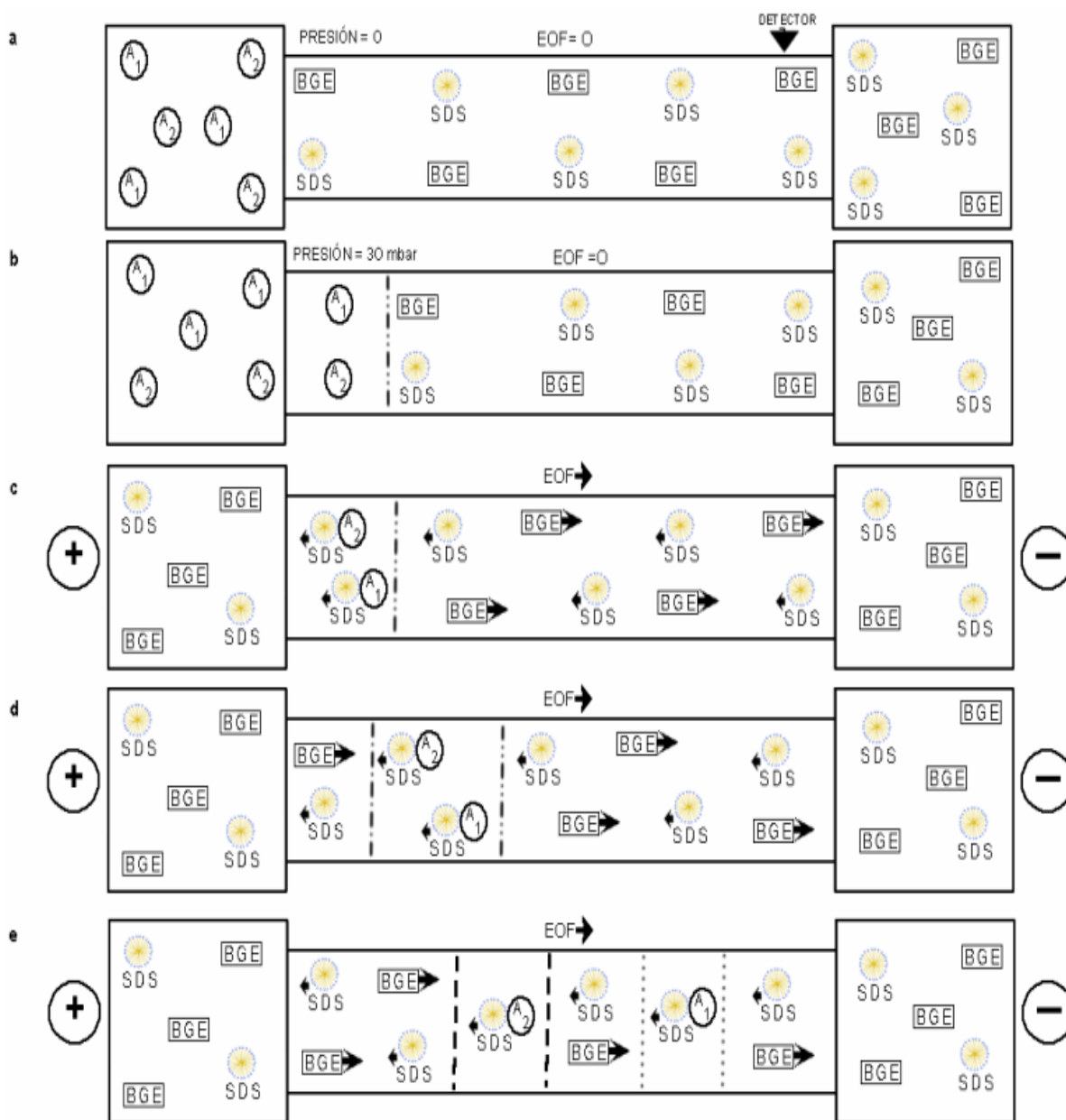
Como ya se indicó, los detectores más utilizados son los de fotometría UV. Pero en MEKC, al igual que en otros modos de CE, tienen la desventaja que no son sensibles a bajas concentraciones; por ende, sus límites de detección son altos comparados con otras técnicas. Para contrarrestar esto, se han utilizado varias formas de preconcentración de la muestra en línea. Con excepción de algunas técnicas que involucran diferentes mecanismos basados en medios físicos, tales como extracción en fase líquida o en fase sólida [72], la mayoría de esas técnicas han sido desarrolladas para acomodar un gran volumen por inyección de la muestra. Esto se hace debido a que el LOD (límite de detección) es proporcional a la cantidad de muestra inyectada. Infortunadamente, un mejoramiento del LOD no puede ser alcanzado simplemente incrementando la longitud de la muestra en el capilar, porque a la par se deben optimizar parámetros electroforéticos individuales, tales como: conductividad del electrolito, pH, magnitud y dirección del EOF, concentración del surfactante, polaridad del electrodo, entre otros [73].

Entre los primeros métodos de concentración en línea, para MEKC, que se utilizaron se encuentra SNM (*stacking* en modo normal) [74]. A partir de entonces, muchos métodos de concentración de muestra en línea han sido publicados [15, 74 — 82]. Aparentemente, todos son diferentes y ninguno tiene pérdidas en la eficiencia de separación. Algunos autores no fueron explícitos en la primera publicación y fueron necesarias notas aclaratorias [82 — 85]. Actualmente, existen tres amplias revisiones bibliográficas sobre los modos de *stacking* [54, 73, 86] y su descripción. Palmer *et al.* [75] describieron un método para realizar inyección electrocinética con *stacking* de analitos neutros bajo condiciones de conductividad continua (EKSI-NA-CCC). Este método consiste en inyectar analitos neutros con el flujo electroosmótico (FEO), directamente desde la matriz de muestra, dentro del *buffer* de separación que contenga un vector electrocinético

con movilidad opuesta al FEO. La matriz de la muestra y el buffer de separación deben tener la misma conductividad.

#### 2.4.4.1. *Stacking* en modo normal

La **Figura 1** muestra un diagrama de la separación de MEKC, en línea con SNM (*stacking* en modo normal), utilizando SDS (dodecilsulfato de sodio) como surfactante [74]. En la **Figura 1a**, la muestra, disuelta en un electrolito de baja conductividad o agua, se deja en un recipiente conectado al extremo izquierdo (anódico) del capilar. El capilar y el recipiente conectado con el extremo derecho del capilar (catódico) se llenan con electrolito de análisis o separación, llamado BGS (background solution), que contiene SDS en concentraciones superiores a la CMC (la CMC para el SDS en agua a 25 °C es 8,1 mM [87]). En la **Figura 1b**, se inyecta la muestra en modo hidrodinámico. En la **Figura 1c**, se cambia el recipiente de la muestra por uno con BGS, paso seguido por la aplicación de un voltaje. Mientras tanto, las micelas del extremo catódico entran en la zona de la muestra —debido a que la movilidad del EOF es mayor que la movilidad de las micelas—, e interaccionan con los analitos y ocurre la migración del conjunto analito-micela. En la **Figura 1d**, el conjunto SDS—analito alcanza la interfase entre la zona de muestra y el BGS en el extremo anódico, en efecto, ocurre una concentración de la muestra. Seguido a este proceso, **Figura 1e**, cada conjunto SDS—analito se separa de los demás por virtud de MEKC [73]. El número de conjuntos, SDS-analito, es igual al número de analitos presentes en la solución; por ende, si la separación es completa, será el mismo número de picos en el electroforegrama.



**Figura 1. Diagrama del *stacking* en modo normal de analitos neutros seguido por la separación de MEKC, utilizando SDS como surfactante**

#### 2.4.4.2. Inyección electrocinética con *stacking* de analitos neutros en condiciones de conductividad continua

La inyección electrocinética con *stacking* de analitos neutros en condiciones de conductividad continua (EKSI-NA-CCC) fue presentada por Palmer *et al.* [75] como otra forma de concentración en línea. EKSI-NA-CCC es una modificación de *sweeping*, que es un técnica de *stacking* que utiliza la inyección en modo hidrodinámico y fue presentada por Quirino *et al.* [78], pero que utiliza inyección en modo hidrodinámico. *Sweeping* significa captura y acumulación de analitos por micelas que penetran la zona de la muestra (que no contiene micelas) durante la aplicación de un voltaje.

En la **Figura 2** se presenta el diagrama del *stacking* electrocinético de analitos neutros conducidos por el flujo electroosmótico seguido por la separación de MEKC, utilizando SDS como surfactante. El mecanismo de *stacking* de este método está basado en la diferencia de movilidad de los analitos neutros cuando interactúan con un vector electrocinético o micelas. La muestra debe estar disuelta en un electrolito de igual conductividad que el BGS, pero que no contenga micelas. El BGS debe contener SDS en concentraciones superiores a la CMC. Se monta el sistema como en el esquema de la **Figura 2**. Donde, en la **Figura 2a**, el capilar y el *vial* derecho se llenan con BGS y el *vial* izquierdo, con muestra. En la **Figura 2b**, se aplica un voltaje durante un tiempo determinado. Aquí, la muestra es inyectada en el capilar por influencia del EOF y las micelas se mueven en sentido contrario al EOF. Cuando la micela interactúa con cada analito forma un conjunto SDS-analito que tiene una movilidad diferente a la micela pura. Al terminar la inyección se forman cuatro interfases: A, frente del solvente de la muestra; B, frente del conjunto SDS-analito; C, frente de la micela; y D, frente de la matriz de la muestra. En la **Figura 2c**, se muestra la opción en la cual la velocidad de ingreso de la muestra es mayor que la velocidad electroforética de las micelas, hacia el ánodo. Esto hace que parte de la muestra ingrese al capilar

sin que ninguna micela interaccione con los analitos. En la **Figura 2d**, ambos *viales* se llenan con BGS y se aplica un voltaje. Mientras tanto, las micelas continúan barriendo todos los analitos a lo largo de la zona de la muestra —debido a que el sentido de la movilidad electroforética de las micelas es contrario al del EOF—, hasta alcanzar la interfase D. En la **Figura 2e**, ocurre el proceso de separación por virtud de MEKC [73].

El principal enfoque de este concepto es la máxima longitud de muestra inyectable. Donde, la inyección termina antes que el conjunto analito-surfactante lleguen al detector. Esto quiere decir que si se conoce la velocidad del conjunto analito-surfactante, es posible determinar la máxima longitud de muestra inyectable,  $L_{\max}$ . Para ello, Palmer *et al.* [75], postularon la **Ecuación 1**.

$$L_{\max} = \left( \frac{V_{EOF}}{V_{\frac{a}{ekv}}} - 1 \right) L_{\det} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde,  $V_{EOF}$  es la velocidad del flujo electroosmótico,  $V_{\frac{a}{ekv}}$  es la velocidad del conjunto analito-surfactante y  $L_{\det}$  es la longitud del capilar, desde la entrada hasta el detector.

Por otro lado, utilizando la misma convención de signos de Palmer *et al.*., Chien *et al.* [84] postularon un resultado diferente para calcular  $L_{\max}$ .

$$L_{\max} = L_{\det} \left( \frac{V_{EOF}}{V_{ekv}} - 1 \right) \quad \text{Ecuación 2}$$

La **Ecuación 1** fue corroborada por Palmer *et al.* [75], utilizando condiciones específicas del electrolito (usaron un electrolito que no actuara como vector

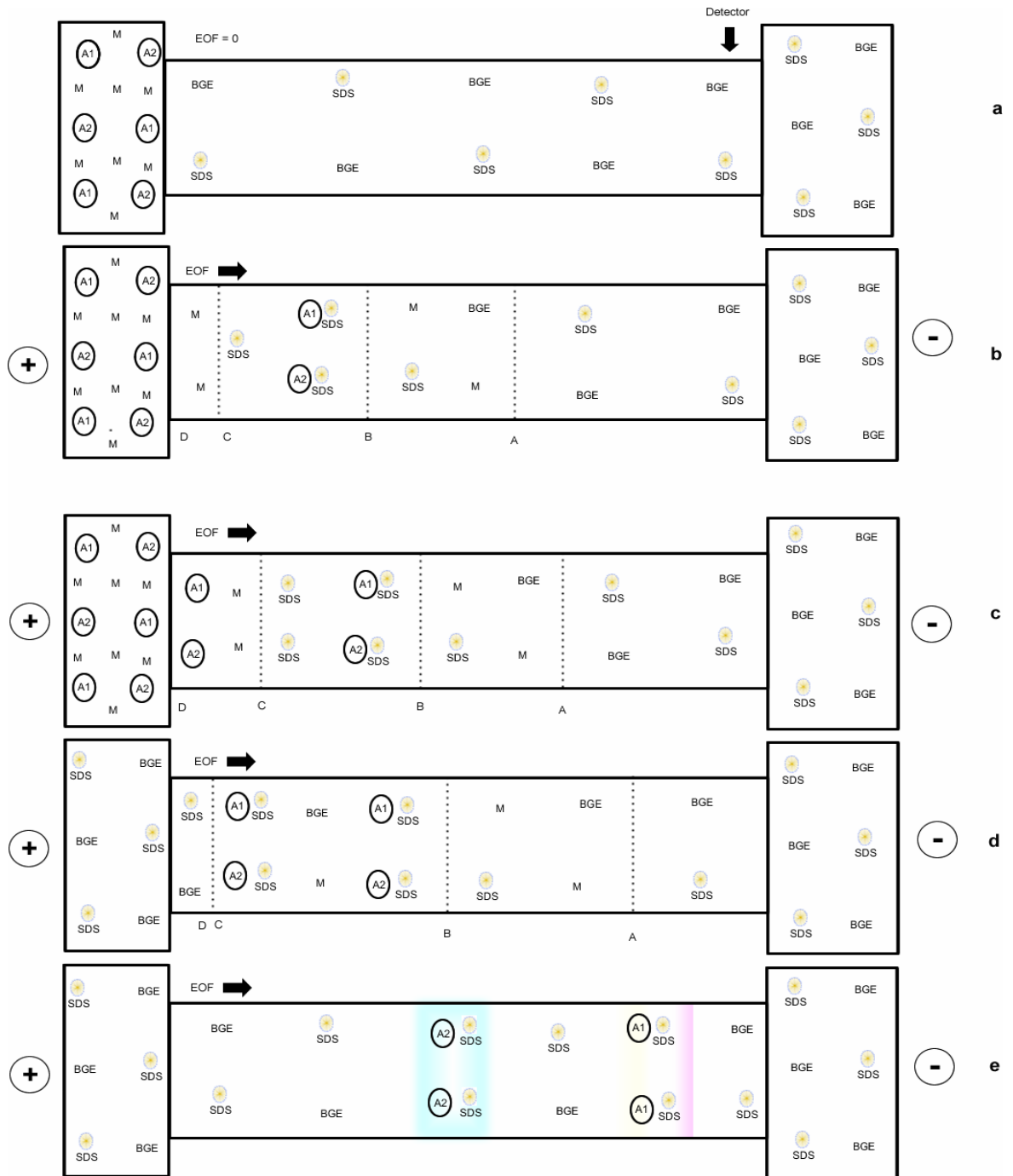


Figura 2 Diagrama del *stacking* electrocinético de analitos neutros conducidos por el flujo electroosmótico seguido por la separación de MEKC, utilizando SDS como surfactante.

electrocinético para los analitos seleccionados) y analitos de alto peso molecular que no sobrecargaron la columna capilar, mientras que la **Ecuación 2** no fue corroborada experimentalmente.

## **2.5. ESPECIES QUÍMICAS DISUELTAS EN AGUAS**

Abarcar en este texto todas las especies químicas disueltas en aguas resultaría un trabajo arduo e inútil. Por lo tanto, solo se hará referencia a los iones y triazinas objetos de estudio.

### **2.5.1. Iones disueltos en aguas**

Como se indicó en párrafos anteriores, entre los principales iones inorgánicos disueltos en aguas se encuentran: cloruro,  $Cl^{1-}$ ; nitrito,  $NO_2^{1-}$ ; sulfato,  $SO_4^{2-}$ ; nitrato,  $NO_3^{1-}$ ; fluoruro,  $F^{1-}$ ; fosfato,  $PO_4^{3-}$ ; amonio,  $NH_4^{1+}$ ; potasio,  $K^{1+}$ ; sodio,  $Na^{1+}$ ; magnesio,  $Mg^{2+}$ ; litio,  $Li^{1+}$ ; estroncio,  $Sr^{2+}$ ; bario,  $Ba^{2+}$ ; y calcio,  $Ca^{2+}$  [19].

Actualmente existe un gran número de metodologías para el análisis de estos iones en aguas, que han sido creadas a lo largo de la historia y con las cuales se ha obtenido la información internacional existente al respecto. En este siglo se continúa con el desarrollo de nuevas metodologías de análisis y con la construcción de instrumentos analíticos con sistemas de inyección, separación y detección más sofisticados y eficaces, que permitan la detección de los analitos a nivel de trazas [88, 89].

La CE, debido a su bajo costo y gran versatilidad, es particularmente una técnica analítica adecuada para el análisis de iones inorgánicos en muestras de agua [90

— 92]. Son muchos los estudios publicados en los que utilizan CE para la determinación de: aniones inorgánicos [93 — 97], cationes inorgánicos [98 — 103] o aniones y cationes simultáneamente [104 — 107]. Otras publicaciones están específicamente dedicadas a la discusión de nuevas metodologías, con las que se analizan iones inorgánicos en muestras reales [4, 36, 44, 108 — 111].

Cabe destacar que muchas de las publicaciones, en las que se utiliza CE para la determinación de iones inorgánicos disueltos en aguas, están enfocadas en buscar las mejores condiciones de separación (composición del electrolito, pH, fuerza iónica) y detección (modo directo e indirecto) de los analitos de interés. Por ello, hoy en día se encuentran diferentes formulaciones para la preparación de electrolitos especiales para el análisis de cationes —en estos, se utilizan modificadores de la movilidad electroforética de los analitos, tales como agentes complejantes: ácidos carboxílicos; ácido  $\alpha$ -hidroxi-isobutírico, HIBA; ácido etilendiaminotetraacético, EDTA; y éteres corona [61, 105]— o el análisis de aniones —en estos, se utilizan ciertos modificadores tanto de la movilidad electroforética (DEA, dietanolamina) como del flujo electroosmótico (CTAB, bromuro de cetiltrimetilamonio) [44, 95]—.

En este trabajo se utilizó CZE para la determinación de los principales iones inorgánicos disueltos en aguas (cloruro,  $Cl^{1-}$ ; nitrito,  $NO_2^{1-}$ ; sulfato,  $SO_4^{2-}$ ; nitrato,  $NO_3^{1-}$ ; fluoruro,  $F^{1-}$ ; fosfato,  $PO_4^{3-}$ ; amonio,  $NH_4^{1+}$ ; potasio,  $K^{1+}$ ; sodio,  $Na^{1+}$ ; magnesio,  $Mg^{2+}$ ; litio,  $Li^{1+}$ ; estroncio,  $Sr^{2+}$ ; bario,  $Ba^{2+}$ ; y calcio,  $Ca^{2+}$ ).

#### **2.5.1.1. Cloruro**

En Colombia, 250 mg/L de  $Cl^{1-}$  es el valor admisible en agua potable [Decreto 475 de 1998]. Este valor está basado únicamente en el cambio de sabor y no en

algún daño fisiológico conocido. La mayoría de las sales cloruro son muy solubles en agua, por lo tanto, en fuentes de agua dulce es común encontrarlo en concentraciones cercanas a 100 ppm [19].

### **2.5.1.2. Nitrito**

En Colombia, 0,1 mg/L de  $NO_2^{1-}$  es el valor admisible en agua potable [Decreto 475 de 1998]. Los nitritos pueden encontrarse en las aguas naturales, aunque generalmente en dosis pequeñas. El ión nitrito es intermediario en el proceso de nitrificación. Es formado, desde el ión nitrato o desde el ión amonio, por microorganismos presentes en el suelo, aguas residuales y en el tracto digestivo humano. Su toxicidad se debe a que, cuando alcanza el torrente sanguíneo reacciona directamente con la hemoglobina y produce meta-hemoglobina, la cual impide el transporte de oxígeno correctamente. La reacción de nitrito con la hemoglobina es muy peligrosa para niños menores de cuatro meses de edad; esto se debe a que el estómago de los infantes tiene un pH alto que permite el crecimiento de microorganismos capaces de convertir el nitrato en nitrito [19].

### **2.5.1.3. Nitrato**

En Colombia, 10 mg/L de  $NO_3^{1-}$  es el valor admisible en agua potable [Decreto 475 de 1998]. Las dos razones por las cuales el nitrato se considera peligroso, son: que puede ser reducido a nitrito y que es un agente potencial en la formación de nitrosaminas, las cuales son cancerígenas. El nitrato de potasio, o salitre, y el nitrato de sodio son los nitratos más importantes comercialmente. Casi todos los nitratos son solubles en agua. Los nitratos de calcio, sodio, potasio y amonio se emplean como fertilizantes que proporcionan nitrógeno para el crecimiento de las

plantas. El nitrato y el amoníaco entran al agua, en mayor proporción, por el ciclo del nitrógeno. En el ciclo del nitrógeno son muy importantes dos gases (nitrógeno molecular y óxido nitroso) y cinco formas de nitrógeno combinado no gaseoso (grupos aminas y amidas, amonio, nitrito y nitrato) [19].

Aunque el nitrato es rápidamente excretado en la orina genera mucha preocupación, ya que es un contaminante inorgánico que se origina de diferentes fuentes: aplicación de fertilizantes, pozos sépticos que no estén funcionando bien, lagunas de retención de desperdicios sólidos no cubiertas por debajo, infiltración de aguas residuales o tratadas [19].

#### **2.5.1.4. Sulfato**

En Colombia, 250 mg/L de  $SO_4^{2-}$  es el valor admisible en agua potable [Decreto 475 de 1998]. Exceptuando las sales de bario y de plomo, la mayoría de las sales inorgánicas del sulfato son muy solubles en agua. El ión sulfato es uno de los principales aniones que se encuentran en aguas naturales, ya que después de estar disuelto en agua es un soluto permanente, salvo cuando el sistema es anaeróbico que: se reduce hasta sulfito y se precipita en sedimentos, se libera a la atmósfera como  $H_2S$  o se incorpora a la materia orgánica en seres vivos. Entre las principales fuentes de  $SO_4^{2-}$  están los sedimentos, desde los cuales se pueden lixiviar el magnesio, sodio y especialmente el sulfato de calcio. Es de importancia en las fuentes de suministro de agua debido a su efecto catártico cuando está presente en cantidades excesivas. El ión sulfato, causa dos problemas asociados con el manejo y tratamiento de aguas residuales: olor, resultante de la reducción de los sulfatos a sulfuro de hidrógeno en condiciones anaerobias, y problemas de corrosión de cañerías [19].

#### **2.5.1.5. Fluoruro**

En Colombia, 1,2 mg/L de  $F^{1-}$  es el valor admisible en agua potable [Decreto 475 de 1998]. La concentración de flúor en agua natural depende principalmente de la solubilidad de las rocas que contengan flúor y con las cuales el agua tenga contacto. Estudios toxicológicos indican que en altas concentraciones, el flúor, causa fluorosis dental y esquelética [19].

#### **2.5.1.6. Fosfato**

En Colombia, 0,2 mg/L de  $PO_4^{3-}$  es el valor admisible en agua potable [Decreto 475 de 1998]. Los vertidos de fosfatos a las aguas naturales pueden causar eutrofización, que es la proliferación de algas en lechos acuáticos. Las plantas acuáticas generaran problemas en las reservas de agua y en aguas almacenadas. En algunos casos, los lagos y reservas de agua recogen fosfatos, en pequeñas cantidades, desde diferentes efluentes y los almacenan hasta alcanzar concentraciones nocivas para las propias plantas. En los últimos tiempos, los efectos ambientales perjudiciales de los fosfatos están relacionados con el amplio uso de detergentes domésticos [19].

#### **2.5.1.7. Amonio**

Las leyes colombianas no han establecido un valor máximo permisible para aguas potables. El amonio ( $NH_4^{1+}$ ) se presenta en variadas concentraciones en aguas subterráneas, aguas superficiales y aguas de desecho. Su presencia en aguas y en sedimentos es atribuida principalmente a la reducción de sustancias orgánicas que contienen nitrógeno, desaminación de aminas e hidrólisis de urea;

además, el amonio es usado en las plantas de tratamiento de agua para la cloración. Su concentración en aguas subterráneas es relativamente baja porque éste se absorbe en el suelo [8]. El criterio de máxima concentración de amonio permisible es únicamente para la protección de vida acuática; todavía no se ha establecido un criterio para la protección de la salud humana (por el consumo de agua o pescado contaminado con amonio) [19].

#### **2.5.1.8. Potasio**

La concentración de potasio ( $K^{1+}$ ) no está limitada por los estándares de agua potable, ya que es un componente vital de los suelos fértiles y además, está presente en todo el tejido vegetal y animal. A los niveles elevados de potasio en el cuerpo se le conoce como hipercaliemia y algunas causas comunes de esto son la disminución de la función renal, una descomposición anormal de las proteínas o una infección severa. La causa más común de la hipercaliemia es la reducción en la función renal, especialmente en pacientes que reciben diálisis por insuficiencia renal [112].

#### **2.5.1.9. Sodio**

Todas las sales de sodio son muy solubles en agua. Su concentración no está limitada por los estándares de agua potable, así que las personas con dietas bajas en sodio pueden requerir de fuentes especiales de agua potable. El alto contenido de cloruros en aguas generalmente está asociado con el ión sodio ( $Na^{1+}$ ). En las aguas dulces, el  $Na^{1+}$  suele variar entre 10-100 mg/L [113].

#### **2.5.1.10. Magnesio**

En Colombia, 36 mg/L de  $Mg^{2+}$  es el valor admisible en agua potable. El cuerpo humano contiene, en promedio, unos 25 g de magnesio. Es el cuarto catión más abundante en el organismo, después del calcio, el sodio y el potasio. La oxidación de los alimentos libera energía, que se almacena en los enlaces de fosfato de alta energía. Se cree que este proceso de fosforilación oxidativa tiene lugar en las mitocondrias de las células y que el magnesio es necesario para esta reacción. En concentraciones superiores a 700 mg/L, el magnesio tiene efectos laxantes [113].

#### **2.5.1.11. Litio**

Aunque, para el  $Li^{1+}$  no se ha estipulado la máxima concentración permisible en aguas, se ha reportado que el litio y el vanadio, en altas concentraciones, tienen cierta correlación con la mortalidad por problemas cardiovasculares [113].

#### **2.5.1.12. Estroncio**

En Colombia no se ha estipulado la máxima concentración de  $Sr^{1+}$  permisible en aguas. La EPA ha establecido un límite de 4 mg/L de  $Sr^{1+}$  en agua potable. La exposición a niveles altos de estroncio estable puede alterar el crecimiento de los huesos en los niños. La exposición al estroncio puede producir defectos de nacimiento u otros efectos sobre el desarrollo en seres humanos. En animales expuestos a estroncio radiactivo se han observado defectos de nacimiento [112].

### 2.5.1.13. Bario

En Colombia, 0,5 mg/L de  $Ba^{2+}$  es el valor admisible en agua potable. La mayoría de los compuestos de bario tienen baja solubilidad en agua pura; pero, en presencia de cloruros, el sulfato de bario aumenta su solubilidad. Los compuestos solubles de bario (hidróxido, cloruro y nitrato) son sumamente tóxicos por vía oral y la dosis letal del cloruro de bario se ha establecido entre 0,8 y 0,9 gramos [113].

### 2.5.1.14. Calcio

En Colombia, 60 mg/L de calcio ( $Ca^{2+}$ ) es el valor admisible en agua potable. El sabor del agua depende, en gran parte, del anión asociado con el calcio. La dureza del agua, se define como la suma de los cationes polivalentes ( $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ) presentes en el agua, aunque, generalmente, el  $Ca^{2+}$  y el  $Mg^{2+}$  están en mayor concentración. Se ha especulado que pequeños incrementos de calcio en la dieta disminuye la circulación y se relacionan de algún modo con las enfermedades cardiovasculares [113].

## 2.6. Triazinas

Las triazinas, son compuestos orgánicos nitrogenados ampliamente utilizados como agentes de control de malezas en diferentes cultivos [114]. Su historia comenzó en 1952 cuando J. R. Geigy S.A. sintetizaron y utilizaron, en forma exploratoria, el primer derivado de las triazinas [115]. En los años 70, la comunidad científica se preocupó por estudiar la eficiencia de las triazinas como herbicidas. En el presente, los estudios están enfocados en los riesgos para la ecología y la salud humana (el  $LD_{50}$  de algunas triazinas se presenta en la **Tabla**

3). Así, por ejemplo, Balduini *et al.* [116] realizaron un estudio con leche materna obtenida del hospital de maternidad, Besançon (Francia). Concluyeron que las triazinas están ampliamente distribuidas en el ambiente y que los niños, cuyo único alimento es la leche materna, están expuestos en su dieta diaria. Por otra parte, los riesgos que estos compuestos representan llevaron a la Comunidad Europea a establecer en 0,1 ppb el máximo nivel de concentración permitida en aguas potables [117].

En general, las triazinas son consideradas compuestos estables. El tiempo de vida media, en zonas de cultivos y condiciones ambientales, puede variar desde semanas hasta meses [118]. La solubilidad en agua (ver **Tabla 3**) es relativamente baja, pero, normalmente los productos de degradación son más solubles. Debido a las características químicas tan similares de estos compuestos (ver **Tabla 3**), es necesario el uso de métodos cromatográficos para su determinación [5]. Actualmente, se hallan reportadas un gran número de metodologías para la determinación de triazinas en aguas [114, 119, 120]. Algunas utilizan HPLC [121] y otras GC [122]. Gonçalves *et al.* [123] han desarrollado un método analítico mediante SPME-GC utilizando dos detectores específicos (ECD, detector de captura electrónica; y TSD, detector selectivo termoiónico), que les permitió determinar un grupo de 36 plaguicidas de diferentes familias (organoclorados, organofosforados, piretroides y triazinas) en muestras de agua. La mayoría de estas metodologías analíticas cumplen con las normas técnicas mínimas requeridas por los organismos de control, para ser utilizadas en análisis de rutina, pero la desventaja que tienen es que son costosas y algunas veces son tediosas, ya que requieren de modificación o derivatización química [121]. El costo de tales metodologías ha hecho que diferentes grupos de investigación profundicen en esta área con el objetivo de encontrar otras más económicas. MEKC, se ha presentado como alternativa viable para el análisis a menor costo [124, 125]. La desventaja de esta técnica es que tiene tendencia a presentar altos límites de detección [126]. No obstante hoy en día existe un gran

número de trabajos publicados a nivel internacional en los que han utilizado MEKC con algún sistema de concentración de la muestra (en línea o fuera de línea), logrando disminuir en varios órdenes de magnitud los LOD. En la **Tabla 4** se muestra algunas ventajas y desventajas de las diferentes técnicas analíticas utilizadas para el análisis de pesticidas.

Entre las técnicas de concentración en línea que se han utilizado están: *sweeping* con el surfactante catiónico TTAB (bromuro de tetradecilamonio) [66], SRW (*stacking* usando micelas migrando en reversa y agua pura) y m-SRMM (modificación del *stacking* con micelas migrando en reversa) [127]. De las técnicas de concentración fuera de línea, las más utilizadas son: SPE (extracción en fase sólida) y SPME (microextracción en fase sólida).

**Tabla 3. Características de algunas triazinas**

Triazina	$LD_{50}^a$ (mg/kg)	pK <sub>a</sub>	$\lambda_{\max}^b$ (nm)	$\xi_{\max}^c$ (M <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )	$LogP_{\frac{oc\ tan\ ol}{agua}}^d$	Solubilidad <sup>e</sup> (µg/mL)
Simazina	>5000	1,65	222	36000	2,30	5
Atrazina	1869 – 3080	1,68	222	41000	2,70	33
Ametrina	965 – 1100	4,00	222	40000	3,07	185
Prometrina	3750	4,05	223	42000	3,34	48
Terbutilazina	2000	1,94	223	19500	3,06	5
Terbutrina	2000	4,40	223	21200	3,74	25

<sup>a</sup> Toxicidad en ratas (dosificación oral). <sup>b</sup> Longitud de onda de máxima absorción.

<sup>c</sup> Absortividad molar máxima. <sup>d</sup> Coeficiente de partición entre agua y octanol.

<sup>e</sup> Solubilidad en agua a 25 °C.

**Tabla 4. Diferencias entre las técnicas analíticas utilizadas en la determinación de triazinas en aguas<sup>a</sup>**

<b>Técnica</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>	<b>Solución</b>
Cromatografía de gases	Alto poder de resolución y habilidad para resolver analitos individuales. Alta sensibilidad y selectividad. Se puede acoplar, fácilmente, a espectrometría de masas para confirmar la identidad de un analito en una muestra desconocida.	Inadecuado para compuestos polares, termolábiles, y compuestos de baja volatilidad. Alto costo, debido al consumo de gases de alta pureza.	Derivatización
Cromatografía líquida	Virtualmente, se puede aplicar a cualquier soluto orgánico, sin tener en cuenta su volatilidad o estabilidad térmica. Las fases, móvil y estacionaria, se pueden modificar.	Insuficiente eficiencia en la separación y en la selectividad. Uso, como fase móvil, de grandes cantidades de solventes costosos y tóxicos	Desarrollo de materiales para la construcción de columnas que sean más eficientes y selectivas.

Continuación de la **Tabla 4.**

<b>Técnica</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>	<b>Solución</b>
Electroforesis capilar	Alta eficiencia de separación. Bajo consumo de reactivos costosos y solventes tóxicos.	Altos límites de detección. Fallas con los detectores selectivos.	Enriquecimiento de muestra (SPE, SPME, <i>stacking</i> ). Desarrollo de métodos para combinar CE con detectores altamente selectivos.

<sup>a</sup> [117]

La SPE es una de las técnicas más comunes para concentrar triazinas, presentes en aguas [117]. Con esta técnica se puede concentrar cientos de veces un analito presente a nivel de trazas y se obtienen altos porcentajes de recuperación. Pero, una de sus desventajas es que los materiales utilizados para el empaquetamiento de la fase sólida son derivados de productos manufacturados para HPLC y están sujetos a todos los problemas observados en la preparación de columnas empacadas de forma reproducible [128]. Turiel *et al.* [126] y Carabias *et al.* [118] utilizaron SPE para concentrar muestras de pesticidas que posteriormente analizaron con MECK acoplado a estrategias de preconcentración en línea (NSM, *stacking* en modo normal; FESI, inyección de muestra por incremento campo; REPSM, modo de *stacking* por inversión de la polaridad del electrodo; y HCSSM, modo de *stacking* por alta conductividad en la muestra). En ambos trabajos reportaron alta reproducibilidad y límites de detección del orden de partes por billón, que son comparables con los obtenidos por HPLC. Carabias *et al.* concluyeron que los porcentajes de recuperación en SPE para los analitos menos polares son independientes del volumen de muestra utilizado.

Por otro lado, la SPME también ha sido utilizada como método de preconcentración de pesticidas en diferentes matrices [117]. Esto se debe a su habilidad para extraer pesticidas a nivel de trazas [129]. Hernández *et al.* [130] combinaron SPME con MECK y diferentes estrategias de preconcentración en línea (NSM, modo de *stacking* normal; FESI, inyección de muestra por incremento de campo; REPSM, modo de *stacking* por inversión de la polaridad del electrodo; RP-SWMMR, modo de *stacking* por remoción de matriz) para el análisis de pesticidas en aguas y en jugos, y reportaron alta reproducibilidad y límites de detección del orden de partes por billón, que al igual que con SPE, son comparables con los obtenidos por HPLC.

Las metodologías de concentración en línea que han alcanzado los más bajos límites de detección, requieren equipos de electroforesis en los cuales sea posible invertir la polaridad de sus electrodos, en una misma corrida. No obstante, en la mayor parte de los casos esta operación no puede ejecutarse. Siendo así, aquellas técnicas en las que se prescinde de la inversión de polaridad resultan notablemente útiles. Es por eso que en este trabajo se presenta EKSI-NA-CCC en línea con MECK para determinar triazinas (simazina, atrazina, ametrina, prometrina, terbutilazina y terbutrina) presentes en agua.

## **2.7. VALIDACIÓN DE LAS METODOLOGÍAS ANALÍTICAS**

Validar una metodología es investigar si se alcanza el propósito analítico y si los resultados tienen un nivel de incertidumbre aceptable [131, 132].

Con la validación se busca asegurar que el método analítico es exacto, específico, reproducible y robusto. La USP (United States Pharmacopeia) define la validación como: “asegurar la confiabilidad del método durante usos normales”, que en otras

palabras “es el proceso de proveer evidencias documentadas de que los métodos cumplen la función para la cual fueron creados”.

En los laboratorios se deben validar las metodologías para cumplir con las exigencias gubernamentales u otras regulaciones; los datos obtenidos llegan a ser parte del paquete de validación de métodos suministrados por las agencias que reglamentan, tal como la FDA (Food and Drug Administration).

La validación, básicamente, consiste en cuatro pasos, de los cuales cada uno es crítico en el éxito de todo el proceso: validación del software, validación y calificación del hardware (instrumentación), validación del método y adecuación del sistema. El proceso empieza con validación del software y calificación del sistema. Luego se valida el método. Finalmente, todo es engranado para la adecuación del sistema [133].

### **2.7.1. Calificación del instrumento**

Antes de utilizar un instrumento, se debe desarrollar la validación del mismo. La calificación se puede realizar de dos formas: holística o modular. La calificación holística consiste en dos pasos: calibración inicial (incluyendo linealidad y precisión) y calificación de corridas (desarrolladas cuando se dejan estándares en intervalos definidos dentro de las corridas). En la calificación modular cada componente es calificado individualmente. En la práctica una combinación de ambas metodologías es comúnmente usada. En la mayoría de los casos, la empresa fabricante entrega el instrumento listo para utilizar [134].

## 2.7.2. Validación del método

Con la validación se busca evaluar la calidad de las metodologías implementadas. Para ello, normalmente es suficiente con obtener la precisión, exactitud, especificidad, LOD, LOQ, linealidad y robustez del método [131, 135]

### 2.7.2.1. Precisión

La precisión es el grado de repetibilidad de un método analítico bajo condiciones de operación normal. Se expresa como porcentaje de coeficiente de variación ( $\% CV$ ) para un número significativo de muestras. Normalmente, la precisión se debe medir en tres diferentes niveles: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad [131, 134].

**Repetibilidad:** Es el resultado del método de operación en un corto intervalo de tiempo bajo las mismas condiciones (es la precisión inter-ensayos). Esto se debe determinar desde un mínimo de nueve determinaciones que cubran el rango especificado por el procedimiento (tres niveles con tres repeticiones cada uno).

**Precisión intermedia:** Es el resultado que se da debido a las variaciones aleatorias dentro del laboratorio. Estas variaciones pueden ser: días diferentes, analistas diferentes, equipo, etc.

**Reproducibilidad:** Se refiere a los resultados obtenidos en diferentes laboratorios. En la documentación de soporte, se debe incluir la desviación estándar, el coeficiente de variación y el intervalo de confianza.

### 2.7.2.2. Exactitud

La exactitud en una metodología analítica puede únicamente ser determinada con referencia a un valor conocido o “valor verdadero”. Una medida exacta es una que al mismo tiempo es precisa y libre de error (bias). La exactitud se puede determinar de dos formas: la primera, por comparación directa con una referencia estándar conocida, tal como una de control de calidad o con material certificado; y segundo, por comparación directa con un estándar analizado con una técnica alternativa que se considere exacta [93].

Para documentar la exactitud, se debe tener un mínimo de nueve determinaciones en un mínimo de tres niveles de concentración que cubren el rango especificado (por ejemplo, tres concentraciones con tres réplicas cada uno). Los datos se reportan como porcentaje de recuperación (% *R*) de la cantidad de muestra adicionada o como la diferencia entre el promedio y el valor verdadero con intervalos de confianza [131].

El % *R* se determina mediante la siguiente ecuación:

$$\% R = \frac{\text{Cantidad Experimental}}{\text{Cantidad Real}} \times 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

### 2.7.2.3. Especificidad

La selectividad y la especificidad son medidas con la cuales se asegura la confiabilidad de una medida en presencia de interferencias. Aunque no es un acuerdo universal, ser específico significa ser 100% selectivo. En otras palabras, la especificidad y selectividad dan una idea de la confiabilidad del método analítico. El término especificidad generalmente se refiere al método que produce

una respuesta para un solo analito, únicamente. Mientras que, el término selectividad es usado para un método que produce respuestas para analitos que pueden ser distinguidos entre sí. Un método es selectivo si cada respuesta se distingue de las otras respuestas. En este caso, el método es adecuado para medir exactamente un analito con menor riesgo de interferencias [131, 134].

#### **2.7.2.4. Límite de detección y límite de cuantificación**

No existe un término analítico o parámetro que tengan la variedad de terminologías y formulaciones que tienen el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ). La Eurachem usa “límites de detección” o “detección límite”. La ISO usa “mínima concentración neta detectable”; mientras que la IUPAC prefiere “mínimo valor (verdadero) detectable”. Sin embargo, todas las organizaciones oficiales se refieren a la misma definición: “la más baja cantidad de analito en una muestra que puede ser detectado pero su valor no puede ser cuantificado exactamente”.

No es cierto –como frecuentemente se piensa— que la detección o la cuantificación es imposible por debajo del límite de determinación; pero, en esos niveles más bajos, la incertidumbre de las medidas de detección y cuantificación son más altas que el valor por sí mismo.

El LOQ corresponde a la mínima cantidad de analito cuantificable con un coeficiente de variación que no supere el 10%. Normalmente, se toma como LOQ el valor que es 10 veces la desviación estándar del blanco [136].

#### **2.7.2.5. Linealidad y rango**

La linealidad y el rango de un procedimiento analítico es su habilidad (dentro de un rango dado) para obtener resultados directamente proporcionales a la cantidad (concentración) de analito en la muestra para las cuales se ha demostrado que el método analítico tiene un nivel adecuado de precisión y exactitud.

Para asegurar la linealidad de un método analítico, se debe calcular la regresión lineal y sus valores residuales. Estos últimos representan la diferencia entre el valor observado y el valor calculado o predicho con la ecuación obtenida de la regresión lineal. La linealidad se confirma si los valores residuales se distribuyen de forma aleatoria, pero, si la distribución tiene tendencia sistemática indica que no es lineal.

#### **2.7.2.6. Robustez**

Se dice que un procedimiento analítico es robusto cuando su funcionamiento es consistente al exponerse a pequeñas variaciones, tales como: días diferentes, analistas, instrumentos, reactivos, variaciones en la preparación de la muestra o material de muestra usado. La robustez da una idea de la confiabilidad durante el uso normal del procedimiento analítico.

### **3. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **3.1. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS**

Para desarrollar este trabajo se utilizó un equipo de electroforesis capilar, CAPEL 105. Además, se utilizaron equipos menores, material de laboratorio, reactivos analíticos y soluciones estándar certificadas.

Todas las soluciones (de trabajo, de lavado y electrolíticas), antes de ser inyectadas en el CAPEL 105, se dejaron en ultrasonido durante cinco minutos, para eliminar todas las burbujas; y luego en reposo cinco minutos más, para alcanzar la temperatura ambiente.

Todos los días, al inicio de cada serie de análisis, se acondicionó la superficie interna del capilar. Para ello se lavó de la siguiente manera: agua (5 min), metanol (5 min), agua (5 min), HCl (1 M, 5 min), agua (5 min), NaOH (1 M, 5 min), agua (5 min) y BGS (30 min). Mientras esto sucedía, al inicio de cada jornada, la lámpara UV se calentaba y estabilizaba su señal.

Después de cada análisis, se lavó el capilar (5 min) con BGS. Esto se hizo para mejorar la reproducibilidad de los tiempos de retención.

El agua utilizada (en las soluciones, para acondicionar el capilar o para purgar el material) fue des-ionizada y tri-destilada. Su conductividad fue menor de 2,0  $\mu\text{S}$  y su pH cercano a 7,0.

### 3.1.1 Equipo de electroforesis capilar

El equipo de electroforesis capilar utilizado es un CAPEL 105 (Lumex, St. Petersburg, Rusia).

El CAPEL 105 esta equipado con un detector ultravioleta (UV), un equipo de control de temperatura, un software para adquisición y análisis de datos, dos fuentes de poder, de alto voltaje, intercambiables y dos capilares.



Figura 3. Equipo de electroforesis capilar, con detector ultravioleta (CAPEL 105, Lumex, St. Petersburg, Rusia).

#### **3.1.1.1. Fuentes de poder**

- a) Fuente de poder de alto voltaje con polaridad negativa: es un dispositivo del CAPEL 105 que genera voltajes constantes, en un rango entre -1 kV y -25 kV.
  
- b) Fuente de poder de alto voltaje con polaridad positiva: es un dispositivo del CAPEL 105 que genera voltajes constantes, en un rango entre +1 kV y +25 kV.

#### **3.1.1.2. Detector**

El CAPEL 105 posee un sistema de detección que consiste en hacer pasar la mitad de un haz de luz ultravioleta, producida por una lámpara de deuterio, a través del capilar (fotometría) y la otra mitad por un camino independiente (referencia). El haz puede fijarse a una longitud de onda, con más o menos 1 nm, en el rango entre 190 y 380 nm.

#### **3.1.1.3. Capilar**

El capilar es de sílice fundida cubierto con poliímdida, excepto en la región del detector y en los extremos. Los extremos tienen un corte perpendicular al eje del capilar. El capilar tiene 75  $\mu\text{m}$  de diámetro interno, 60 cm de longitud total y 50 cm desde el extremo de entrada hasta la ventana de detección, llamada longitud efectiva.

El capilar se puede utilizar indefinidamente y está dispuesto en un casete que encaja herméticamente en el CAPEL 105.

#### **3.1.1.4. Adquisición de datos**

Los datos son recibidos por un software (Chromatography data station, Chrom&Spec for Windows, versión 1.5) en línea con el CAPEL 105.

#### **3.1.2. Equipos menores**

- a) pH/ conductivi-metro, Mettler Toledo MPC227, Suiza.
- b) Evaporador con flujo de nitrógeno, Turbovap LV, Zymark, USA.
- c) Balanza analítica, Mettler Toledo AG 285, Suiza.
- d) Baño de ultrasonido, Ultrasonic LC-20H (frecuencias bajas, entre 50 y 60 Hz; frecuencias altas, hasta 35 kHz), Elma-Singen/Htw, Alemania.
- e) Agitador mecánico, Microtiter, KM1-minishaker-IKA works, USA.
- f) Desionizador de agua, Rovic. Producido por Rothlisberger y Co Ltda. Modelo 30 – A; serie SXP. Perú.
- g) Montaje receptáculo de fibras para SPME, *Supelco Inc.*, Bellefonte, USA.
- h) Plancha de calentamiento con agitación magnética, *Thermolyne, Nouva II stirring hot plate*, Dubuque, IA, USA.

### 3.1.3. Materiales

- a) Membranas de filtración de acetato de celulosa de 0,2  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro, Cellulose acetate syringe filter, Target, National Scientific, USA.
- b) Tubos cónicos (*viales*), plásticos, con capacidad de 1,5 mL, Plastibrand, Alemania.
- c) Pipetas de émbolo, Transferpette, Brand, Alemania.
- d) Frascos plásticos, Nalgene (250 mL).
- e) Fibras para SPME con recubrimientos de PDMS/DVB (65  $\mu\text{m}$ ), *Supelco Inc.*, Bellefonte, USA.

### 3.1.4. Reactivos

#### 3.1.4.1. Reactivos analíticos

- $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ : Hidrógeno fosfato de sodio. Peso molecular 141,96 g/mol. Pureza 99%. Merck, KgaA, Darmstand, Alemania.
- NaOH: Hidróxido de sodio. Peso molecular 40,08 g/mol. Pureza  $\geq 99\%$ . Merck, KgaA, Darmstand, Alemania.
- HCl: Ácido clorhídrico. Peso molecular 36,45 g/mol. Pureza 37% p/v. J. T. Baker, México.

- $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ : *di*-Sodio tetraborato decahidratado. Peso molecular 381,37 g/mol. Pureza  $\geq 99\%$ . Merck, KgaA, Darmstand, Alemania.
  
- $\text{CrO}_3$ : Óxido de cromo (VI). Peso molecular 99,99 g/mol. Pureza  $\geq 99\%$ . Merck, KgaA, Darmstand, Alemania.
  
- $\text{CH}_3\text{OH}$ : Metanol. Peso molecular 32,04 g/mol. Pureza  $\geq 99\%$ . Merck, KgaA, Darmstand, Alemania.
  
- $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$ : Sodio dodecilsulfato, SDS. Peso molecular 288,38 g/mol. Pureza  $\geq 99\%$ . Merck, KgaA, Darmstand, Alemania.
  
- $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ : 1-Propanol. Peso molecular 60,10 g/mol. Pureza  $\geq 99\%$ . Mallinckrodt, París, Francia.
  
- $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_2$ : Dietanolamina, DEA. Peso molecular 105,14 g/mol. Pureza  $\geq 99\%$ . Riedel-deHaën, Alemania.
  
- $\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{BrN}$ : Bromuro de cetiltrimetilamonio, CTAB. Peso molecular 364,46 g/mol. Pureza  $\geq 99$  Merck, KgaA, Darmstand, Alemania.
  
- $\text{C}_7\text{H}_6\text{N}_2$ : Benzimidazol. Peso molecular 118,14 g/mol. Pureza  $\geq 99\%$ . Merck, KgaA, Darmstand, Alemania.
  
- $\text{C}_7\text{H}_6\text{N}_5\text{Cl}$ : Simazina. Peso molecular 201.66 g/mol. Pureza  $\cong 99,8$ . Suministrada por Syngenta S.A, Colombia.

- $C_8H_{14}N_5Cl$ : Atrazina. Peso molecular 215.68 g/mol. Pureza  $\cong$  99,5. Suministrada por Syngenta S.A, Colombia.
- $C_9H_{16}N_5Cl$ : Terbutilazina. Peso molecular 229.71 g/mol. Pureza  $\cong$  99,4. Suministrada por Syngenta S.A, Colombia.
- $C_9H_{17}N_5S$ : Ametrina. Peso molecular 227.33 g/mol. Pureza  $\cong$  99,4. Suministrada por Syngenta S.A, Colombia.
- $C_{10}H_{19}N_5S$ : Prometrina. Peso molecular 241.36 g/mol. Pureza  $\cong$  97,8. Suministrada por Syngenta S.A, Colombia.
- $C_{10}H_{19}N_5S$ : Terbutrina. Peso molecular 241.36 g/mol. Pureza  $\cong$  99,8. Suministrada por Syngenta S.A, Colombia.

### 3.1.4.2. Patrones certificados

**Tabla 5** Especificaciones técnicas y comerciales de las soluciones estándar certificadas, utilizadas como referencia para los diferentes aniones

Anión	Especificaciones técnicas*	Especificaciones comerciales**	
		Nombre	Número de Lote
$Cl^{1-}$	Cloruro de sodio (7647 – 14 – 5) 100 $\mu$ g $Cl^{1-}$ /mL solución	IC- $Cl^{1-}$ –1 X–1 100 mL	B3015039
$NO_2^{1-}$	Nitrito de sodio (7632 – 00 – 0) 100 $\mu$ g $NO_2^{1-}$ /mL solución	IC- $NO_2^{1-}$ –1 X–1 . 100 mL	B3035092

Continuación de la **Tabla 5**

Anión	Especificaciones técnicas*	Especificaciones comerciales**	
		Nombre	Número de Lote
$SO_4^{2-}$	Sulfato de potasio (10233 – 01 – 9) 100 $\mu$ g $SO_4^{2-}$ /mL solución	IC- $SO_4^{2-}$ -1 X-1 100 mL	B2045019
$NO_3^{1-}$	Nitrato de sodio (7631 – 99 – 4) 100 $\mu$ g $NO_3^{1-}$ /mL solución	IC- $NO_3^{1-}$ -1 X-1 100 mL	B3015040
$F^{1-}$	Fluoruro de sodio (7681 – 49 – 4) 100 $\mu$ g $F^{1-}$ /mL solución	IC- $F^{1-}$ -1 X-1 100 mL	B2045072
$PO_4^{3-}$	Fosfato de potasio (7778 – 77 – 0) 100 $\mu$ g $PO_4^{3-}$ /mL solución	IC- $PO_4^{3-}$ -1 X-1 100 mL	B1065089

\* Todas las soluciones fueron preparadas con agua (7732 – 18 – 5).

\*\* Comercializadas como soluciones estándar de referencia para cromatografía iónica (ION CHROMATOGRAPHY STANDARD) por AccuStandard, Inc. USA.

**Tabla 6** Especificaciones técnicas y comerciales de las soluciones estándar certificadas, utilizadas como referencia para los diferentes cationes

Cación	Especificaciones técnicas*	Especificaciones comerciales**	
		Nombre	Número de Lote
$NH_4^{1+}$	Cloruro de amonio (12125 – 09 – 9) 100 $\mu$ g $NH_4^{1+}$ /mL solución	IC- $NH_4^{1+}$ -1 X-1 100 mL	B3075031
$K^{1+}$	Nitrato de potasio (7757 – 79 – 1) Ácido nítrico (7697 – 37 – 2) 100 $\mu$ g $K^{1+}$ /mL solución	IC- $K^{1+}$ -1 X-1 100 mL	B3055046

Continuación de la **Tabla 6**

Cación	Especificaciones técnicas*	Especificaciones comerciales**	
		Nombre	Número de Lote
$Na^{1+}$	Nitrato de sodio (7631 – 99 – 4)	IC- $Na^{1+}$ -1 X-1	B2025025
	Ácido nítrico (7697 – 37 – 2)	100 mL	
	100 $\mu$ g $Na^{1+}$ /mL solución		
$Mg^{2+}$	Nitrato de magnesio hexahidratado (13446 –18 – 9)	IC- $Mg^{2+}$ -1 X-1	B3055030
	Ácido nítrico (7697 – 37 – 2)	100 mL	
	100 $\mu$ g $Mg^{2+}$ /mL solución		
$Li^{1+}$	Carbonato de litio (554 – 13 – 2)	IC- $Li^{1+}$ -1 X-1	B3055029
	Ácido nítrico (7697 – 37 – 2)	100 mL	
	100 $\mu$ g $Li^{1+}$ /mL solución		
$Sr^{2+}$	Nitrato de estroncio (10042 – 76 – 9)	IC- $Sr^{2+}$ -1 X-1	B3055031
	Ácido nítrico (7697 – 37 – 2)	100 mL	
	100 $\mu$ g $Sr^{2+}$ /mL solución		
$Ba^{2+}$	Nitrato de bario (10022 – 31 – 8)	IC- $Ba^{2+}$ -1 X-1	B3055032
	Ácido nítrico (7697 – 37 – 2)	100 mL	
	100 $\mu$ g $Ba^{2+}$ /mL solución		
$Ca^{2+}$	Carbonato de calcio (471 – 34 – 1)	IC- $Ca^{2+}$ -1 X-1	B2025024
	Ácido nítrico (7697 – 37 – 2)	100 mL	
	100 $\mu$ g $Ca^{2+}$ /mL solución		

\* Todas las soluciones fueron preparadas con agua (7732 – 18 – 5).

\*\* Comercializadas como soluciones estándar de referencia para cromatografía iónica (ION CHROMATOGRAPHY STANDARD) por AccuStandard, Inc. USA.

### 3.2. DETERMINACIÓN DE ANIONES Y CATIONES POR CZE

En esta sección se presentan las metodologías para determinar aniones (cloruro,  $Cl^{1-}$ ; nitrito,  $NO_2^{1-}$ ; sulfato,  $SO_4^{2-}$ ; nitrato,  $NO_3^{1-}$ ; fluoruro,  $F^{1-}$ ; y fosfato,  $PO_4^{3-}$ ) y cationes (amonio,  $NH_4^{1+}$ ; potasio,  $K^{1+}$ ; sodio,  $Na^{1+}$ ; magnesio,  $Mg^{2+}$ ; litio,  $Li^{1+}$ ; estroncio,  $Sr^{2+}$ ; bario,  $Ba^{2+}$ ; y calcio,  $Ca^{2+}$ ) disueltos en agua, mediante CZE.

#### 3.2.1. Soluciones

Se utilizaron reactivos grado analítico para preparar una solución estándar independiente de 100 ppm para cada ión.

Las soluciones de trabajo (o muestras) eran mezclas de soluciones estándar de cada ión. A menos que se especifique otra cosa, cada solución de trabajo contenía, mínimo, tres aniones y se prepararon diariamente.

#### 3.2.2. Condiciones analíticas

Las **Tablas 7 y 8** muestran las condiciones de trabajo para la determinación de aniones y cationes, respectivamente, por electroforesis capilar en zona. A excepción del tiempo de inyección, el voltaje de análisis y el tiempo de análisis, todas las condiciones se fijaron de acuerdo a lo recomendado por *Lumex Applications* [60]. Esto se hizo teniendo en cuenta que el número de condiciones de trabajo es extenso (composición del electrolito, pH del electrolito, fuerza iónica del electrolito, modificador del flujo electroosmótico, modo de inyección –tiempo, presión, voltaje–, voltaje de análisis) y cada una de ellas ha sido explorada en diferentes centros de investigación a nivel internacional [93]

**Tabla 7. Condiciones analíticas para la determinación de aniones en agua, mediante CZE**

<b>Parámetro</b>	<b>Condiciones de trabajo</b>
<b>Composición del electrolito o <i>buffer</i> de análisis (BGS)</b>	CrO <sub>3</sub> , 5 mM; DEA, 20 mM; CTAB, 1,65 mM; pH, 5,50; y conductividad, 1500 μS
<b>Temperatura de análisis (°C)</b>	20
<b>Inyección de la muestra</b>	Modo hidrodinámico, 30 mBar
<b>Tiempo de inyección (s)</b>	15
<b>Voltaje de análisis (kV)</b>	-16
<b>Tiempo de análisis (min)</b>	8
<b>Detección</b>	Indirecta; 254 nm

**Tabla 8. Condiciones analíticas para la determinación de cationes en agua, mediante CZE**

<b>Parámetro</b>	<b>Condiciones de trabajo</b>
<b>Composición del electrolito o <i>buffer</i> de análisis (BGS)</b>	Benzimidazol, 6 mM; Ácido Tartárico, 2,5 mM; éter, 18-corona-6, 2mM; pH, 5,01; y conductividad, 778 μS
<b>Temperatura de análisis (°C)</b>	20 °C
<b>Inyección de la muestra</b>	Modo hidrodinámico, 30 mBar, 0 kV
<b>Tiempo de inyección (s)</b>	10
<b>Voltaje de análisis (kV)</b>	10
<b>Tiempo de análisis (min)</b>	17
<b>Detección</b>	Indirecta; 254 nm

### 3.2.3. Validación de la metodología

Cada una de las metodologías fue validada teniendo en cuenta los siguientes parámetros: precisión, exactitud, especificidad, linealidad y rango, límite de detección, límite de cuantificación y robustez.

#### 3.2.3.1. Precisión

Se prepararon tres series de soluciones de trabajo en concentraciones diferentes. Se inyectó cada mezcla y se determinó el porcentaje de coeficiente de variación (% CV) de las áreas corregidas con el tiempo de retención (ver **Anexo 1**).

$$\% CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde,  $s$ , es la desviación estándar muestral y  $\bar{x}$  es el valor promedio.

#### 3.2.3.2. Exactitud

Se prepararon, de forma independiente, tres series de soluciones, con soluciones estándar certificadas. Se inyectó cada mezcla y se comparó la concentración real contra la concentración predicha por la ecuación de la curva de calibración de cada ión (ver **Anexo 1**).

#### 3.2.3.3. Especificidad

Se utilizó el método de adición estándar para determinar la concentración de cada ión en presencia de otros iones en agua. Las **Figuras 4 y 5** muestran los electroforegramas típicos para los aniones y los cationes, respectivamente,

analizados en este trabajo. Cada pico es identificado por comparación con patrones corridos individualmente.

#### 3.2.3.4. Linealidad y rango

Se estudió la linealidad del método inyectando mezclas de iones en diferentes concentraciones. Para ello, se prepararon tres series independientes en concentraciones de analitos entre 0,1 y 70,0 ppm (ver **Anexo 2**). Cada solución fue inyectada una vez. La curva de calibración, para cada especie, fue obtenida de graficar concentración *versus* área de cada pico corregida con su tiempo de retención.

#### 3.2.3.5. Límites de detección y cuantificación

Los límites de detección y cuantificación, para cada especie, se definieron como 3 y 10 veces, respectivamente, la desviación estándar de su curva de calibración [134, 136].

A continuación se describe la metodología usada para calcular la desviación estándar de cada curva de calibración, el LOD y el LOQ de cada ión. Mediante la **Ecuación 5**, se calculó, el valor relativo de la ordenada ( $y_{rik}$ ) en cada concentración  $i$  ( $i$  varía desde 0 hasta  $h$  ppm) para la réplica  $k$  ( $k=1,2$  y  $3$ ). La desviación estándar ( $s$ ) fue hallada a través de la **Ecuación 6**. Finalmente, LOD y el LOQ se obtuvieron a partir de las **Ecuaciones 7 y 8**, respectivamente.

$$y_{rik} = \left( y_{ik} - \bar{y}_{ik} \right)$$

**Ecuación 5**

$$s = \sqrt{\frac{\left( \sum_{i=0}^h \sum_{k=1}^3 (y_{rik})^2 \right)}{(3*n) - 1}}$$

**Ecuación 6**

$$LOD = \frac{3*s}{b}$$

**Ecuación 7**

$$LOQ = \frac{10*s}{b}$$

**Ecuación 8**

Donde,  $y_{ik}$  es el valor de la ordenada en la concentración  $i$  y réplica  $k$ .  $\overline{y_{ik}}$  es el

valor promedio  $\left( \overline{y_{ik}} = \frac{\sum_{k=1}^3 y_{ik}}{3} \right)$  de las ordenadas de concentración  $i$ .  $n$  es el número

de concentraciones en la curva de calibración. Finalmente,  $b$  es la pendiente de la recta en la curva de calibración.

### 3.2.3.6. Robustez

La solución de trabajo, utilizada en la determinación de la robustez de la metodología para la determinación de aniones en agua mediante CZE, contenía 10 ppm de cada uno de los aniones  $Cl^{1-}$ ,  $NO_2^{1-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^{1-}$ ,  $F^{1-}$  y  $PO_4^{3-}$ . De igual forma, la solución de trabajo, utilizada en la determinación de la robustez de la metodología para la determinación de cationes en agua mediante CZE, contenía 10 ppm de cada uno de los cationes  $NH_4^{1+}$ ,  $K^{1+}$ ,  $Na^{1+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Li^{1+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ .

Para determinar la robustez, se evaluó cada una de las metodologías propuestas para la determinación de las especies aniónicas y catiónicas, pero variando el voltaje de análisis y el tiempo de inyección, como se muestra en la **Tabla 9**. Los resultados se presentan en el **Anexo 3**.

**Tabla 9. Tiempos de inyección y voltajes de análisis evaluados para la determinación de iones presentes en agua, mediante CZE**

<b>Iones</b>	<b>Voltajes de análisis (kV)</b>	<b>Tiempos de inyección (s)</b>
<b>Aniones</b>	-14, -15, -16, -17, -18, -19, -20	5, 10, 15
<b>Cationes</b>	10, 11, 12, 14, 15, 16, 17	

### **3.2.4. Determinación de iones en muestras reales**

#### **3.2.4.1. Preparación de la muestra**

Las muestras se tomaron de los acueductos Morrorrigo y Piedecuesta, en frascos plásticos, como lo recomienda Eaton *et al.* [137]. Se filtraron con una membrana, de acetato de celulosa de 0,20  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro. Se tomaron alícuotas de 500  $\mu\text{L}$  y se analizaron directamente en CE. No se realizó ningún procedimiento de concentración de los iones.

#### **3.2.4.2. Determinación de aniones**

La **Tabla 7** muestra las condiciones utilizadas para la determinación de los aniones  $\text{Cl}^{-}$ ,  $\text{NO}_2^{-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^{-}$ ,  $\text{F}^{-}$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  en muestras de agua.

### 3.2.4.3. Determinación de cationes

La **Tabla 8** muestra las condiciones utilizadas para la determinación de los cationes  $NH_4^{1+}$ ,  $K^{1+}$ ,  $Na^{1+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Li^{1+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  y  $Ca^{2+}$  en muestras de agua.

## 3.3. DETERMINACIÓN DE TRIAZINAS

En esta sección se presenta la metodología para determinar las triazinas simazina, atrazina, ametrina, prometrina, terbutilazina y terbutrina, presentes en aguas, mediante inyección electrocinética con *stacking* de analitos neutros en condiciones de conductividad continua (EKSI-NA-CCC) en línea con MEKC.

### 3.3.1. Soluciones de trabajo

Con reactivos grado analítico, se prepararon soluciones estándar independientes de 100 ppm para cada una de las triazinas. Se usó metanol como solvente. Todas las soluciones se almacenaron en nevera (4 °C) y protegidas de la luz. Cada 15 días eran renovadas todas las soluciones estándar.

Las soluciones de trabajo se prepararon diariamente de la siguiente forma: se mezclaron y se diluyeron adecuadamente con metanol las soluciones estándar de cada triazina. Luego, en el concentrador de nitrógeno (con 5 psi de presión de entrada del  $N_2$  y 30°C de temperatura), se eliminó el solvente. En seguida, el residuo se disolvió en una solución *buffer* matriz, que tenía conductividad equivalente a la del BGS (*buffer* de análisis) y que también era preparada diariamente.

### **3.3.2. Selección de las condiciones analíticas para la determinación de triazinas**

Se evaluaron paso a paso algunas condiciones analíticas, con el objetivo de obtener electroforegramas con buena resolución, picos simétricos, tiempo de análisis corto (menor de 20 minutos) y límites de detección bajos.

Para obtener un *buffer* de separación adecuado, se exploró la concentración de borato-fosfato y SDS. Para lograr eficiencia en el proceso de concentración en línea, se exploraron las siguientes condiciones: volumen de muestra en el *vial* de inyección, voltaje de análisis, voltaje y tiempo de inyección.

Las demás condiciones del proceso se fijaron desde el principio. Entre ellas tenemos: temperatura de análisis, 25 °C; pH del buffer y de la muestra, 9,50; naturaleza del *buffer* de análisis, borato–fosfato; surfactante, SDS; modificador orgánico, 1-propanol; y modo de inyección, electrocinético.

El pH del BGS se ajustó con NaOH (1M) o HCl (1M), antes de adicionar el modificador orgánico y el SDS. Una mezcla equimolar entre borato y fosfato (1,0 M), se utilizó para ajustar la conductividad de la matriz de muestra similar a la del *buffer* de análisis.

#### **3.3.2.1. Extracción de triazinas mediante SPME**

Se utilizó un montaje receptáculo de fibras para SPME (microextracción en fase sólida) con una fibra de de PDMS/DVB (65 µm), como técnica de concentración de muestra fuera de línea. Se realizó un diseño experimental (diseño central compuesto rotatorio, fraccionado [138]) para seleccionar las mejores condiciones para la extracción y desorción de las triazinas en aguas. Las variables evaluadas

en el diseño fueron: temperatura de extracción, temperatura de desorción, concentración de sal, tiempo de extracción y tiempo de desorción. Las demás condiciones experimentales (cantidad de muestra, 12 g; cantidad de solvente de desorción, 700 mg; solvente de desorción, metanol; velocidad de agitación en la extracción, 700 rpm; velocidad de agitación en la desorción, 300 rpm) se fijaron adecuadamente. Se escogió como observable el área total de los picos en cada electroforegrama. Y por ende, las mejores condiciones fueron aquellas que produjeron el electroforegrama con mayor área total.

Antes de la primera medición la fibra fue acondicionada en metanol durante 30 min, y entre extracciones se limpiaba tres veces con metanol por 10 minutos. El pH se ajustó a 7,0 con NaOH (1 M). El diseño experimental para la extracción con SPME, se realizó con agua enriquecida con 100 ppb de cada una de las triazinas (simazina, atrazina, ametrina, prometrina, terbutilazina y terbutrina).

Después de la desorción de la fibra, se evaporó el solvente con flujo de nitrógeno (a 5 psi y 30 °C). Los analitos fueron disueltos en 700 mg de buffer de borato-fosfato (11 mM) y metanol (0,3 %p/p). Esta solución fue analizada por EKSI-NA-CCC en línea con MEKC, bajo las siguientes condiciones: voltaje de inyección, 10 kV; tiempo de inyección, 150 s; voltaje de análisis, 25 kV; temperatura de análisis, 25 °C; y longitud de onda de detección, 222 nm.

### **3.3.3. Determinación de triazinas en muestras reales**

Las muestras de agua se tomaron del grifo en cantidades de 100 mL. Se filtraron con una membrana, de acetato de celulosa de 0,20  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro. Luego se realizó el procedimiento de SPME bajo las condiciones de extracción y desorción establecidas. Finalmente, se analizaron por EKSI-NA-CCC en línea con MEKC bajo las condiciones descritas en el numeral **3.3.2.1**.

Las siguientes son las condiciones de extracción y desorción establecidas para el procedimiento con SPME: cantidad de muestra, 12 g; pH, 7; agitación en la extracción, 700 rpm; tiempo de extracción, 72,5 min; temperatura de extracción, 60 °C; cantidad de NaCl, 5 %p/p; temperatura de desorción, 25 °C; solvente de extracción, metanol; cantidad de solvente de desorción, 1000 mg; agitación en la desorción, 400 rpm; tiempo de desorción, 20 min. Luego, se evaporó el solvente en el concentrador de nitrógeno (a 5 psi y 30 °C). En seguida, los analitos se disolvieron en 700 mg de una solución *buffer* de borato (11 mM), fosfato (11 mM) y metanol (0,3 %p/p). Finalmente, se analizaron por EKSI-NA-CCC en línea con MEKC.

## 4. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 4.1. DETERMINACIÓN DE ANIONES Y CATIONES POR CZE

En esta sección, se presentan los resultados obtenidos en la validación de las metodologías para determinar los aniones (cloruro,  $Cl^{1-}$ ; nitrito,  $NO_2^{1-}$ ; sulfato,  $SO_4^{2-}$ ; nitrato,  $NO_3^{1-}$ ; fluoruro,  $F^{1-}$ ; y fosfato,  $PO_4^{3-}$ ) y los cationes (amonio,  $NH_4^{1+}$ ; potasio,  $K^{1+}$ ; sodio,  $Na^{1+}$ ; magnesio,  $Mg^{2+}$ ; litio,  $Li^{1+}$ ; estroncio,  $Sr^{2+}$ ; bario,  $Ba^{2+}$ ; y calcio,  $Ca^{2+}$ ), presentes en agua, mediante electroforesis capilar en zona.

#### 4.1.1. Corrección del área del pico con el tiempo de retención

Para efectos de cuantificación es necesario hacerle una corrección, mediante la **Ecuación 9** [46], al área de cada pico en todos los electroforegramas. Esto se realiza debido a que el área de un pico tiene relación inversa con la velocidad efectiva de migración ( $V_{eff}$ ) de dicho pico. Esto es, entre más lento sea el movimiento de una zona mayor será su área.

$$A_{corr,i} = \frac{A_i}{T_{ri}} \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde,  $A_{corr,i}$ ,  $A_i$  y  $T_{ri}$ , representan el área corregida, el área y el tiempo de retención del pico  $i$ -ésimo, respectivamente.

Esta corrección es necesaria ya que la  $V_{eff}$  de cada ión está influenciada por muchos parámetros difíciles de controlar puntualmente, tales como: la temperatura interna del capilar [139], el pH [140] y las propiedades de la superficie interna del capilar [58].

Las propiedades de la superficie interna del capilar, tienen influencia sobre la velocidad de migración, probablemente porque cambian la velocidad del EOF ( $V_{EOF}$ ) y esto causa variaciones en la  $V_{eff}$  mediante:

$$V_{eff} = V_{EOF} + V_{ep} = (\mu_{EOF} + \mu_{ep}) \cdot E \quad \text{Ecuación 10 [38]}$$

Donde,  $V_{ep}$  es la velocidad electroforética;  $\mu_{EOF}$  y  $\mu_{ep}$  representan la movilidad electroosmótica y electroforética, respectivamente; y  $E$  es el campo eléctrico aplicado a través del capilar.

Por otro lado, el pH en el interior del capilar cambia debido a la electrólisis del BGS causada por la aplicación del voltaje de separación. La electrólisis disminuye el pH en el extremo anódico (donde los iones hidrógeno se forman) y lo aumenta en el otro extremo (donde los iones hidroxilo se forman), dando como resultado, modificación de las velocidades  $V_{EOF}$  y  $V_{ep}$ .

En cuanto a la temperatura interna del capilar, puede subir hasta 45 °C por encima de la temperatura ambiente cuando se aplica un voltaje de separación de -15 kV durante 20 segundos [139], generando una variación en las velocidades  $V_{EOF}$  y  $V_{ep}$ . Obviamente, estos cambios de temperatura tan drásticos dependen de las condiciones experimentales. Pero en todos los casos, se genera un caos dentro del capilar que disminuye la reproducibilidad de la línea base y el área de cada pico.

#### 4.1.2. Corrección del tiempo de retención

En un electroforegrama, el tiempo de retención de un pico es la referencia para asignar un analito a dicho pico. Pero, el tiempo de retención para un analito dado se ve afectado por muchos factores que no son tenidos en cuenta a la hora de comparar los valores numéricos. Por ejemplo, en un sistema dado, cada componente diferente del analito dentro del capilar es tratado en las ecuaciones lineales de transporte como un ente con masa y no como una especie individual con carga [38, 141]. Es decir, cualquier constituyente (ejemplo:  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ) es tratado como uno, sin contar que es ácido, base o anfótero y que tiene alguna valencia. Pero la realidad es que la movilidad efectiva de cada constituyente es fuertemente dependiente de su carga, de su concentración y de la concentración y carga de todos los constituyentes presentes [47]. Esto trae inherentemente la no linealidad del proceso de separación y consecutivamente de las ecuaciones de transporte que describen el movimiento de los constituyentes. De igual manera, el BGS es tratado como si actuara únicamente como un medio pasivo llevando y permitiendo la separación de los analitos y no se tiene en cuenta que el BGS influye el movimiento de los analitos debido a las fuertes interacciones coulombicas entre los iones para mantener neutralidad electrónica en un volumen de solución macroscópico. En este caso, la consecuencia más importante para los iones inorgánicos, con detección indirecta, es la dispersión de los picos por electromigración, con ampliación y deformación de la zona hasta convertirlos en triángulos [142]. Esto, disminuye la reproducibilidad del tiempo de retención para el mismo analito en diferentes concentraciones. Pero, por ahora es imposible encontrar una ecuación que gobierne y de solución concreta a estos problemas.

Por otro lado, el perfil electroforético para cualquier muestra es altamente reproducible; es decir, si el tiempo de retención del primer pico en el

electroforegrama se modifica, también lo hacen sistemáticamente los demás picos. Esto hace que se pueda utilizar la **Ecuación 11** para obtener mayor reproducibilidad en el tiempo de retención de cada analito.

$$t_{R,i}^{corr} = \frac{t_{R,i}}{t_{R,n}} \quad \text{Ecuación 11}$$

Donde,  $t_{R,i}^{corr}$  es el tiempo de retención corregido del pico  $i$  ( $i$  varía desde 1 hasta  $n$ );  $t_{R,i}$ , es el tiempo de retención del pico  $i$ ; y  $t_{R,n}$ , es el tiempo de retención del pico  $n$ .

#### 4.1.3. Condiciones analíticas

Las condiciones experimentales que se deben tener en cuenta en la implementación de las metodologías para la determinación de aniones y cationes inorgánicos presentes en agua, mediante electroforesis capilar, están agrupadas en tres categorías: las relacionadas con el sistema (dimensiones del capilar, temperatura, voltaje, modo de inyección, sistema de detección), las relacionadas con el *buffer* de análisis (pH, fuerza iónica, naturaleza, concentración, aditivos, co-ión y contra-ión) y las relacionadas con la muestra (pH, fuerza iónica, composición de la matriz). Aunque en este trabajo, estas últimas no se modificaron, vale decir que todas son muy importantes y por lo tanto deben ser diligentemente seleccionadas, con miras específicas. No obstante, hoy en día, pasadas 1,8 décadas de la comercialización del primer equipo de electroforesis capilar [45], la labor de selección no es muy ardua, ya que existe un gran número de publicaciones a nivel internacional que, sin pretenderlo, las han encasillado en rangos apropiados de trabajo. Por supuesto que esto no quiere decir que el capítulo está cerrado y que se ha dado la última palabra en cuanto a condiciones experimentales para determinación de iones por electroforesis capilar.

En la implementación de la metodología para la determinación de aniones ( $Cl^{1-}$ ,  $NO_2^{1-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^{1-}$ ,  $F^{1-}$  y  $PO_4^{3-}$ ) presentes en muestras de agua, mediante CZE, se seleccionaron, se fijaron y se controlaron cuidadosamente, cada una de las condiciones que aparecen en la **Tabla 7**. De la misma forma, se hizo en la implementación de la metodología para la determinación de cationes ( $NH_4^{1+}$ ,  $K^{1+}$ ,  $Na^{1+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Li^{1+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ ), pero se usaron las condiciones que aparecen en la **Tabla 8**.

El cromato y el benzimidazol fueron utilizados como agentes cromóforos de los BGS, en la determinación de aniones y cationes, respectivamente. Estos fueron seleccionados porque su movilidad electroforética es similar a la de los iones estudiados; además, poseen una alta absorptividad molar en un amplio rango de la región UV, región en la cual las especies de estudio tienen baja absorptividad.

En el BGS con cromato, se adicionó CTAB (bromuro de cetiltrimetilamonio) para invertir la dirección del EOF y así disminuir el tiempo de análisis de los aniones.

Por otra parte, en el BGS con benzimidazol, se adicionó éter corona (18-corona-6) con el fin de aumentar la separación de algunos cationes de los grupos 1 A y 2 A de la tabla periódica. Además este éter mejora la separación de los cationes  $NH_4^{1+}$  y  $K^{1+}$ .

#### 4.1.4. Precisión

La repetibilidad para los aniones y los cationes fue evaluada como la desviación estándar relativa del área de los picos corregida con sus tiempos de retención,  $A_{corr,i}$  para el análisis de tres soluciones en tres días distintos, con diferentes concentraciones de cada ión. Los resultados se muestran en el **Anexo 1 (Tablas**

**12 y 13).** Allí también se muestra que el coeficiente de variación (% CV) es menor que 5 en todos los casos, lo que significa que las metodologías tienen reproducibilidad aceptable.

#### **4.1.5. Exactitud**

La exactitud fue evaluada como el porcentaje de recuperación (% *R*) de cada una de las metodologías. Los resultados se muestran en el **Anexo 1 (Tablas 14 y 15)**. Para ello, se prepararon por dilución y de forma independiente tres soluciones con patrones estándar certificados. Se inyectó cada mezcla y se calculó el porcentaje de recuperación mediante la **Ecuación 3**.

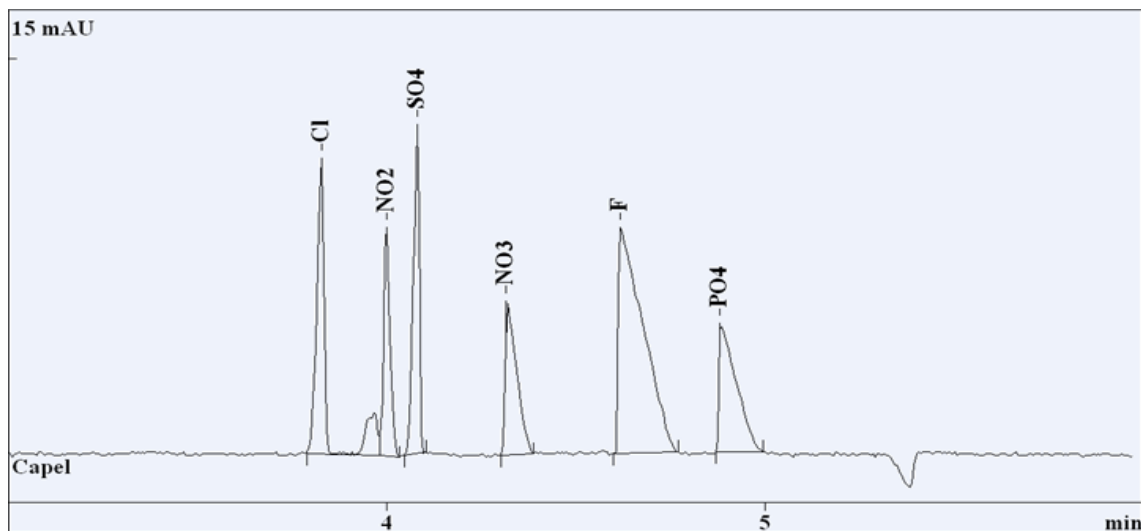
En el caso de los aniones se observa que en concentraciones altas, los % *R* están cercanos a 100 %. Mientras que en concentraciones bajas, los % *R* disminuyen notablemente. Esto se debe, probablemente, a que el nivel de ruido en la línea base en cada electroforegrama es muy alto comparado con los picos de los analitos en concentraciones bajas. Cuando se hace la integración de las áreas se introduce un pequeño error en el comienzo y en el final de cada pico, lo cual aumenta o disminuye levemente las áreas reales. Pero como las áreas son tan pequeñas, cualquier variación genera un cambio significativo.

Por otra parte, la exactitud de la metodología para la determinación de los cationes, fue evaluada de dos formas. Primero se analizó una solución, con concentraciones conocidas de todos los cationes bajo estudio ( $NH_4^{1+}$ ,  $K^{1+}$ ,  $Na^{1+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Li^{1+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ ). Allí se observa que los porcentajes de recuperación para la mayoría son cercanos al 100 %. Pero los cationes  $Mg^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  y  $Ca^{2+}$  tienen % *R* cercanos al 90 %. Para el caso del  $Mg^{2+}$ , probablemente se deba a un pequeño solapamiento que tiene con el  $Li^{1+}$ , lo cual hace que las

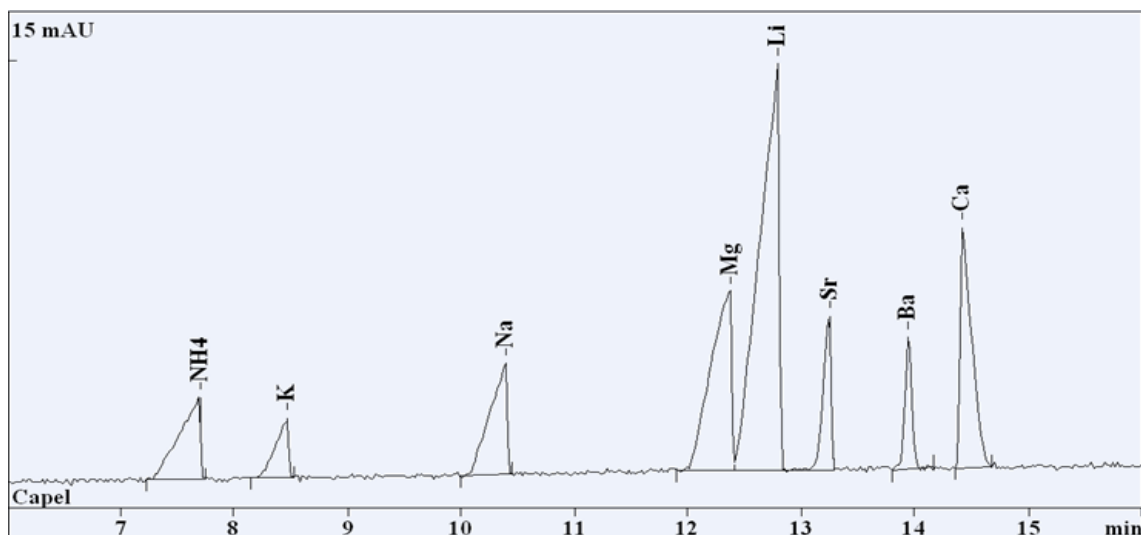
áreas varíen levemente. Después, se analizaron dos soluciones que solamente contenían cinco cationes, de los cuales cuatro son los que frecuentemente están en las aguas para consumo humano. En estos casos se observa que los % *R* para el  $Mg^{2+}$  fueron cercanos al 100 %, lo que confirma lo anterior. Cabe resaltar que los cationes aunque estaban en concentraciones bajas, tuvieron % *R* más altos que para el caso de los aniones. Esto se debe, probablemente, a que los picos para los cationes son más anchos y sus áreas mayores que para el caso de los aniones, lo que hace que la variación que se introduce a la hora de hacer la integración del pico no ejerza un cambio significativo en la cuantificación. En resumen, ambas metodologías presentan una exactitud aceptable.

#### **4.1.6. Especificidad**

Las metodologías analíticas implementadas en este trabajo, para el análisis de iones en aguas mediante electroforesis capilar, consisten en mediciones que no están precedidas de un proceso de aislamiento del analito. Por ello, en este caso se habla de selectividad-especificidad de la etapa de medición. Para tal fin, a cada analito se le atribuyó una señal producida en la medición de patrones certificados (ver **Figuras 4 y 5**). Se debe tener en cuenta que electroforesis capilar es una técnica analítica no confirmatoria. Ya que, para una muestra desconocida, no es posible establecer que una señal se debe únicamente a un analito y no a la presencia, por coincidencia, de algún agente químico o físico.



**Figura 4. Separación de aniones mediante CZE. Condiciones de análisis:** inyección en modo hidrodinámico, 0 kV, 3000 Pa, 15 s; voltaje de análisis, -16 kV; *buffer* de análisis, CrO<sub>3</sub> (5 mM), DEA (20 mM) y CTAB (1,65 mM); temperatura de análisis, 20 °C; y detección indirecta, 254 nm.



**Figura 5. Separación de cationes mediante CZE. Condiciones de análisis:** inyección en modo hidrodinámico, 0 kV, 3000 Pa, 10 s; voltaje de análisis, +10 kV; *buffer* de análisis, benzimidazol, 6 mM; ácido tartárico, 2,5 mM; 18-corona-6, 2 mM; temperatura de análisis, 20 °C; y detección indirecta, 254 nm.

#### 4.1.7. Linealidad y rango

Se prepararon curvas de calibración, en dos niveles, para cada ión con seis o más concentraciones diferentes. Los resultados se muestran en el **Anexo 2**. Se inyectó una vez cada solución estándar. Las curvas de calibración fueron calculadas utilizando el área de cada pico corregida con su respectivo tiempo de retención vs. concentración.

Las características analíticas de la metodología para la determinación de los aniones  $Cl^{1-}$ ,  $NO_2^{1-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^{1-}$ ,  $F^{1-}$  y  $PO_4^{3-}$ , en concentraciones bajas y altas, se muestran en el **Anexo 2, Tablas 16 y 17**, respectivamente. Las de los cationes  $NH_4^{1+}$ ,  $K^{1+}$ ,  $Na^{1+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Li^{1+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ , se muestran en el **Anexo 2, Tablas 19 y 20**, respectivamente. Además en el **Anexo 2**, se presentan los rangos de concentraciones en los cuales se evaluó la linealidad para cada una de las especies. Se observa que en todos los casos el coeficiente de correlación es superior a 0,99. También se observa que los residuales (ver el **Anexo 2**) no presentan tendencias sistemáticas, lo que significa que efectivamente las metodologías son lineales en esos rangos de trabajo.

Además, en el **Anexo 2** se presenta el intervalo de confianza para la concentración calculada. Dicho intervalo fue obtenido mediante la **Ecuación 12** [143]:

$$\left[ \text{Intervalo de confianza para la predicción} \right] = X_{\text{calculada}} \pm \left( \frac{t(RSE)}{b} \right) \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{Y} - y)^2}{b^2(n-1)s_{(x)}^2}} \quad \text{Ecuación 12}$$

$$X_{\text{calculada}} = \left( \frac{\bar{Y} - a}{b} \right) \quad \text{Ecuación 13}$$

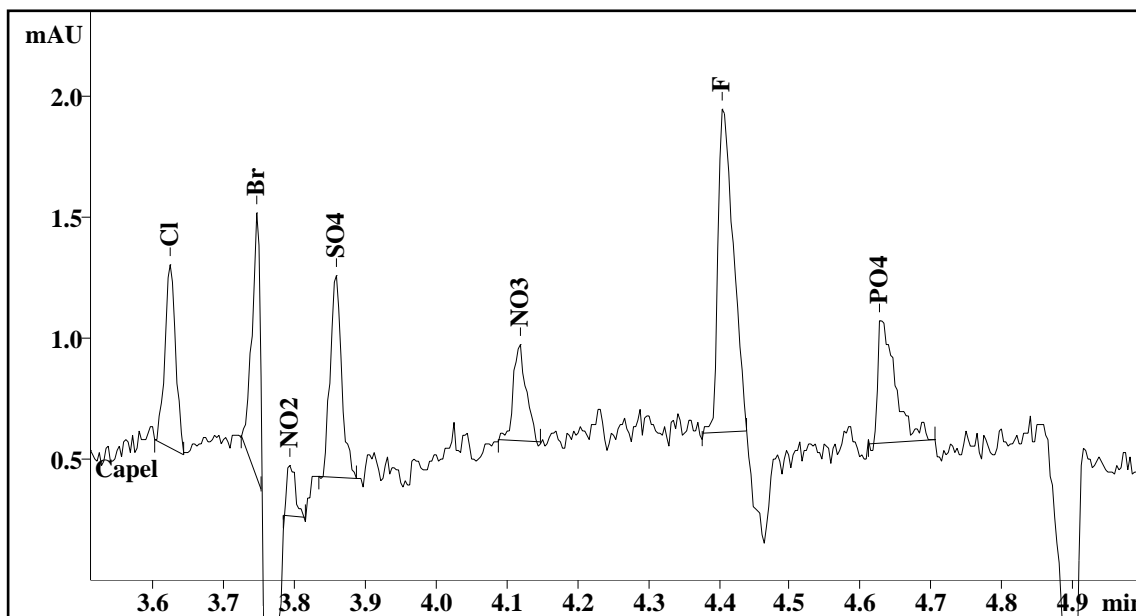
$$RSE = s_{(y)} \sqrt{\frac{(n-1)}{(n-2)} (1-r^2)} \quad \text{Ecuación 14}$$

Donde,  $a$  y  $b$  son la intersección y la pendiente, respectivamente, de la ecuación obtenida mediante regresión lineal.  $X_{calculada}$ , es el valor que se calcula desde la respuesta del instrumento ( $y$ ).  $\bar{Y}$ , es el promedio de la respuesta para  $m$  réplicas.  $\bar{y}$ , es el promedio de los datos  $y$  para  $n$  puntos en la calibración.  $RSE$ , es el error estándar residual.  $t$ , es el valor crítico obtenido de las tablas t para  $n-2$  grados de libertad.  $s_{(x)}$ , es la desviación estándar para los datos  $x$  con los  $n$  puntos de calibración.  $s_{(y)}$  es la desviación estándar de los valores  $y$  en la calibración.  $n$ , es el número de pares de datos y  $r$ , es el coeficiente de correlación de mínimo cuadrados.

#### 4.1.8. Límites de detección y cuantificación

Los límites de detección y cuantificación, para cada ión, se definieron como 3 y 10 veces, respectivamente, la desviación estándar de su curva de calibración. Los resultados se muestran en el **Anexo 2, Tablas 18 y 21**. Allí se observa que, excepto para el  $NO_2^{1-}$ , todas las concentraciones mínimas detectables son menores que los valores máximos permitidos por la legislación colombiana. El hecho de que para el ión  $NO_2^{1-}$  el límite de detección sea tan alto se debe principalmente a la interferencia que se tiene con la zona del sistema (ver numeral **2.4.1.**), que finaliza justamente al inicio del pico atribuido al  $NO_2^{1-}$ , como se muestra en la **Figura 6**. Dicha zona afecta levemente el área del ion, pero afortunadamente no afecta la reproducibilidad ni la linealidad, como puede verse en el **Anexo 2**.

Por otra parte, los límites de detección obtenidos mediante las metodologías implementadas en este trabajo, son comparables con los límites de detección reportados en la literatura, para las mismas especies en matrices acuosas (ver **Anexo 2, Tablas 18 y 21**)



**Figura 6. Separación de aniones mediante CZE. Las condiciones de análisis se muestran en la Figura 4**

#### **4.1.9. Robustez**

Para determinar la robustez de las metodologías, se estudió el efecto que tienen el tiempo de inyección y el voltaje de análisis sobre la selectividad y el área total de los picos ( $A_{Total}$ ), en un electroforegrama. En el **Anexo 3, Tablas 78 y 79**, se muestran los resultados obtenidos, junto con el total de las áreas corregidas con el tiempo, de cada electroforegrama ( $A_{corr}^{Total}$ ).

Para evaluar la calidad de cada corrida experimental en términos de resolución y duración de la separación electroforética, se utilizó la **Ecuación 15**, que es una función exponencial cromatográfica (CEF) [144]. El objetivo final es minimizar el valor de la función. Es decir, a menor valor, mayor es la eficacia del procedimiento de separación.

$$CEF = \left[ \left( \sum_{i=1}^{n-1} \left( 1 - e^{a(R_{opt} - R_i)} \right)^2 \right) + 1 \right] \cdot \left( 1 + \frac{t_f}{t_{m\acute{a}x}} \right) \quad \text{Ecuación 15}$$

Donde,  $R_{opt}$ , es el valor de resolución óptima (1,5 es un valor aceptado);  $a$ , es un valor de peso que ajusta el término de resolución frente al término de tiempo (3 es un valor admitido);  $t_{m\acute{a}x}$  y  $t_f$ , se dan en minutos y son el tiempo de retención máximo aceptado para el último pico y el tiempo de retención del último pico, respectivamente;  $R_i$ , es la resolución del  $i$ -ésimo pico en el electroforegrama; y  $n$ , es el máximo número de picos esperados. La ausencia de un pico esperado, es tratada como pico con resolución cero. El uso de esta función es adecuado, ya que le da igual peso a todos los componentes del electroforegrama.

Para calcular  $A_{Total}$  y  $A_{corr}^{Total}$  se utilizaron las **Ecuaciones 16 y 17**, respectivamente.

$$A_{Total} = \sum_{i=1}^n A_i \quad \text{Ecuación 16}$$

$$A_{corr}^{Total} = \sum_{i=1}^n A_{corr, i} \quad \text{Ecuación 17}$$

En el **Anexo 3, Figura 64 A**, se observa que las áreas totales ( $A_{Total}$ ) aumentan proporcionalmente con el tiempo de inyección, pero permanecen constantes a

medida que se aumenta el voltaje de análisis. Esto se debe a que los aniones experimentan el proceso de *stacking* influenciado por el voltaje, lo cual hace que los picos tengan una mayor área a pesar de que los tiempos de retención son menores. Este proceso de *stacking* se puede confirmar en la **Figura 64 B**, en la cual se muestra la tendencia de aumento del área corregida con el tiempo de retención ( $A_{corr}^{Total}$ ). Pero, el inconveniente que se tiene cuando se aumenta el voltaje de análisis es que se pierde la eficiencia en la separación de los aniones. En la **Figura 64 C**, se muestra que con la inyección de 15 s, la *CEF* disminuye notablemente a medida que se aumenta el voltaje. Pero, resulta que cuando los voltajes de análisis son altos, los picos generados por una mezcla de analitos en concentraciones superiores a 10 ppm se solapan y hace imposible su identificación. Por lo tanto, en este caso no se puede tomar el mínimo valor de *CEF* como referencia de la calidad del electroforegrama. En cambio si se utilizan condiciones en las cuales el valor de *CEF* es intermedio, se puede garantizar su utilización en soluciones con concentraciones mayores.

En la **Figura 65 A** se muestra que en el análisis de cationes mediante CZE las áreas totales disminuyen en proporción con el voltaje de análisis. Pero aumentan con el tiempo de inyección. Aquí, también sucede el proceso de *stacking* explicado en el párrafo anterior, pero con voltajes superiores a 10 kV ocurre solapamiento de los picos de los cationes  $Mg^{2+}$ ,  $Li^{1+}$ , lo que genera la disminución de las áreas totales y un aumento del *CEF* (ver **Figura 65 C**). En la **Figura 65 B**, se observa que el  $A_{corr}^{Total}$  aumenta con el tiempo de inyección y con el aumento del voltaje. Lo que indica que la disminución de las áreas es debida únicamente al solapamiento que sufren las especies. En resumen, las metodologías son sensibles a la cantidad de masa de analito inyectada. Por lo tanto, se debe evitar que exista inyección de muestra no deseada, es decir, introducida por otro fenómeno, tal como el efecto sifón. Este efecto se puede

reducir si primero se conecta el *vial* de salida con *BGS* y luego el que contiene la muestra. Además, el volumen de *BGS* tiene que ser igual al volumen de muestra.

Para calcular el volumen de muestra inyectado ( $v_{Inyección}$ ), en modo hidrodinámico, se utiliza la siguiente ecuación:

$$v_{Inyección} = \left( \frac{\Delta p \times \pi \times t \times r^4}{8 \times \eta \times L_T} \right) \times 10^9 \quad \text{Ecuación 18}$$

Donde,  $v_{Inyección}$ , es el volumen de muestra inyectada (nL);  $\Delta p$ , es la presión ejercida sobre la muestra para la inyección (Pa);  $t$ , es el tiempo de inyección (s);  $r$ , es el radio del capilar (m);  $\eta$ , es la viscosidad de la muestra (Pa\*s); y  $L_T$ , es la longitud total del capilar (m).

Por otro lado, la temperatura afecta la viscosidad de la muestra y por ende el volumen de inyección. La **Tabla 10** presenta el volumen que se inyecta si una solución acuosa está a diferentes temperaturas.

**Tabla 10** Volumen de inyección de una muestra acuosa a diferentes temperaturas. Condiciones: tiempo de inyección, 15 s; presión para la inyección,  $3,0 \times 10^3$  Pa; radio del capilar, 75  $\mu\text{m}$ ; y longitud total del capilar, 0,60 m

$\eta$ (cP)	T (°C)	$v_{Inyección}$ (nL)
1,002	20	58
0,978	21	59
0,956	22	60
0,934	23	62
0,912	24	63
0,890	25	65

#### 4.1.10. Análisis de muestras reales

Para determinar los aniones  $Cl^{1-}$ ,  $NO_2^{1-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^{1-}$ ,  $F^{1-}$  y  $PO_4^{3-}$ , y los cationes  $NH_4^{1+}$ ,  $K^{1+}$ ,  $Na^{1+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Li^{1+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ , presentes en aguas mediante CZE, se tomaron muestras de agua, en recipientes plásticos, de los acueductos Morrorríco y Piedecuesta, ubicados en Bucaramanga y la zona metropolitana, respectivamente. La identificación se realizó por comparación de los tiempos de salida con soluciones enriquecidas con patrones certificados. La cuantificación se realizó mediante la curva de calibración de cada especie. En el **Anexo 4** se muestran los resultados. En las **Figuras 66** y **67**, se muestran los electroforegramas obtenidos en el análisis de aniones y de cationes, respectivamente, para una muestra de agua del acueducto Morrorríco. En las **Figuras 68** y **69**, se muestran los electroforegramas para una muestra de agua del acueducto Piedecuesta. En la **Tabla 11**, se muestran los aniones y los cationes presentes en las muestras de agua analizadas. Se observa que en el agua del acueducto Piedecuesta la concentración de nitrito está por encima del nivel máximo permitido, 0,1 ppm. Esto no ocurre en el agua del acueducto Morrorríco en la cual todos los iones están en concentraciones permitidas.

**Tabla 11. Concentración de los iones presentes en las muestras de agua analizadas mediante CZE.**

Ión	Agua del acueducto Piedecuesta		Agua del acueducto Morrorríco	
	Concentración (ppm)	% CV	Concentración (ppm)	% CV
$Cl^{1-}$	0,98 ± 0,01	0,67	2,24 ± 0,03	1,53
$NO_2^{1-}$	0,57 ± 0,02	3,09	No detectado	-
$SO_4^{2-}$	9,7 ± 0,1	1,2	22,6 ± 0,4	1,58
$NO_3^{1-}$	0,41 ± 0,01	2,19	1,06 ± 0,01	0,78

Continuación de la **Tabla 11**.

Ión	Agua del acueducto Piedecuesta		Agua del acueducto Morrorrico	
	Concentración (ppm)	% CV	Concentración (ppm)	% CV
$F^{1-}$	No detectado	-	No detectado	-
$PO_4^{3-}$	No detectado	-	No detectado	-
$NH_4^{1+}$	No detectado	-	No detectado	-
$K^{1+}$	3,45 ± 0,04	1,30	3,96 ± 0,04	0,97
$Na^{1+}$	3,57 ± 0,05	1,39	1,91 ± 0,01	0,27
$Mg^{2+}$	3,47 ± 0,04	1,06	1,29 ± 0,02	1,46
$Li^{1+}$	No detectado	-	No detectado	-
$Sr^{2+}$	No detectado	-	No detectado	-
$Ba^{2+}$	No detectado	-	No detectado	-
$Ca^{2+}$	5,96 ± 0,09	1,55	7,04 ± 0,10	1,47

#### 4.1.11. Estado del análisis de iones mediante CZE frente a otras metodologías

Los aniones  $Cl^{1-}$ ,  $NO_2^{1-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^{1-}$ ,  $F^{1-}$  y  $PO_4^{3-}$ , y los cationes  $NH_4^{1+}$ ,  $K^{1+}$ ,  $Na^{1+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Li^{1+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ , presentes en aguas pueden ser analizados mediante CZE, con precisión y exactitud aceptables, como se muestra en el **Anexo 1**. Esta aplicación, contrasta con lo reportado por Paul *et al.* [145], quienes exponen que la electroforesis capilar en zona presenta fallas cuando es aplicada de forma cuantitativa en el análisis de aniones y resaltan tres aspectos, a saber: el volumen de inyección, el sistema de separación y el sistema de detección. En este trabajo, dichos aspectos no influyeron significativamente, ya que los porcentajes de recuperación, de material de referencia certificado, fueron cercanos al 100 % y los porcentajes de coeficientes de variación no superaron el 10 %, que

es un valor máximo permitido para la mayoría de las metodologías analíticas cuantitativas.

Por otro lado, si bien es cierto que los límites de detección, logrados con CZE como metodología de análisis, no son comparables con los alcanzados por espectroscopia de absorción atómica, como se muestra en la **Tabla 1**, sí se debe resaltar el hecho de que el gasto de tiempo y energía disminuye considerablemente cuando lo que se quiere es determinar de forma rutinaria diferentes iones en una muestra dada.

En cuanto a los límites de detección reportados por otros autores (ver **Anexo 2, Tablas 18 y 21**), utilizando la metodología de CZE para la determinación de iones en aguas, se puede decir que son comparables con los de este trabajo. No obstante, los LOD reportados en la literatura son menores, pero prevalece el hecho de que en este trabajo se lograron límites por debajo de los valores máximos permitidos por la legislación colombiana (excepto para el nitrito) y por lo tanto las metodologías conservan su gran importancia analítica.

En resumen, las metodologías aquí implementadas para la determinación de iones presentes en aguas, tienen reproducibilidad, linealidad, especificidad y exactitud en los rangos de concentraciones trabajados. Esto las ubica como metodologías alternativas para el análisis de rutina en aguas de ésta región, Santander.

#### **4.2. DETERMINACIÓN DE TRIAZINAS**

En esta sección se presentan los resultados obtenidos en el desarrollo de una metodología que utiliza dos técnicas de concentración de muestra para la determinación de las triazinas simazina, atrazina, ametrina, prometrina, terbutilazina y terbutrina, presentes en aguas. Esta metodología concentra las

triazinas y disminuye el LOD hasta el orden de ppb. De las dos técnicas, una es externa o fuera de línea del procedimiento electroforético, conocida como SPME, y la otra es en línea, conocida como inyección electrocinética con *stacking* de analitos neutros en condiciones de conductividad continua (EKSI-NA-CCC).

En el caso de concentración de muestra mediante EKSI-NA-CCC, se lleva a cabo un proceso de disminución de la longitud de la zona de analitos en el capilar (también conocido como *stacking*). Esto sucede en la etapa de inyección, que es en modo electrocinético (ver **Figura 2**). Según Terabe *et al.* [78], para implementar la metodología de concentración de analitos neutros en condiciones continuas por *stacking*, éstos deben estar en una matriz de muestra que contenga el mismo electrolito que el BGS. El cumplimiento de este requisito se puede realizar de dos formas. Primera, adicionar los componentes del BGS, excepto el surfactante, a la muestra acuosa, garantizando que las conductividades sean equivalentes entre la matriz de muestra final y el BGS. Y segunda, extraer las triazinas mediante algún método, tal como SPME, y luego disolverlas en una solución electrolítica, cuidadosamente preparada con reactivos grado analítico y con conductividad similar al BGS.

#### 4.2.1. Condiciones analíticas

Para desarrollar este trabajo, se prepararon soluciones con 100 ppb de cada una de las triazinas simazina, atrazina, ametrina, prometrina, terbutilazina y terbutrina. Se estudió paso a paso el efecto que tienen, sobre la selectividad y el área total de los picos, cada una las siguientes variables: concentración de SDS, concentración de borato-fosfato, concentración del modificador orgánico (1-propanol), tiempo de inyección, voltaje de inyección, voltaje de análisis y temperatura de análisis. Por ser tan amplio el número de variables y de niveles, no se realizó un diseño experimental con el cual se analizaran las interacciones entre ellas.

Las triazinas tienen carácter básico y sus  $pK_a$  no superan un valor de 5 (ver **Tabla 3**), mientras que los  $pK_a$  de borato y fosfato son 9,2 y 7,5, respectivamente. Además, el hecho de que la mezcla fosfato-borato tenga una amplia capacidad amortiguadora de pH en el rango entre 7 y 10, fue suficiente para seleccionarlos como componentes del BGS. El SDS, fue seleccionado para formar la fase micelar, ya que es el surfactante más ampliamente utilizado en la separación de analitos neutros mediante MEKC; además, ha sido probado en diversos trabajos con los mismos analitos. El 1-propanol fue utilizado como modificador del EOF. Este compuesto orgánico fue seleccionado ya que existen varios estudios en los que ha arrojado los mejores resultados, en la separación de triazinas, cuando es comparado con otros modificadores orgánicos. Sin embargo, se debe tener en cuenta que este compuesto en concentraciones superiores a 20 % rompe las micelas.

#### 4.2.1.1. Efecto de la concentración de SDS

En el **Anexo 5, Figura 70**, se muestra el efecto del cambio de concentración de SDS, sobre la separación electroforética de cada triazina. Aunque el orden de migración no se ve afectado, se observa un incremento en el tiempo de análisis cuando se aumenta la concentración de SDS. Este comportamiento se debe al incremento de la fuerza iónica del BGS y al aumento de las interacciones entre los analitos y las micelas. También, en concentraciones altas de SDS el pico es muy ancho en la línea base. Finalmente, como se muestra en los electroforegramas sucesivos de la **Figura 70**, la disminución de la concentración de SDS incrementa la eficiencia de separación. Por lo tanto, la mejor relación entre separación, anchura de pico y tiempo de análisis se obtiene con 25 mM de SDS.

#### 4.2.1.2. Efecto del fosfato-borato

Se examinó la influencia de la concentración de borato ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ ) y fosfato ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) sobre la separación de las triazinas, utilizando SDS a 25 mM, pH 9,5 y 1- propanol al 4 %p/p. Por otro lado, se sabe que en un campo eléctrico alto, la fuerza iónica induce varios efectos que influyen sobre la movilidad de los analitos; entre ellos se tiene, el incremento de la temperatura y el cambio de la viscosidad. Las **Figuras 71** muestran la separación de las triazinas en varias concentraciones de borato-fosfato. Allí se observa que la resolución y el tiempo de retención de los analitos se incrementan notablemente con el aumento de la concentración, esto se debe a que la movilidad es inversamente dependiente de la raíz cuadrada de la concentración del BGS. Por otro lado, la altura del pico no se modifica y la anchura en la línea base se amplía notablemente. Esto último se debe, probablemente, al excesivo calor de Joule generado por las altas concentraciones de borato-fosfato en el BGS. En resumen, para este caso, la movilidad electroforética y la velocidad del flujo electroosmótico decrecen con el incremento de la concentración del borato-fosfato en el BGS. Por lo tanto, la concentración de  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  y  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  seleccionada para el análisis de triazinas fue 10 mM.

#### 4.2.1.3. Efecto del modificador orgánico

La adición del modificador orgánico, 1-propanol, al BGS, disminuye la interacción entre los analitos y las micelas e incrementa su solubilidad en el buffer. De esta forma, genera una mejor separación entre aquellos analitos, como prometrina y terbutilazina, que son difíciles de separar. Se observó que una concentración de 4 %p/p de 1-propanol es adecuada para la separación de todos los analitos sin que se modifique notablemente el tiempo de retención.

#### 4.2.1.4. Efecto del voltaje de análisis

El voltaje de análisis tiene efecto sobre la resolución y sobre el tiempo de análisis. Para esto, se utilizaron las mejores condiciones de borato (10 mM), fosfato (10 mM) y SDS (25 mM). El incremento del voltaje de análisis resulta en disminución del tiempo de análisis y mejoramiento de la eficiencia, pero se disminuye la resolución. Por otro lado, la corriente aumenta desde 30  $\mu\text{A}$  hasta 83  $\mu\text{A}$ , cuando el voltaje de análisis varía desde 10 kV hasta 25 kV, respectivamente. Pero como en ese rango de voltajes, no se superan los 200  $\mu\text{A}$ , entonces no se corre ningún riesgo trabajar a 25 kV.

#### 4.2.1.5. Efecto del voltaje de inyección

Para alcanzar alta resolución, la anchura de la zona de los analitos deberá ser mucho menor a la anchura generada por la difusión longitudinal o la anchura de la ventana del detector ( $\sim 1$  mm). Para lograr esta anchura en la zona del analito, cuando se inyectan grandes volúmenes de muestra, se debe asegurar que ocurra *stacking* de la muestra.

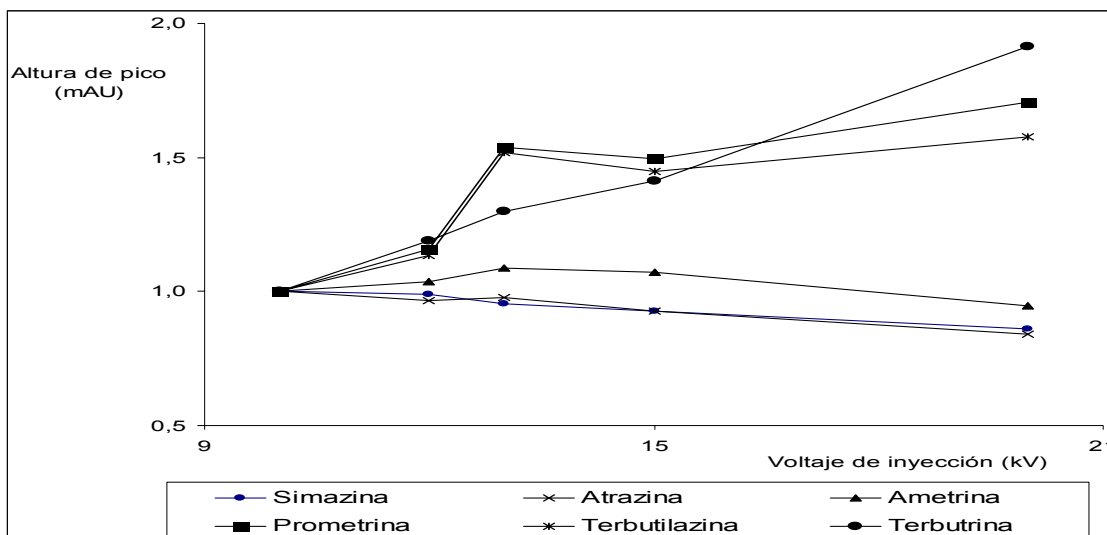
En este caso, la inyección de la muestra se lleva a cabo en modo electrocinético. Esto es, el flujo electroosmótico actúa como una bomba, arrastrando con él todos los analitos hacia el capilar. Una vez que están en el capilar, y como están disueltos en una solución de conductividad similar al BGS de análisis, se realiza el *stacking* por efecto de las micelas que ingresan en la zona de la muestra.

Cuando el voltaje de inyección se aumenta, el flujo electroosmótico también lo hace e inyecta mayor cantidad de muestra en el capilar. Teóricamente, se puede inyectar una cantidad de muestra con una longitud, en el capilar, descrita por la **Ecuación 1** [75]. Las velocidades del flujo electroosmótico y del aducto analito-

micela se pueden determinar si se tiene en cuenta que la longitud del capilar, desde el extremo de inyección hasta la ventana del detector son 50 cm. La velocidad del flujo electroosmótico se determina con la señal originada por el modificador orgánico (ver **Anexo 5, Figura 72**).

Pero en este caso, no fue posible aplicar la ecuación 1 para determinar la máxima longitud de muestra inyectable. Ya que, cuando las muestras se inyectan utilizando ese criterio, se pierde resolución, dando como resultado picos de forma cuadrada para el caso de la simazina y la atrazina (ver **Anexo 5, Figura 75**). Además, esta forma de los picos se mantiene cuando se utiliza el mismo voltaje de análisis para la inyección de la muestra. Por lo tanto, fue necesario buscar las mejores condiciones de tiempo y voltaje de inyección.

Para obtener el voltaje de inyección más adecuado, se fijó el tiempo de inyección en 150 s y se varió el voltaje de inyección de 10 kV a 20 kV (ver **Anexo 5, Figuras 73 y 74**). Se encontró que la altura de los picos para la simazina, la atrazina y la ametrina no cambiaron significativamente en este rango de voltajes (ver **Figura 7**), pero la anchura de los picos si se afectó considerablemente a medida que se aumentó el voltaje. Como la anchura de los picos disminuye la resolución, entonces se optó por tomar como voltaje adecuado de inyección 10 kV y como tiempo de inyección 150 s.



**Figura 7. Voltaje de inyección vs. la altura de pico obtenida con diferentes voltajes de inyección divididas en la altura del pico obtenida con una inyección de 10 kV. Todas las inyecciones se realizaron durante 150 s.**

#### 4.2.2. Límite de Detección

Los límites de detección y cuantificación, para cada especie, se definieron como 3 y 10 veces, respectivamente, la desviación estándar de su curva de calibración. Los resultados se muestran en el **Anexo 6, Tabla 81**. Cabe destacar que los valores son comparables con los obtenidos mediante MEKC-ESIMS (cromatografía electrocinética micelar acoplado a espectrometría de masas de ionización por electroespray) [146]. Además, se tiene la ventaja de que el costo de cada análisis es mucho más bajo que con la técnicas mencionada.

#### 4.2.3. Linealidad del método

Se estudio la linealidad del método inyectando la mezcla de plaguicidas a diferentes concentraciones, entre 0,030 y 0,4 ppm. Los resultados se muestran en

el **Anexo 6, Tabla 80**. Las curvas de calibración fueron calculadas utilizando el área de cada pico corregida con su respectivo tiempo de retención vs. concentración. Se observa que en todos los casos el coeficiente de correlación es superior a 0,99. También se observa que los residuales (ver el **Anexo 6**) no presentan tendencias sistemáticas, lo que significa que efectivamente las metodologías son lineales en esos rangos de trabajo.

#### 4.2.4. Extracción de triazinas mediante SPME

Para la extracción de las triazinas presentes en aguas, se utilizó una fibra de PDMS/DVB. Esta es una fibra ligeramente polar y ha sido ampliamente recomendada para este tipo de analitos [121]. Usando el paquete estadístico, Statistica 6,0 [138], se realizó un diseño experimental compuesto central rotatorio, fraccionado, para obtener las mejores condiciones de extracción y desorción de las triazinas. Las variables consideradas y el nivel de cada factor se muestran en el **Anexo 7, Tabla 94**. Las corridas se realizaron en el orden de la **Tabla 94**. Cada una de las variables se evaluó en cinco niveles y a su vez, cada nivel fue normalizado a valores de  $-\alpha$ , -1, 0, +1 y  $+\alpha$ . Los puntos estrella del diseño están localizados en  $+\alpha$  y  $-\alpha$  desde el centro del dominio experimental. La distancia axial  $\alpha$  fue seleccionada en un valor de 2. Con la inclusión de esta condición, el diseño genera información equivalente en todas las direcciones.

Se sabe que SPME no es una técnica de extracción exhaustiva. Que es un proceso que se basa en el equilibrio del analito entre dos fases, la matriz y la fibra. Además, la recuperación de los analitos se incrementa con el tiempo de extracción, hasta alcanzar el equilibrio. Las mejores condiciones (ver **Anexo 6, Figura 88**) calculadas fueron: tiempo de extracción, 127,5 min; temperatura de extracción, 60 °C; concentración de NaCl, 10 %p/p; tiempo de desorción, 20 min; y temperatura de desorción, 25 °C. Pero, a expensas de un porcentaje de

recuperación, se decidió trabajar en condiciones no óptimas para la extracción de los analitos, o condiciones de no equilibrio, como se muestra a continuación. Tiempo de extracción, 72,5 minutos; temperatura de extracción, 60 °C; concentración de NaCl, 5 % p/p; tiempo de desorción, 20°C; y temperatura de desorción, 25 °C. Estas condiciones se seleccionaron por dos razones, a saber: primero, disminuir el tiempo de extracción. Lo cual resulta muy práctico a la hora de un análisis de rutina. Puesto que, como se muestra en el **Anexo 7, Tabla 94**, con 72,5 minutos se obtiene una buena respuesta (área total) en el análisis. Y segundo, reducir la concentración de sal. Esto es porque se ha demostrado que las altas concentraciones de sal reducen el tiempo de vida útil de la fibra, ya que existe pérdida de la fase estacionaria de PDMS/DVB desde la fibra de sílice [119]. No obstante, se sabe que el aumento de la fuerza iónica incrementa la eficiencia de extracción mediante SPME, es decir se aumenta la cantidad de aminas aromáticas adsorbidas por la fibra.

Para la agitación en el proceso de desorción de la fibra, se probó con ultrasonido durante 15 min. Pero, se observó que la fibra pierde su recubrimiento rápidamente. Por lo tanto, no es conveniente utilizar ultrasonido como medio de agitación para la desorción de la fibra de PDMS/DVB.

Después de cada análisis, se debe asegurar que en la fibra no quedan residuos de analitos en cantidades superiores a los límites de detección. Para ello, después de cada análisis, se lava la fibra tres veces con metanol durante 10 minutos a 25 °C y 500 rpm. Y después de tres análisis consecutivos, se lava cinco veces bajo el mismo procedimiento.

La temperatura de extracción juega un papel muy importante sobre la absorción de los analitos, porque ésta influencia la velocidad de transferencia de masa y el coeficiente de partición de los analitos. El área total de los picos de los analitos aumenta notablemente cuando la temperatura varía desde 30 °C hasta 60 °C. Se

nota que a temperaturas altas (60 °C) la extracción es muy eficiente, lo que demuestra que existe un efecto cinético que domina el proceso. Pero, este comportamiento experimental no se puede generalizar, ya que, según Pawliszyn, *et al.* [147] con el aumento de la temperatura se disminuye la constante de distribución, porque la adsorción es, generalmente, un proceso exotérmico, lo que haría que a medida que se aumenta la temperatura se disminuya la cantidad de analitos adsorbidos. Por otro lado, se observó que cuando la temperatura de extracción es alta, aparecen algunas burbujas de aire en la fibra, lo cual afecta significativamente el proceso de adsorción sobre la fase estacionaria. Por lo tanto, estas burbujas se deben eliminar justamente cuando aparecen, mediante el siguiente procedimiento, se saca la fibra de la solución y vuelve y se introduce lentamente en ella, este proceso no debe gastar más de tres segundos. Normalmente, estas burbujas aparecen en los primeros 10 minutos de exposición de la fibra.

Se observó que la desorción de los analitos es baja a temperaturas altas. Mientras que a temperaturas bajas, la desorción se alcanza en un tiempo de 20 minutos. Esto es porque con el aumento de la temperatura de desorción, se reduce la velocidad de difusión de los analitos desde la fibra hacia el solvente y por ende se disminuye la cantidad de analitos en el solvente. Esto se ve en la fibra de PDMS/DVB, en donde los analitos que se desorben son menos cuando la temperatura aumenta desde 25 °C hasta 45 °C. Por lo tanto, la temperatura más favorable para la desorción fue 25 °C.

Utilizando una matriz enriquecida con triazinas en concentraciones de 100 ppb y las condiciones de no equilibrio, descritas anteriormente, para la extracción, se calcularon los porcentajes de recuperación para cada una de las triazinas. Los resultados se muestran en el **Anexo 7, Tabla 95**. Se observó que la afinidad de la fibra por triazinas aumenta en el siguiente orden: terbutrina, prometrina, terbutilazina, ametrina, atrazina y simazina. Cabe resaltar que aunque el

porcentaje de recuperación de la simazina es menor al 5 %, se obtiene un área similar a la obtenida con una solución cuya concentración de simazina sea 100 ppb.

#### **4.2.5. Análisis de muestras reales**

Se tomaron muestras de agua del acueducto de Bucaramanga. Luego se aplicó SPME bajo las condiciones descritas en el numeral **3.3.3**. Finalmente, las muestras se analizaron mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC, bajo las condiciones descritas en el numeral **3.3.2.1**. Los electroforegramas obtenidos se muestran en el **Anexo 5, Figura 75**. Afortunadamente, no se detectó ninguna triazina en las muestras analizadas.

#### **4.2.6. Estado del análisis de triazinas mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC frente a otras metodologías**

El presente trabajo confirma la viabilidad de la electroforesis capilar en la detección y cuantificación de triazinas presentes en aguas. Esta técnica presenta una ventaja potencial sobre HPLC, debido a sus cortos tiempos de retención y a la interesante relación costo-beneficio de análisis, debido al bajo consumo de solventes [5]. Por otro lado, en este trabajo se observa que no son comparables los límites de detección logrados con EKSI-NA-CCC en línea con MEKC, con los alcanzados mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas [119]. Pero, sí son comparables con los LOD obtenidos mediante otras técnicas de concentración en línea con MEKC. En el **Anexo 6, Tabla 81**, se muestran los resultados obtenidos en este trabajo, mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC. Además se presentan los límites de detección reportados en la

literatura y que fueron obtenidos mediante MEKC [125], MEKC-ESIMS [146], m-SRMM-MEKC [127], SRW-MEKC [126] y RESPM-MEKC [126].

Por otra parte, como ya se explicó en la sección **2.6**, cuando se analizan las triazinas mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC, se tiene la ventaja de que no se debe intercambiar la polaridad de los electrodos, como sí es el caso para las otras metodologías de concentración en línea con MEKC, tales como: m-SRMM-MEKC, SRW-MEKC, RESPM-MEKC. Este hecho es muy importante, ya que el equipo de electroforesis capilar (CAPEL 105) utilizado en este trabajo no permite hacer ese ardid (intercambio de polaridad) en una misma corrida.

En resumen, la metodología aquí implementada, microextracción en fase sólida combinada con EKSI-NA-CCC en línea con MEKC, permite la determinación de las triazinas simazina, atrazina, ametrina, prometrina, terbutilazina y terbutrina, presentes en aguas. Dicha metodología presenta reproducibilidad, linealidad, especificidad y exactitud en los rangos de concentraciones trabajados. Esto permite que se pueda usar como metodología alternativa en el análisis de triazinas en aguas.

## 5. CONCLUSIONES

En el equipo CAPEL 105, se implementaron dos metodologías para el análisis de iones presentes en aguas, una para aniones ( $Cl^{1-}$ ,  $NO_2^{1-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^{1-}$ ,  $F^{1-}$  y  $PO_4^{3-}$ ) y otra para cationes ( $NH_4^{1+}$ ,  $K^{1+}$ ,  $Na^{1+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Li^{1+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ ). En ambos casos (excepto para el ion nitrito), se logró detectar concentraciones inferiores a las máximas permitidas por la legislación colombiana, dispuestas para agua potable. Esto, junto con el hecho de que los porcentajes de recuperación fueron cercanos al 100%, perfila a ambas metodologías como herramientas útiles en el análisis rutinario de varios iones presentes en aguas.

Con respecto a otras técnicas analíticas de iones reportadas en la literatura especializada, tales como absorción atómica o cromatografía iónica, la electroforesis capilar en zona exhibió bajos requerimientos de solventes, reactivos y muestras, así como una disminución del tiempo necesario para realizar los análisis.

Aprovechando las ventajas de la electroforesis capilar, se desarrolló una metodología para el análisis de compuestos neutros (triazinas), EKSI-NA-CCC en línea con MEKC, la cual fue mejorada con una técnica de concentración externa, SPME. En ambas situaciones, el análisis de estos pesticidas resultó práctico y rápido, con detección de concentraciones del orden de  $\mu g$  por litro.

El método de concentración que combina SPME con EKSI-NA-CCC en línea con MEKC, mejoró cuatro veces la sensibilidad obtenida con EKSI-NA-CCC. Las condiciones de extracción-concentración, que permitieron la mejora, fueron establecidas por medio de un diseño experimental compuesto central rotatorio, fraccionado. . Se lograron límites de detección comparables con los reportados en

la literatura, que fueron obtenidos con otras metodologías de concentración acopladas a MEKC (ver **Anexo 6, Tabla 81**).

Las técnicas que implican MEKC presentaron altas sensibilidades, del orden de  $\mu\text{g/L}$ . Además, requieren pocas cantidades de muestra (mL) y solventes (mL), lo cual constituyó un avance importante en el análisis de rutina de compuestos neutros presentes en aguas.

En general, en la electroforesis capilar se halló una técnica que promete disminuir gastos de operación en los laboratorios de química analítica.

## 6. RECOMENDACIONES

Utilizar electroforesis capilar en zona con detección indirecta en UV, para la determinación de los aniones  $Cl^{1-}$ ,  $NO_2^{1-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^{1-}$ ,  $F^{1-}$  y  $PO_4^{3-}$ ; y los cationes  $NH_4^{1+}$ ,  $K^{1+}$ ,  $Na^{1+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Li^{1+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ ; presentes en aguas, cuando se requieran análisis de forma rutinaria.

Implementar las metodologías para la determinación de los aniones  $Cl^{1-}$ ,  $NO_2^{1-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^{1-}$ ,  $F^{1-}$  y  $PO_4^{3-}$ ; y los cationes  $NH_4^{1+}$ ,  $K^{1+}$ ,  $Na^{1+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Li^{1+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ , presentes en otras matrices, tales como suelos, alimentos y aguas residuales. Aquí se debe tener en cuenta que la preparación de muestra es muy importante, por lo tanto se debe asegurar que la extracción de las diferentes especies se haga de forma cuantitativa y reproducible.

De igual forma, implementar la metodología combinando SPME con EKSI-NA-CCC en línea con MEKC para la determinación de las triazinas, en diferentes matrices, tales como, frutas y otros tipos de alimentos.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. RICHARDSON, Susan D., **2003**. “Water analysis: emerging contaminants and current issues”. *Anal. Chem.*, 75 (12), pp. 2831 – 2857.
2. PACÁKOVÁ, Věra; COUFAL, Pavel; ŠTULÍK, Karel and GAŠ, Bohuslav, **2003**. “Review: Importance of capillary electrophoresis, capillary electrochromatography, and ion chromatography in separations of inorganic ions”. *Electrophoresis*, 24, pp. 1883–1891.
3. RICHARDSON, Susan D., **1999**. “Water analysis”. *Anal. Chem.*, 71 (12), pp. 181R – 215R.
4. LEWIS E., Randall; AHUJA S., Eric and FOLEY P., Joe, **1998**. “Ion analysis by capillary zone electrophoresis with indirect injection: applications in the nuclear power industry. *Analyst.*, 123, pp. 1465 – 1469.
5. DINELLI, Giovanni; VICARI, Alberto; BONETTI, Alessandra and CATIZONE, Pietro, **1995**. “Comparison of Capillary Electrophoresis, HPLC, and Enzyme Immunoassay for Terbutylazine Detection in Water”. *J. Agric. Food Chem.*, 43, pp. 951 – 955.
6. MACCARTHY, Patrick and KLUSMAN, Ronald W., **1993**. “Water analysis”. *Anal. Chem.*, 65 (12), pp. 244R-292R.
7. GARBARINO R., J.; STEINHEIMER, R.T. and TAYLOR H. E., **1985**. “Water Analysis”. *Anal. Chem.*, 57 (5), pp 46R – 88R.

8. PATNAIK, Pradyot, **1997**. "Chemical pollutants in air, water, soil and solid wastes. En: Handbook of environmental analysis". USA: Lewis publishers. 584 p.
9. JORGENSON, James W. and DEARMAN, Lukacs K., **1981**. "Zone electrophoresis in open-tubular glass capillaries". *Anal. Chem.*, 53 (8), pp. 1298 – 1302.
10. COPPER, Christine L., **1998**. "Capillary electrophoresis: Part I. Theoretical and experimental background". *J. Chem. Educ.*, 75 (3), pp. 343 – 347.
11. COPPER, Christine L., **1998**. "Capillary electrophoresis: Part II. Applications". *J. Chem. Educ.*, 75 (3), pp. 347 – 351.
12. VOS, Cheryl J.; MELANSON, J. and LUCY, Charles A., **2001**. "Violet diode for metal ion determination by capillary electrophoresis–laser induced fluorescence". *Anal. Sci.*, 17, pp 225 – 227.
13. TAKAGAI, Yoshitaka and IGARASHI, Shukuro, **2001**. "Development of two-step concentration system for capillary electrophoresis following homogeneous liquid-liquid extraction method and sweeping method". *Anal. Sci.*, 17 (supplement), pp. i1323 – i1324.
14. CARABIAS, R. M.; RODRÍGUEZ, G. E.; DOMÍNGUEZ, A. J., and HERNÁNDEZ, M. J., **1999**. "Cloud point extraction as a preconcentration step prior to capillary electrophoresis". *Anal. Chem.*, 71 (13), pp. 2468 – 2474.

15. QUIRINO, Joselito P. and TERABE, Shigeru, **1998**. "On-line concentration of neutral analytes for micelar electrokinetic chromatography. IV. Field-enhanced sample injection". *J. Chromatogr. A*, 798, pp. 251 – 257.
16. Organización Mundial de la Salud. "Informe de prensa durante el Día Mundial del Agua". En: El Espectador. Santa Fe de Bogotá, [en línea], 23 de marzo de 2001. [Citado 13 de febrero de 2006]. Disponible en internet: <http://www.elespectador.com/2001/20010323/medio-ambiente/nota1.htm>.
17. ORTA, Lissette Arrazcaeta, **2002** "Contaminación de las aguas por plaguicidas químicos". *Fitosanidad*, 6 (3), pp. 55 – 62.
18. NIVIA, Elsa, **2004**. "Por la eliminación de los plaguicidas extremadamente tóxicos. Los plaguicidas en Colombia". En: Sección Contexto: Agricultura orgánica y plaguicidas. *Revista Semillas*, 21. [En línea], [citado 6 de julio de 2006]. Disponible en internet: [http://www.semillas.org.co/articulos.htm?x=300878cmd\[172\]=c-1-21](http://www.semillas.org.co/articulos.htm?x=300878cmd[172]=c-1-21).
19. BURTON, Allen G. and PITT, Robert E. (editors), **2002**. "Appendix G: Water quality criteria". En: Stormwater effects handbook. A toolbox for watershed managers, scientists, and engineers. New York: Lewis Publishers, pp. 822 – 823.
20. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Republica de Colombia. [En línea], Junio de 2006, [citado 27 de junio de 2006]. Disponible en internet: [www.minambiente.gov.co](http://www.minambiente.gov.co).
21. BARCELÓ, Damià (Editor), **1993**. "Environmental analysis. Techniques, applications and quality assurance". Netherlands: Elsevier Science Publishers, 13, pp. 24,25, 608 – 631.

22. RODRÍGUEZ, Mariela; GAMBA, Nancy L.; LOZANO, Óscar Y.; ESTÉVEZ, Alicia; CASTILLO, Edgar; PEDRAZA, Eder; MORENO, Carlos E.; ORDUZ, Juan C.; ORDUZ, Jannet; FONSECA, José G. y HERRERA, Israel, **1998**. "Desempeño ambiental de la tecnología en la industria colombiana". En: Pablo Legua. El medio ambiente en Colombia. Bogotá : OP Gráficas, pp. 498 – 533.
23. OJEDA, Eduardo O. y URIBE, Raúl A. "Informe nacional sobre la gestión del agua en Colombia: recursos hídricos, agua potable y saneamiento". Santa Fe de Bogotá, [en línea], enero de 2000, [citado 13 de febrero de 2004]. Disponible en internet: [www.cultura.gov.do/programación%20feria%20del%20libro.htm](http://www.cultura.gov.do/programación%20feria%20del%20libro.htm).
24. AVILA, Joseph A. L. "Lo esencial acerca del intercambio iónico. Compendio de la XXV conferencia anual de la Water Quality Association". [En línea], 1999, [citado 8 de febrero de 2004 ]. Disponible en internet: [mx.geocities.com/ionopura/5-6-02avilla.pdf](http://mx.geocities.com/ionopura/5-6-02avilla.pdf).
25. ÖZTEKİN, Nevin and ERİM, Bedia F., **2001**. "Simultaneous determination of inorganic anions and organic acids by capillary electrophoresis. *Turk. J. Chem.*, 25, pp. 145 – 150.
26. KUHN, R and KUHN, "Hoffstetter S., **1993**. "Capillary Electrophoresis: Principles and Practice". Berlin: Springer. 375 p.
27. BORMAN, Phil; BOUGHTFLOWER, Bob; CATTANACH, Kaye; CRANE, Kathy; FREEBAIRN, Keith; JONAS, Greg; MUTTON, Ian; PATEL, Asha; SANDERS, Matt and THOMPSON, Duncan, **2003**. "Comparative

performances of selected chiral HPLC, SFC, and CE systems with a chemically diverse sample set”. *Chirality*, 15, pp. S1–S12.

28. DAY, Jason A.; SUTTON, Karen L.; SOMAN, Rajiv S. and CARUSO, Joseph A., **2000**. “A comparison of capillary electrophoresis using indirect UV absorbance and ICP-MS detection with a self-aspirating nebulizer interface”. *Analyst*, 125, pp. 819–823.
29. BINGS, Nicolas H; BOGAERTS, Annemie and BROEKAERT, José A. C. **2004**. “Atomic spectroscopy”. *Ana. Chem.*, 76, pp. 3313 – 3336.
30. De GREGORI, Ida H., **1996**. “Espectroscopia de absorción atómica basada en la atomización con llama y electrotérmica. En: Curso internacional sobre técnicas analíticas de manejo de muestras ambientales. Compuestos orgánicos–metales pesados. Apuntes del curso internacional sobre técnicas analíticas de manejo de muestras ambientales. Compuestos orgánicos–metales pesados”. Cali: Universidad del Valle. 65 p.
31. PRETSWELL, Emma L.; MCGAW, Brian A. and MORRISSON, Andrew R., **1995**. “The comparison of capillary zone electrophoresis and atomic spectroscopy for the determination of the cation content of a standard reference material iaea-a-11 milk powder”. *Talanta*, 42 (2), pp. 283 –289.
32. MIÑANA, Victoria L., **2002**. “Calcio en el agua de bebida en la infancia: ¿molesto o necesario?”. *Acta Pediatr. Esp.* 60 (2), pp. 99 – 109.
33. HIISSA, Tarja; SIRÉN, Heli; KOTIAHO, Tapio; SNELLMAN, Margit and HAUTOJÄRVI, Aimo, **1999**. “Quantification of anions and cations in environmental water samples measurements with capillary electrophoresis and indirect-UV detection”. *J. Chromatogr. A*, 853, pp. 403 – 411.

34. ARCE, Lourdes; RÍOS, Angel and VALCÁRCEL, Miguel, **1997**. “Flow injection-capillary electrophoresis coupling to automate on-line sample treatment for the determination of inorganic ions in water”. *J. Chromatogr. A*, 791, pp. 279 – 287.
35. CHENG, Kezhan; ZHAO, Zhongxi; GARRICK, Richard; NORDMEYER, Francis R.; LEE, Milton L. and LAMB John D., **1995**. “Separation of metal cations by electrophoresis in a positively charged coated capillary”. *J. Chromatogr. A*, 706, pp. 517 – 526.
36. HARAKUWE, Anthony and HADDAD, Paul R., **1997**. “Analytical performance characteristics of the separation of fluoride in toothpaste by capillary electrophoresis”. *Anal. Commun.*, 34, pp. 67 – 68.
37. SCHAUFELBERGER, D. E. and GUZMAN, N. A., **1997**. “Capillary electrophoresis”. Las Vegas: Marcel Dekker. pp. 1360 – 1370.
38. BAKER R, Dale, **1995**. “Capillary electrophoresis”. New York: John Wiley. 244 p.
39. LAMBERT, William J.; MIDDLETON and David L., **1990**. “pH hysteresis effect with silica capillaries in capillary zone electrophoresis”. *Anal. Chem.*, 62, pp. 1585 – 1587.
40. HAIR, Michael L. and HERTL, William, **1970**. “Acidity of surface hydroxyl groups”. *J. Phys. Chem.*, 74 (1), pp. 91 – 94.

41. CARUSO, Joseph A. and MONTES, María B., **2003**. “Elemental speciation studies—new directions for trace metal analysis”. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 56, pp. 148 – 163.
42. GROSSMAN, Paul D.; COLBURN, Joel C.; LAUER, Henk H.; NIELSEN, Randal G.; RIGGIN, Ralph M.; SITTAMPALAM, G. S., and RICKARD, Eugene C., **1989**. “Application of free-solution capillary electrophoresis to the analytical scale separation of proteins and peptides. *Ana. Chem.*, 67, pp. 1186 – 1194.
43. TERABE, Shigeru; OTSUKA, Koji; ICHIKAWA, Kunimichi; TSUCHIYA, Akihiro, and ANDO, Teiichi, **1984**. “Electrokinetic separations with micellar solutions and open-tubular capillaries”. *Ana. Chem.*, 56 (1), pp. 111 – 113.
44. KUBÁŇ, Pavel; KUBÁŇ, Petr and KUBÁŇ, Vlastimil, **2002**. “Simultaneous determination of inorganic and organic anions, alkali, alkaline earth and transition metal cations by capillary electrophoresis with contactless conductometric detection”. *Electrophoresis*, 23, pp. 3725 – 3734.
45. ISAAQ, Haleem J., **2000**. “A decade of capillary electrophoresis”. *Electrophoresis*, 21, pp. 1921 – 1939.
46. FALLER, T. and ENGELHARDT, H., **1999**. “How to achieve higher repeatability and reproducibility in capillary electrophoresis”. *J. Chromatogr. A*, 853, pp. 83 – 94.
47. GAŠ, Bohuslav and KENNDLER, Ernst, **2004**. “Review: System zones in capillary zone electrophoresis”. *Electrophoresis*, 25, pp. 3901 – 3912.

48. LU, Bing and WESTERLUND, Douglas, **1998**. "Response patterns with indirect UV detection in capillary zone electrophoresis". *Electrophoresis*, 19, pp. 1683 – 1690.
49. KIST, Tarso B. L., **1996**. "Theory of solitary waves in electrophoresis". *Electrophoresis*, 17, pp. 1173 – 1180.
50. ŠTĚDRÝ, Milan; JAROŠ, Michal; VČELÁKOVÁ, Kateřina and GAŠ, Bohuslav, **2003**. "Eigenmobilities in background electrolytes for capillary zone electrophoresis: II. Eigenpeaks in univalent weak electrolytes". *Electrophoresis*, 24, pp. 536 – 547.
51. GEBAUER, Petr; PANTŮČKOVA, Pavla and BOČEK, Petr, **1999**. "Analytical expediency of acidic and alkaline background electrolytes in capillary zone electrophoresis: Role system zones in single-co-ion systems". *Anal. Chem.* 71, pp. 3374 – 3381.
52. GEBAUER, Petr and BOČEK, Petr, **2000**. "New aspects of buffering with multivalent weak acids in capillary zone electrophoresis: Pros and cons of the phosphate buffer". *Electrophoresis*, 21, pp. 2809 – 2813.
53. ŠTĚDRÝ, Milan; JAROŠ, Michal and GAŠ, Bohuslav, **2002**. "Eigenmobilities in background electrolytes for capillary zone electrophoresis. I. System eigenpeaks and resonance in systems with strong electrolytes". *J. Chromatogr. A*, 960, pp. 187 – 198.
54. KIM, Jong-Bok and TERABE, Shigeru, **2003**. "Review: On-line sample preconcentration techniques in micelar electrokinetic chromatography". *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 30, pp. 1625 – 1643.

55. McCORMICK, Randy and ZAGURSKY, Robert J., **1991**. "Polyimide stripping device for producing detection windows on fused-silica tubing used in capillary electrophoresis". *Anal. Chem.*, 63, pp. 750 – 752.
56. JOHNS, Cameron; MIROSLAV, Macka and PAUL, Haddad R., **2003**. "Review: Enhancement of detection sensitivity for indirect photometric detection of anions and cations in capillary electrophoresis". *Electrophoresis*, 24, pp. 2150 – 2167.
57. YEUNG, Edward S., **1989**. "Indirect detection methods: looking for what is not there". *Acc. Chem. Res.*, 22, pp. 125 – 130.
58. BECKERS, Jozef L. and BOČEK, Petr, **2003**. "The preparation of background electrolytes in capillary electrophoresis: golden rules and pitfalls". *Electrophoresis*, 24, pp. 518 – 535.
59. XIONG, Xiang and LI, Sam F. Y., **1999**. "Design of background electrolytes for indirect photometric detections based on a model of sample zone absorption in capillary electrophoresis". *J. Chromatogr. A*, 835, pp. 169 – 185.
60. HPCE with CAPEL systems. "Applications". Lumex applications. [En línea], 2002, [citado 20 de julio de 2004]. Disponible en Internet: [www.lumex.ru](http://www.lumex.ru)
61. DIONEX. "Determinación of inorganic cations by capillary electrophoresis". En: Dionex application note 91. [En línea], **1994**, [citado 13 de febrero de 2004]. Disponible en internet: [www1.dionex.com/en-us/webdocs/application/industry/other/an91.pdf](http://www1.dionex.com/en-us/webdocs/application/industry/other/an91.pdf)

62. CORTACERO, Sonia R.; HERNÁINZ, Miguel B., SEGURA, Antonio C., CRUCES, Carmen B. and FERNÁNDEZ, Alberto G., **2003**. "Analysis of beer components by capillary electrophoretic methods". *Trends Anal. Chem.*, 22 (7, 8), pp. 440 – 455.
63. FOLEY, Joe P., **1990**. "Optimization of micellar electrokinetic chromatography". *Anal. Chem.*, 62, pp 1302 – 1308.
64. NAKAMURA, Hiroshi; SANO, Akira and MATSUURA, Kiyomi, **1998**. "Determination of critical micelle concentration of anionic surfactants by capillary electrophoresis using 2-naphtalenemethanol as a marker for micelle formation". *Anal. Sci.*, 14, pp. 379 – 382.
65. GHOWSI, Kiumars; FOLY, Joe P. and GALE, R. J., **1990**. "Micellar electrokinetic capillary chromatography theory based on electrochemical parameters: optimisation for three modes of operation". *Anal. Chem.*, 62, pp 2714 – 2721.
66. LIN, Ching-Erh; LIU, Yu-Chih; YANG, Tzung-Ying; WANG, Ta-Zen and YANG, Chu-Chi, **2001**. "On-line concentration of s-triazine herbicides in micellar electrokinetic chromatography using a cationic surfactant". *J. Chromatogr. A*, 916, pp. 239 – 245.
67. LIN, Ching-Erh; WANG, Ta-Zen; HUANG, Hui-Chun; HSUEH, Chung-Chuan and LIU, Yu-Chih, **2000**. "Capillary zone electrophoretic separation of neutral species of chloro-s-triazines in the presence of cationic surfactant monomers". *J. Chromatogr. A*, 878, pp. 137 – 145.
68. CORRAN, Patrick H. and SUTCLIFFE, Nick, **1993**. "Identification of gonadorelin (LHRH) derivatives: comparison of reversed-phase high-

performance liquid chromatography and micellar electrokinetic chromatography". *J. Chromatogr. A*, 636, pp. 87 – 94.

69. LUCANGIOLI, Silvia E.; CARDUCCI, Clyde N.; TRIPODI, Valeria P. and KENNDLER, Ernest, **2001**. "Retention of bile salts in micellar electrokinetic chromatography: relation of capacity factor to octanol-water partition coefficient and critical micellar concentration". *J. Chromatogr. B*, 765 (2) pp. 113 – 120.
70. RODRÍGUEZ, Miguel Delgado; GARCIA, Francisco Montelongo and CIFUENTES, Alejandro, **2002**. "Ultrafast sodium dodecyl sulfate micellar electrokinetic chromatography with very acidic running buffers". *Anal. Chem.*, 74, pp. 257 – 260.
71. KELLY, Kathleen A.; BURNS, Scott T. and KHALEDI, Morteza G., **2001**. "Prediction of retention in micellar electrokinetic chromatography from solute structure. 1. Sodium dodecyl sulfate micelles". *Anal. Chem.*, 73, pp. 6057 – 6062.
72. TURIEL, E.; FERNÁNDEZ, C.; PÉREZ, C. Conde and CÁMARA, C., **2000**. "Trace-level determination of triazines and several degradation products in environmental waters by solid-phase extraction and micellar electrokinetic chromatography". *J. Chromatogr. A*, 872, pp. 299 – 307.
73. LIN, Cheng-Huang and KANETA, Takashi, **2004**. "Review: On-line sample concentration techniques in capillary electrophoresis: velocity gradient techniques and sample concentration techniques for biomolecules". *Electrophoresis*, 25, pp. 4058 – 4073.

74. QUIRINO, Joselito P. and TERABE, Shigeru, **1997**. "On-line concentration of neutral analytes for micelar electrokinetic chromatography. I. Normal stacking mode". *J. Chromatogr. A*, 781, pp. 119 – 128.
75. PALMER, James; BURGI, Dean S. and LANDERS, James P., **2002**. "Electrokinetic stacking injection of neutral analytes under continuous conductivity conditions". *Anal. Chem.*, 74, pp. 632 – 638.
76. PALMER, James; BURGI, Dean S.; MUNRO, Nicole J. and LANDERS James P., **2001**. "Electrokinetic injection for stacking neutral analytes in capillary and microchip electrophoresis". *Anal. Chem.*, 73, pp. 725 – 731.
77. PALMER, James; MUNRO, Nicole J. and LANDERS James P., **1999**. "A universal concept for stacking neutral analytes in micelar capillary electrophoresis". *Anal. Chem.*, 71, pp. 1679 – 1687.
78. QUIRINO, Joselito P. and TERABE, Shigeru, **1998**. "Exceeding 5000-fold concentration of dilute analytes in micellar electrokinetic chromatography". *Science*, 282, pp. 465 – 468.
79. QUIRINO, Joselito P. and TERABE, Shigeru, **1997**. "On-line concentration of neutral analytes for micelar electrokinetic chromatography. II. Reversed electrode polarity stacking mode". *J. Chromatogr. A*, 791, pp. 255 – 267.
80. QUIRINO, Joselito P.; OTSUKA, Koji and TERABE, Shigeru, **1998**. "On-line concentration of neutral analytes for micelar electrokinetic chromatography. VI. Stacking using reverse migrating micelles and a water plug". *J. Chromatogr. B*, 714, pp. 29 – 38.

81. QUIRINO, Joselito P. and TERABE, Shigeru, **1998**. "On-Line Concentration of Neutral Analytes for Micellar Electrokinetic Chromatography. 5. Field-Enhanced Sample Injection with Reverse Migrating Micelles". *Anal. Chem.*, 70 (9), pp. 1893 – 1901.
82. QUIRINO, Joselito P.; TERABE, Shigeru and BOCEK, Petr, **2000**. "Correspondence: Sweeping of neutral analytes in electrokinetic chromatography with high-salt-containing matrixes". *Anal. Chem.*, 72, pp. 1934 – 1940.
83. BURGI, Dean S. and LANDERS, James P., **2002**. "Response to comment on: electrokinetic stacking injection of neutral analytes under continuous conductivity conditions". *Anal. Chem.*, 74, p. 3931.
84. CHIEN, Ring Ling, **2002**. "Correspondence: Comment on: electrokinetic stacking injection of neutral analytes under continuous conductivity conditions". *Anal. Chem.*, 74, pp. 3929 – 3930.
85. PALMER, James and LANDERS James P., **2000**. "Stacking neutral analytes in capillary electrokinetic chromatography with high-salt sample matrixes". *Anal. Chem.*, 72, pp. 1941 – 1943.
86. CHIEN, Ring Ling, **2003**. "Review: Sample stacking revisited: A personal perspective". *Electrophoresis*, 24, pp. 486 – 497.
87. JANINI, George M.; MUSCHIK, Gary M. and ISSAQ, Haleem J., **1995**. "Micellar electrokinetic chromatography in coated capillaries: determination of micelle-aqueous partition coefficients". *J. High Resol. Chromatogr.*, 18, pp. 171 – 174.

88. LIZUKA, Eiji; TSUDA, Takao; MUNESUE, Motonori and SAMIZO, Shinichi, **2003**. "Nanoinjector for Capillary Electrophoresis and Capillary Electrochromatography". *Anal. Chem.* 75, pp. 3929 – 3933.
89. WORKMAN, Jerome, Jr.; KOCH, Mel and Veltkamp, David J., **2003**. "Process Analytical Chemistry". *Anal. Chem.*, 75, pp. 2859 – 2876.
90. TIMERBAEV, Andrei R.; DABEK-ZLOTORZYNSKA, Ewa and VAN DEN HOOP, Marc A. G. T., **1999**. "Inorganic environmental analysis by capillary electrophoresis". *Analyst.*, 124, pp. 811 – 826.
91. VALSECCHI, Sara M. and POLESELLO, Stefano, **1999**. "Review: Analysis of inorganic species in environmental samples by capillary electrophoresis". *J. Chromatogr. A*, 834, pp. 363 – 385.
92. FUKUSHI, Keiichi; TAKEDA, Sahori; CHAYAMA, Kenji and WAKIDA, Shin-ichi, **1999**. "Review: Application of capillary electrophoresis to the analysis of inorganic ions in environmental samples". *J. Chromatogr. A*, 834, pp. 349 – 362
93. PAULL, Brett and KING, Marion, **2003**. "Review: Quantitative capillary electrophoresis of inorganic anions". *Electrophoresis*, 24, pp. 1892 – 1934.
94. LUCY, Charles A., **1999**. "Review: Factors affecting selectivity of inorganic anions in capillary electrophoresis" *J. Chromatogr. A*, 850, pp. 319 – 337.
95. DOBLE, Philip; MACKA, Miroslav; ANDERSSON, Per and HADAD, Paul R., **1997**. "Buffered chromate electrolytes for separation and indirect absorbance detection of inorganic anions in capillary electrophoresis". *Anal. Commun.*, 34, pp. 351 – 353.

96. STATHAKIS, Costas and CASSIDY, Richard M., **1994**. "Cationic Polymers for Selectivity Control in the Capillary Electrophoretic Separation of Inorganic Anions". *Anal. Chem.*, 66, pp. 2110 – 2115.
97. PRINCE TECHNOLOGIES. "The analysis of anions by capillary electrophoresis with indirect UV detection". Prince application: note chem-1. [En línea], septiembre 1997, [citado 13 de enero de 2004]. Disponible en internet: [www.princetechnologies.nl/info/pdf/chem2.pdf](http://www.princetechnologies.nl/info/pdf/chem2.pdf)
98. QU, Feng; LIN, Jin-Ming and CHEN, Zuliang, **2004**. "Short communication: Simultaneous separation of nine metal ions and ammonium with nonaqueous capillary electrophoresis". *J. Chromatogr. A*, 1022, pp. 217 – 221.
99. FRACASSI, José A. da Silva; RICELLI, Nara L.; CARVALHO, Alexandre Z. and do LAGO, Claudimir L., **2003**. "Improved separation of IA and IIA metal cations in matrices with high sodium concentration by capillary electrophoresis with contactless conductometric detection". *J. Braz. Chem. Soc.*, 14 (2), pp. 265 – 268.
100. LIU, Bi-Feng; LIU, Liang-Bin and CHENG, Jie-Ke, **1999**. "Analysis of inorganic cations as their complexes by capillary electrophoresis". *J. Chromatogr. A*, 834, pp. 277 – 308.
101. ALTRIA, K. D.; WALLBERG, M and WESTERLUND, D., **1998**. "Short communication: Separation of a range of cations by nonaqueous capillary electrophoresis using indirect and direct detection". *J. Chromatogr. B*, 714, pp. 99 – 104.

102. SWILE, David F. and SEPANIAK, Michael J., **1991**. "Determination of metal ions by capillary zone electrophoresis with on-column chelation using 8-hidroxyquinoline-5-sulfonic". *Anal. Chem.*, 63, pp. 179 – 184.
103. PRINCE TECHNOLOGIES. "Inorganic cation analysis by capillary electrophoresis with indirect UV detection". Prince application: note chem-2. [En línea], octubre 1997, [citado 13 de enero de 2004]. Disponible en internet: [www.princetechnologies.nl/info/pdf/chem2.pdf](http://www.princetechnologies.nl/info/pdf/chem2.pdf)
104. SHAKULASHVILI, N.; FALLER, T. and ENGELHARDT H., **2000**. "Simultaneous determination of alkali, alkaline earth and transition metal ions by capillary electrophoresis with indirect UV detection". *J. Chromatogr. A*, 895, pp. 205 – 212.
105. KUBÁŇ, Pavel; KUBÁŇ, Petr and KUBÁŇ, Vlastimil, **1999**. "Short communication: Simultaneous capillary electrophoretic separation of small anions and cations after complexation with ethylenediaminetetraacetic acid". *J. Chromatogr. A*, 836, pp. 75 – 80.
106. KUBAN, Petr and KARLBERG, Bo, **1998**. "Simultaneous determination of small cations and anions by capillary electrophoresis". *Anal. Chem.*, 70, pp. 360 – 365.
107. PADARAUSKAS, Audrius; OLSAUSKAITE, Vilma and SCHWEDT, Georg, **1998**. "Simultaneous separation of inorganic anions and cations by capillary zone electrophoresis". *J. Chromatogr. A*, 800, pp. 369 – 375.
108. CASTAÑÉ, F.X. Sitjas; VERA, M. Soler y ESCUDERO, C. Pérez, **2003**. "Aplicaciones de la electroforesis capilar en la industria cervecera". *Cerveza y Malta*, 160, pp. 47 – 54.

109. XU, Jianming; CHEN, ZuLiang; YU, Jimmy C. and TANG, C., **2000**. "Separation and detection of metal ions in ecological samples by capillary zone electrophoresis with indirect UV detection". *J. High Resol. Chromatogr.*, 23, pp. 511 – 514.
110. SOGA, Tomoyoshi; TAJIMA, Ikuko and HEIGER, DAVID N., **2000**. "Capillary electrophoresis for the determination of forensic anions in adulterated foods and beverages". *Am. Lab.*, 32, pp. 124 – 128.
111. ORTA, D; MUDGETT, P.D.; DING, L.; DRYBREAD, M.; SCHULTZ, R.L. and SAUER, R.L., **1998**. "Analysis of water from the Space Shuttle and Mir Space Station by ion chromatography and capillary electrophoresis". *J. Chromatogr. A*, 804, pp. 295 – 304.
112. ATSDR, Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades. División de Toxicología y Medicina Ambiental. Atlanta. [En línea], [citado 6 de julio de 2006]. Disponible en internet: [http://www.atsdr.cdc.gov/es/es\\_index.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/es_index.html)
113. National Academy of Science, **1977**. "Inorganic solutes". En: *Drinking water and health*. Vol. 1, Washington, pp. 205 – 488. [En línea], 2000, [citado 6 de julio de 2006]. Disponible en internet: <http://darwin.nap.edu/books/0309026199/html/R1.html>.
114. FRÍAS, S.; SÁNCHEZ, M. J. and RODRÍGUEZ, M. A., **2004**. "Determination of triazine compounds in ground water samples by micellar electrokinetic capillary chromatography". *Anal. Chim. Acta*, 503, pp 271 – 278.

115. PACÁKOVÁ, Věra; ŠTULÍK, Karel and JISKRA, Jan, **1996**. "Review: High-performance separations in the determination of triazine herbicides and their residues". *J. Chromatogr. A*, 754, pp. 17 – 31.
116. BALDUINI, L.; MATOGA, M.; CAVALLI, E.; SEILLES, E.; RIETHMULLER, D.; THOMASSIN, M. and GUILLAUMEA, Y. C., **2003**. "Short communication: Triazinic herbicide determination by gas chromatography–mass spectrometry in breast milk". *J. Chromatogr. B*, 794, pp. 389 – 395.
117. PICÓ, Yolanda; RODRÍGUEZ, Rafael and MAÑES, Jordi, **2003**. "Capillary electrophoresis for the determination of pesticide residues". *Trends Anal. Chem.*, 22 (3), pp. 133 – 151.
118. CARABIAS, R. M.; RODRÍGUEZ, G. E.; REVILLA, P. R. and DOMÍNGUEZ, A. J., **2003**. "Solid-phase extraction and sample stacking–micellar electrokinetic capillary chromatography for the determination of multiresidues of herbicides and metabolites". *J. Chromatogr. A*, 990, pp. 291 – 302.
119. FRÍAS, S.; RODRÍGUEZ, M. A.; CONDE, J. E. and PÉREZ, J. P., **2003**. "Optimization of a solid-phase microextraction procedure for the determination of triazines in water with gas chromatography-mass spectrometry detection". *J. Chromatogr. A*, 1007, pp. 127 – 135.
120. LIN, Ching-Erh; LIU, Yu-Chih; YANG, Tzung-Ying; WANG, Ta-Zen and YANG, Chu.Chi, **2000**. "On line concentration of s-triazine herbicides in micelar electrokinetic chromatography using a cationic surfactant". *J. Chromatogr. A*, 916, pp. 239 – 245.

121. HUANG, Shang-Da; HUANG, Hsin-I and SUNG, Yu-Hsiang, **2004**. "Analysis of triazine in water samples by solid-phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography". *Talanta*, 64, pp. 887 – 893.
122. EISERT, Ralf and LEVSEN, Karsten, **1995**. "Determination of Pesticides in Aqueous Samples by Solid-Phase Microextraction In-Line Coupled to Gas Chromatography-Mass Spectrometry". *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 6, pp. 1119 – 1130.
123. GONÇALVES, C. and ALPENDURADA, M. F., **2002**. "Multiresidue method for the simultaneous determination of four groups of pesticides in ground and drinking waters, using solid-phase microextraction–gas chromatography with electron-capture and thermionic specific detection". *J. Chromatogr. A*, 968, pp. 177 – 190.
124. LIN, Ching-Erh; HSUEH, Chung-Chuan; WANG, Ta-Zen; CHIU, Tai-Chia and CHEN, Yung-Chih, **1999**. "Migration behavior and separation of s-triazines in micellar electrokinetic capillary chromatography using a cationic surfactant". *J. Chromatogr. A*, 835, pp. 197 – 207.
125. CARABIAS, R. M.; RODRÍGUEZ, G. E.; MUÑOZ, A. I. D.; DOMÍNGUEZ, A. J., and HERNÁNDEZ, M. J., **1996**. "Determination of triazine herbicides in water by micellar electrokinetic capillary chromatography". *J. Chromatogr. A*, 733, pp. 349 – 360.
126. TURIEL, Esther; FERNÁNDEZ, Pilar; PÉREZ-CONDE, Concepción and CÁMARA, Carmen, **2000**. "On-line concentration in micellar electrokinetic chromatography for triazine determination in water samples:

evaluation of three different stacking modes”. *Analyst*, 125, pp. 1725 – 1731.

127. Da SILVA, Clóvis; De LIMA, Elizabeth C. and TAVARES, Marina F. M., **2003**. “Investigation of preconcentration strategies for the trace analysis of multi-residue pesticides in real sample by capillary electrophoresis”. *J. Chromatogr. A*, 1014, pp. 109 – 116.
128. POOLE, Colin F. and POOLE, Salwa K. **1991**. “Chromatography today”. USA: Elsevier. pp. 777 – 782.
129. GONZÁLEZ, M. J.; ARREBOLA, F. J.; GARRIDO, A.; MARTÍNEZ, J. L. and SÁNCHEZ, F. J., **2005**. “Determination of pesticides and some metabolites in different kinds of milk by solid-phase microextraction and low-pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry”. *Anal. Bioanal. Chem.*, 382, pp. 164 – 172.
130. HERNÁNDEZ, Javier B.; CIFUENTES, Alejandro; GARCÍA, Francisco J. Montelongo; RODRÍGUEZ, Miguel Delgado, **2005**. “Combining solid-phase microextraction and online preconcentration-capillary electrophoresis for sensitive analysis of pesticides in foods”. *Electrophoresis*, 26, pp. 980 – 989.
131. TAVERNIERS, Isabel; De LOOSE, Marc and Van BOCKSTAELE, Erik, **2004**. “Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance”. *Trends Anal. Chem.*, 23 (8), pp. 535 – 552.
132. DANZER, Klaus; OTTO, Matthias and CURRIE, Lloyd A., **2004**. “IUPAC Technical Report: Guidelines for calibration in analytical chemistry.

- Part 2. Multispecies calibration". *Pure Appl. Chem.*, 76(6), pp. 1215 – 1225.
133. SWARTZ, Michael E. and KRULL, Ira S., **1998**. "Validation of chromatographic methods". *Pharmaceutical Technology*, pp. 104 – 120.
134. WEED, Donald Jr., **1999**. "A statistically integrated approach to analytical method validation". *Pharmaceutical Technology*, pp. 116 – 129.
135. WOOD, Roger, **1999**. "How to validate analytical methods". *Trends Anal. Chem.*, 18 (9, 10), pp. 624 – 632.
136. KRULL, Ira and SWARTZ Michael, **1998**. "Analytical methods: Determining limits of detection and quantitation". En: Validation viewpoint. USA. LC-GC and Advanstar publication. [www.advanstar.com](http://www.advanstar.com).
137. EATON, Andrew D.; CLESCERI, Lenore S. and GREENBERG, Arnold E. (Editors), **1995**. "Collection and Preservation of sample". En: Standard methods for examination of water and wastewater. Washington: American public health association, 19<sup>ed.</sup>, pp. 1-18 – 1-24.
138. StatSoft, Inc. (2001). STATISTICA (data analysis software system), version 6. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
139. LACEY, Michael E.; WEBB, Andrew G. and SWEEDLER, Jonathan V., **2000**. "Monitoring temperature changes in capillary electrophoresis with nanoliter-volume NMR thermometry". *Anal. Chem.*, 72, pp. 4991 – 4998.

140. MACKA, Miroslav; ANDERSSON, Per and HADDAD, Paul R., **1998**. "Changes in electrolyte pH due to electrolysis during capillary zone electrophoresis". *Anal. Chem.*, 70, pp. 743 – 749.
141. KUHR G, Werner, **1990**. "Capillary Electrophoresis". *Anal. Chem.*, 62, pp. 403R – 414R.
142. FANG, Ning; TING, Eon and CHEN, David D. Y., **2002**. "Determination of shapes and maximums of analyte peaks based on solute mobilities in capillary electrophoresis". *Anal. Chem.*, 76, pp. 1708 – 1714.
143. BURKE, Shaun, **1998**. "Regression and calibration". En: statistics and data analysis. LC·GC Europe Online Supplement. pp. 13 – 18.
144. MORRIS, Vicki M.; HUGHES, Jeff G. and MARRIOTT, Philip J., **1996**. "Examination of a new chromatographic function, based on an exponential resolution term, for use in optimization strategies: application to capillary gas chromatography separation of phenols". *J. Chromatogr. A*, 755, pp. 235 – 243.
145. PAULL, Brett and KING, Marion, **2003**. "Quantitative capillary zone electrophoresis of inorganic anions". *Electrophoresis*, 24, pp. 182 – 1934.
146. KANG, Seong-Ho; SHIN, Dae-Ho and CHANG, Yoon-Seok, **2003**. "Quantitative analysis of seven triazine herbicides by on-line micellar electrokinetic chromatography-electrospray ionization mass spectrometry". *Bull. Korean Chem. Soc.*, 24 (9), pp. 1319 – 1323.

147. ARTHUR, Catherine L.; KILLAM, Lisa M.; BUCHHOLZ, Karen D. and PAWLISZYN, Janusz, **1992**. "Automation and optimization of solid-phase microextraction". *Ana. Chem.*, 64, pp. 1960 – 1966.

**ANEXO 1. Precisión y exactitud de las metodologías para la determinación de iones presentes en aguas, mediante electroforesis capilar en zona**

**Tabla 12. Precisión, expresada como %CV para las áreas corregidas con el tiempo de retención, obtenidas con la metodología para determinación de aniones por CZE. Aplicada en tres soluciones con diferentes concentraciones para cada ión**

Ión	Solución 1			
	Concentración real (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)	% CV	% R
$Cl^{1-}$	3,00	1,34 ± 0,03	1,92	106,4
$NO_2^{1-}$	4,00	1,01 ± 0,03	3,10	101,0
$SO_4^{2-}$	3,00	1,11 ± 0,03	2,69	94,0
$NO_3^{1-}$	3,00	0,85 ± 0,02	2,75	94,1
$F^{1-}$	2,50	3,08 ± 0,04	1,42	109,0
$PO_4^{3-}$	2,00	1,00 ± 0,02	1,93	97,6
Solución 2				
$Cl^{1-}$	4,10	1,65 ± 0,01	0,60	96,9
$NO_2^{1-}$	5,00	1,40 ± 0,01	0,46	97,6
$SO_4^{2-}$	3,50	1,39 ± 0,03	2,18	101,5
$NO_3^{1-}$	3,50	1,03 ± 0,03	3,35	97,8
$F^{1-}$	3,50	3,79 ± 0,07	1,85	96,1
$PO_4^{3-}$	2,50	1,26 ± 0,04	3,34	97,6
Solución 3				
$Cl^{1-}$	4,50	1,97 ± 0,02	1,20	105,9
$NO_2^{1-}$	6,00	1,47 ± 0,03	1,96	95,9
$SO_4^{2-}$	4,00	1,65 ± 0,01	0,84	106,7
$NO_3^{1-}$	4,00	1,22 ± 0,04	3,55	101,5
$F^{1-}$	4,00	4,57 ± 0,05	1,01	101,4
$PO_4^{3-}$	3,00	1,54 ± 0,03	1,67	99,4

**Tabla 13. Precisión, expresada como %CV para las áreas corregidas con el tiempo de retención, obtenidas con la metodología para determinación de cationes por CZE. Aplicada en tres soluciones con diferentes concentraciones para cada ión**

Ión	Solución 1			
	Concentración real (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)	% CV	% R
$NH_4^{1+}$	0,30	0,254 ± 0,004	1,66	90,8
$K^{1+}$	0,60	0,26 ± 0,01	3,10	96,7
$Na^{1+}$	0,60	0,57 ± 0,01	1,11	102,2
$Mg^{2+}$	0,20	0,306 ± 0,003	0,95	86,6
$Li^{1+}$	0,20	0,67 ± 0,01	0,91	100,4
$Sr^{2+}$	0,20	0,090 ± 0,001	1,53	105,7
$Ba^{2+}$	0,20	0,047 ± 0,002	4,93	70,8
$Ca^{2+}$	0,20	0,246 ± 0,003	1,24	69,2
Solución 2				
$NH_4^{1+}$	0,90	0,84 ± 0,01	1,35	111,3
$K^{1+}$	1,30	0,571 ± 0,003	0,55	101,2
$Na^{1+}$	1,20	1,03 ± 0,01	0,91	98,2
$Mg^{2+}$	1,00	1,469 ± 0,001	0,10	104,6
$Li^{1+}$	1,00	3,04 ± 0,04	1,27	103,6
$Sr^{2+}$	1,00	0,429 ± 0,004	0,82	108,0
$Ba^{2+}$	1,00	0,312 ± 0,002	0,73	104,4
$Ca^{2+}$	1,00	0,93 ± 0,01	0,91	93,5

Continuación de la **Tabla 13**

Ión	Solución 3			
	Concentración real (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)	% CV	% R
$NH_4^{1+}$	17,00	15,02 ± 0,29	1,95	105,3
$K^{1+}$	16,00	6,8 ± 0,1	1,58	97,7
$Na^{1+}$	16,00	13,6 ± 0,3	1,96	102,6
$Mg^{2+}$	22,00	31,6 ± 1,1	3,61	93,3
$Li^{1+}$	16,00	37,1 ± 0,2	0,50	92,9
$Sr^{2+}$	17,00	7,1 ± 0,1	1,54	94,9
$Ba^{2+}$	16,00	4,9 ± 0,1	2,29	94,5
$Ca^{2+}$	16,00	13,7 ± 0,3	1,99	93,8

**Tabla 14. Exactitud expresada como %R, obtenidas con la metodología para determinación de aniones por CZE. Aplicada en tres soluciones estándar con diferentes concentraciones para cada ión**

Ión	Solución 1		
	Concentración real (ppm)	Concentración calculada (ppm)	% R
$Cl^{1-}$	1,20	1,20 ± 0,03	100,4
$NO_2^{1-}$	2,30	2,24 ± 0,05	97,5
$SO_4^{2-}$	0,80	0,74 ± 0,06	92,2
$NO_3^{1-}$	4,20	4,01 ± 0,07	95,4
$F^{1-}$	0,40	0,33 ± 0,03	81,3
$PO_4^{3-}$	0,60	0,56 ± 0,04	93,5
Solución 2			
$Cl^{1-}$	6,50	6,66 ± 0,07	102,5
$NO_2^{1-}$	6,00	6,3 ± 0,2	104,3
$SO_4^{2-}$	6,00	6,26 ± 0,07	104,4
$NO_3^{1-}$	5,50	5,3 ± 0,2	95,5
$F^{1-}$	5,50	5,5 ± 0,1	100,4
$PO_4^{3-}$	4,50	4,42 ± 0,07	98,3
Solución 3			
$Cl^{1-}$	5,90	5,96 ± 0,03	101,1
$NO_2^{1-}$	5,80	5,82 ± 0,09	100,4
$SO_4^{2-}$	6,00	5,73 ± 0,07	95,5
$NO_3^{1-}$	4,50	4,54 ± 0,06	101,0
$F^{1-}$	5,30	5,15 ± 0,05	97,2
$PO_4^{3-}$	3,50	3,80 ± 0,06	108,5

**Tabla 15. Exactitud expresada como %R, obtenidas con la metodología para determinación de cationes por CZE. Aplicada en tres soluciones estándar con diferentes concentraciones para cada ión**

Ión	Solución 1		
	Concentración real (ppm)	Concentración calculada (ppm)	% R
$NH_4^{1+}$	17,0	17,8 ± 0,2	104,8
$K^{1+}$	16,0	15,7 ± 0,3	98,2
$Na^{1+}$	16,0	16,4 ± 0,2	102,5
$Mg^{2+}$	22,0	20,6 ± 0,4	93,5
$Li^{1+}$	15,0	14,9 ± 0,2	99,5
$Sr^{2+}$	16,0	16,3 ± 0,3	101,7
$Ba^{2+}$	16,0	15,2 ± 0,1	94,8
$Ca^{2+}$	16,0	15,1 ± 0,2	94,3
Solución 2			
$NH_4^{1+}$	-	-	-
$K^{1+}$	1,51	1,46 ± 0,02	97,2
$Na^{1+}$	0,95	1,04 ± 0,01	109,2
$Mg^{2+}$	0,51	0,5056 ± 0,0002	100,1
$Li^{1+}$	-	-	-
$Sr^{2+}$	-	-	-
$Ba^{2+}$	8,01	8,35 ± 0,08	104,3
$Ca^{2+}$	4,00	4,02 ± 0,04	100,4

Continuación de la **Tabla 15**

<b>Ión</b>	<b>Solución 3</b>		
	<b>Concentración real (ppm)</b>	<b>Concentración calculada (ppm)</b>	<b>% R</b>
$NH_4^{1+}$	-	-	-
$K^{1+}$	2,00	1,96 ± 0,01	97,8
$Na^{1+}$	1,00	0,92 ± 0,02	91,8
$Mg^{2+}$	0,70	0,73 ± 0,01	104,4
$Li^{1+}$	-	-	-
$Sr^{2+}$	-	-	-
$Ba^{2+}$	10,00	9,67 ± 0,05	96,6
$Ca^{2+}$	5,03	5,12 ± 0,02	101,8

**ANEXO 2. Características analíticas y curvas de calibración para la determinación de iones presentes en aguas mediante electroforesis capilar en zona.**

**Tabla 16. Características analíticas de la metodología para la determinación de aniones mediante CZE, en concentraciones bajas**

<b>ión</b>	<b>Intercepto</b>	<b>Pendiente [(mAU*s/min)/min]</b>	<b>Coefficiente de correlación</b>
$Cl^{1-}$	0,0613 ± 0,0040	0,4046 ± 0,0023	0,9998
$NO_2^{1-}$	-0,0655 ± 0,0123	0,2674 ± 0,0044	0,9989
$SO_4^{2-}$	0,0648 ± 0,0054	0,3721 ± 0,0022	0,9998
$NO_3^{1-}$	0,0071 ± 0,0079	0,2988 ± 0,0030	0,9995
$F^{1-}$	0,0321 ± 0,0171	1,1175 ± 0,0097	0,9996
$PO_4^{3-}$	-0,0231 ± 0,0237	0,5246 ± 0,0098	0,9979

**Tabla 17. Características analíticas de la metodología para la determinación de aniones mediante CZE, en concentraciones altas**

<b>ión</b>	<b>Intercepto</b>	<b>Pendiente [(mAU*s/min)/min]</b>	<b>Coefficiente de correlación</b>
$Cl^{1-}$	0,0463 ± 0,0807	0,4281 ± 0,0026	0,9997
$NO_2^{1-}$	-0,0152 ± 0,3643	0,3281 ± 0,0104	0,9950
$SO_4^{2-}$	-0,0538 ± 0,0722	0,3947 ± 0,0022	0,9998
$NO_3^{1-}$	0,4739 ± 0,1323	0,2527 ± 0,0040	0,9985
$F^{1-}$	0,7357 ± 0,2632	1,0109 ± 0,0084	0,9995
$PO_4^{3-}$	0,9630 ± 0,2462	0,4245 ± 0,0074	0,9982

**Tabla 18. Límites de detección y de cuantificación de la metodología para la determinación de aniones mediante CZE**

<b>ión</b>	<b>LOD (ppm)</b>	<b>LOQ (ppm)</b>	<b>Concentración máxima permitida (ppm) <sup>a</sup></b>	<b>LOD (ppm) <sup>b</sup></b>
<i>Cl</i> <sup>1-</sup>	0,17	0,56	250	0,07 <sup>c</sup>
<i>NO</i> <sub>2</sub> <sup>1-</sup>	0,57	1,88	0,1	0,09 <sup>c</sup>
<i>SO</i> <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,09	0,29	250	0,07 <sup>c</sup>
<i>NO</i> <sub>3</sub> <sup>1-</sup>	0,14	0,47	10	0,15 <sup>c</sup>
<i>F</i> <sup>1-</sup>	0,14	0,48	1,2	0,008 <sup>c</sup>
<i>PO</i> <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0,11	0,36	0,2	0,10 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Máximo valor permitido en la legislación colombiana. <sup>b</sup> Límites de detección reportados en la literatura. <sup>c</sup> [92]

**Tabla 19. Características analíticas de la metodología para la determinación de cationes mediante CZE, en concentraciones bajas**

<b>ión</b>	<b>Intercepto</b>	<b>Pendiente [(mAU*s/min)/min]</b>	<b>Coefficiente de correlación (R<sup>2</sup>)</b>
<i>NH</i> <sub>4</sub> <sup>1+</sup>	0,0351 ± 0,0399	0,8048 ± 0,0277	0,9941
<i>K</i> <sup>1+</sup>	0,0107 ± 0,0077	0,4264 ± 0,0035	0,9995
<i>Na</i> <sup>1+</sup>	0,0661 ± 0,0319	0,8148 ± 0,0135	0,9984
<i>Mg</i> <sup>2+</sup>	0,0752 ± 0,0441	1,3321 ± 0,0266	0,9976
<i>Li</i> <sup>1+</sup>	0,1061 ± 0,0504	2,8280 ± 0,0460	0,9987
<i>Sr</i> <sup>2+</sup>	0,0075 ± 0,0149	0,3901 ± 0,0051	0,9988
<i>Ba</i> <sup>2+</sup>	0,0052 ± 0,0086	0,2936 ± 0,0037	0,9990
<i>Ca</i> <sup>2+</sup>	0,1259 ± 0,0306	0,8649 ± 0,0144	0,9981

**Tabla 20. Características analíticas de la metodología para la determinación de cationes mediante CZE, en concentraciones altas**

<b>Ión</b>	<b>Intercepto</b>	<b>Pendiente [(mAU*s/min)/min]</b>	<b>Coefficiente de correlación</b>
$NH_4^{1+}$	-0,5661 ± 0,2481	0,8706 ± 0,0168	0,9981
$K^{1+}$	-0,2670 ± 0,1302	0,4489 ± 0,0087	0,9981
$Na^{1+}$	-0,3351 ± 0,2777	0,8501 ± 0,0194	0,9969
$Mg^{2+}$	-0,7705 ± 0,3041	1,5778 ± 0,0224	0,9984
$Li^{1+}$	1,9151 ± 0,6370	2,3649 ± 0,0840	0,9912
$Sr^{2+}$	-0,4705 ± 0,1692	0,4670 ± 0,0112	0,9971
$Ba^{2+}$	-0,3814 ± 0,0888	0,3456 ± 0,0050	0,9988
$Ca^{2+}$	-0,7522 ± 0,2760	0,9655 ± 0,0197	0,9971

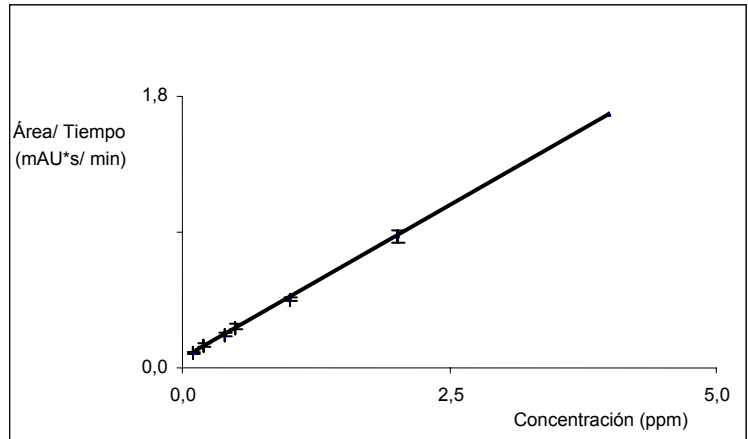
**Tabla 21. Límites de detección y de cuantificación de la metodología para la determinación de cationes mediante CZE**

<b>Ión</b>	<b>LOD (ppm)</b>	<b>LOQ (ppm)</b>	<b>Concentración máxima permitida (ppm) <sup>a</sup></b>	<b>LOD (ppm) <sup>b</sup></b>
$NH_4^{1+}$	0,08	0,26	ND	0,2 <sup>d</sup>
$K^{1+}$	0,13	0,42	ND	0,100 <sup>c</sup>
$Na^{1+}$	0,07	0,24	ND	0,114 <sup>c</sup>
$Mg^{2+}$	0,13	0,44	36	0,105 <sup>c</sup>
$Li^{1+}$	0,05	0,17	ND	0,100 <sup>c</sup>
$Sr^{2+}$	0,13	0,43	4	0,133 <sup>c</sup>
$Ba^{2+}$	0,16	0,53	0,5	0,300 <sup>c</sup>
$Ca^{2+}$	0,12	0,41	60	0,092 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Máximo valor permitido en la legislación colombiana. ND, no definido. <sup>b</sup> Límites de detección reportados en la literatura. <sup>c</sup> [104]. <sup>d</sup> [107].

**Tabla 22. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el anión  $Cl^{1-}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
0,100	0,102 ± 0,009
0,201	0,15 ± 0,01
0,403	0,22 ± 0,01
0,503	0,27 ± 0,02
1,005	0,457 ± 0,009
2,010	0,87 ± 0,04
3,998	1,68 ± 0,05



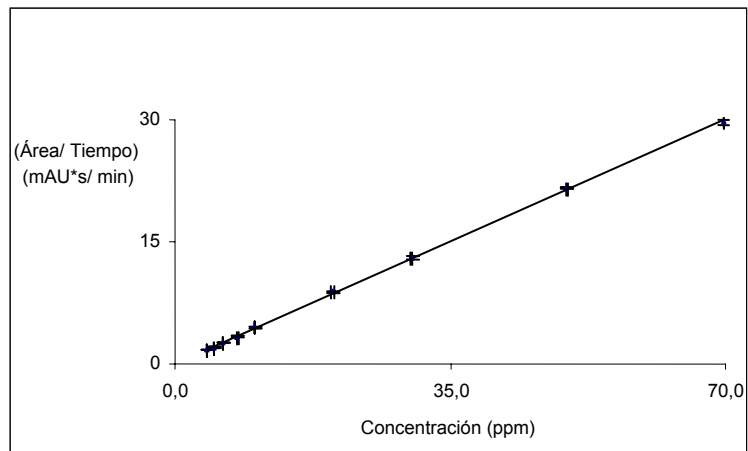
**Figura 8. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión  $Cl^{1-}$ .**

$$A_{corr, i} = 0,4046x(\text{ppm de } Cl^{1-}) + 0,0613$$

$$R^2 = 0,9998$$

**Tabla 23. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el anión  $Cl^{1-}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
3,998	1,68 ± 0,05
5,006	2,06 ± 0,03
5,988	2,54 ± 0,06
7,988	3,35 ± 0,05
10,166	4,5 ± 0,1
19,987	8,8 ± 0,2
30,120	13,1 ± 0,1
49,844	21,6 ± 0,3
69,745	29,7 ± 0,4



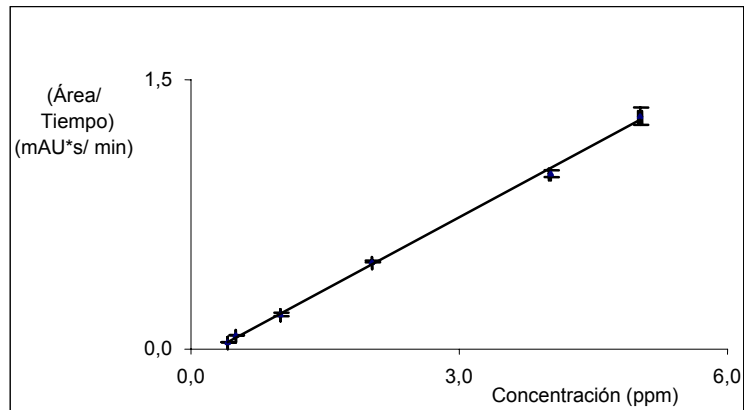
**Figura 9. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión  $Cl^{1-}$ .**

$$A_{corr, i} = 0,4281x(\text{ppm de } Cl^{1-}) + 0,0463$$

$$R^2 = 0,9997$$

**Tabla 24. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el anión  $NO_2^{1-}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
0,404	0,043 ± 0,000
0,505	0,076 ± 0,001
1,009	0,19 ± 0,01
2,018	0,487 ± 0,003
4,013	0,98 ± 0,02
5,026	1,30 ± 0,05



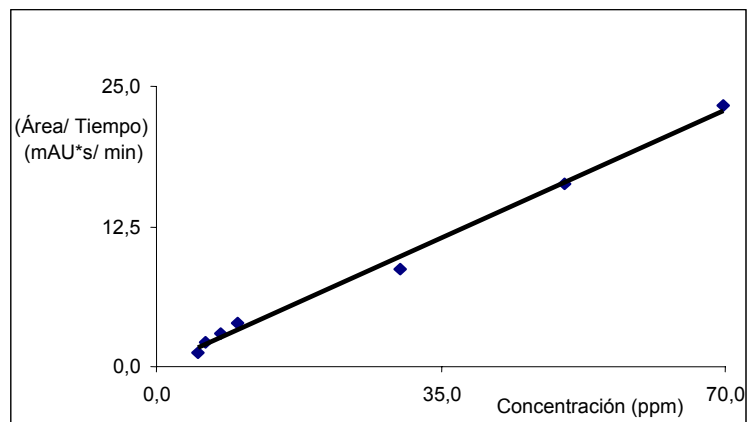
**Figura 10. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión  $NO_2^{1-}$ .**

$$A_{corr, i} = 0,2674x(\text{ppm de } NO_2^{1-}) - 0,0655$$

$$R^2 = 0,9989;$$

**Tabla 25. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el anión  $NO_2^{1-}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
5,026	1,30 ± 0,05
6,012	2,11 ± 0,04
8,020	2,96 ± 0,05
10,069	3,93 ± 0,06
30,007	8,72 ± 0,06
50,238	16,31 ± 0,07
69,765	23,3 ± 0,2



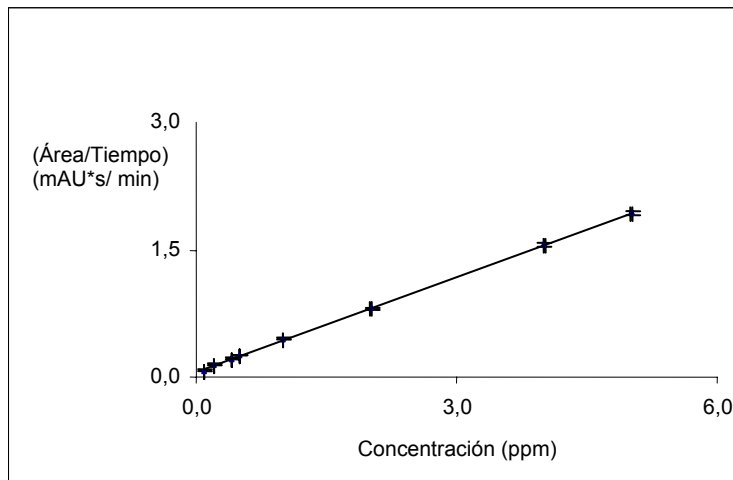
**Figura 11. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión  $NO_2^{1-}$ .**

$$A_{corr, i} = 0,3281x(\text{ppm de } NO_2^{1-}) - 0,0152$$

$$R^2 = 0,9950;$$

**Tabla 26. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el anión  $SO_4^{2-}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
0,101	0,079 ± 0,006
0,202	0,148 ± 0,005
0,404	0,22 ± 0,01
0,504	0,263 ± 0,002
1,007	0,44 ± 0,01
2,014	0,81 ± 0,01
4,006	1,56 ± 0,03
5,017	1,93 ± 0,01



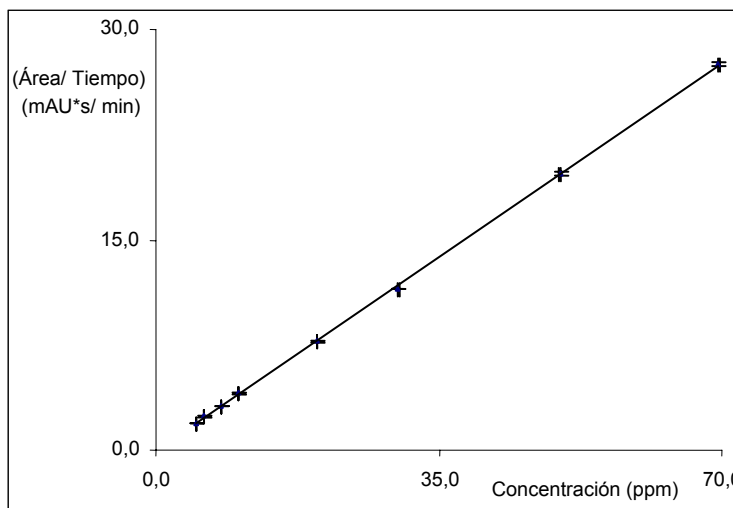
**Figura 12. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión  $SO_4^{2-}$ .**

$$A_{corr,i} = 0,3721x(\text{ppm de } SO_4^{2-}) + 0,0648$$

$$R^2 = 0,9998$$

**Tabla 27. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el anión  $SO_4^{2-}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
5,017	1,93 ± 0,01
6,001	2,40 ± 0,04
8,006	3,16 ± 0,03
10,161	4,05 ± 0,06
19,994	7,7 ± 0,1
29,983	11,5 ± 0,1
49,985	19,7 ± 0,3
69,595	27,5 ± 0,1



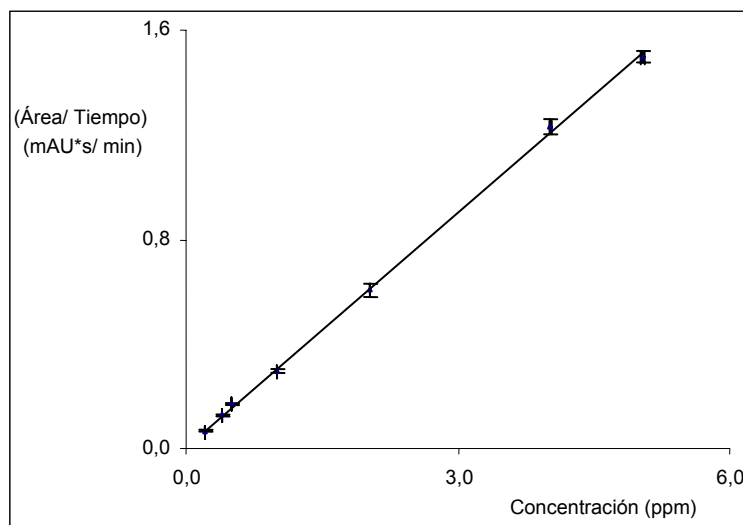
**Figura 13. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión  $SO_4^{2-}$ .**

$$A_{corr,i} = 0,3947x(\text{ppm de } SO_4^{2-}) - 0,0538$$

$$R^2 = 0,9998$$

**Tabla 28. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el anión  $NO_3^{1-}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
0,203	0,066 ± 0,004
0,406	0,128 ± 0,004
0,506	0,171 ± 0,004
1,011	0,30 ± 0,01
2,023	0,61 ± 0,03
4,024	1,23 ± 0,03
5,039	1,50 ± 0,02



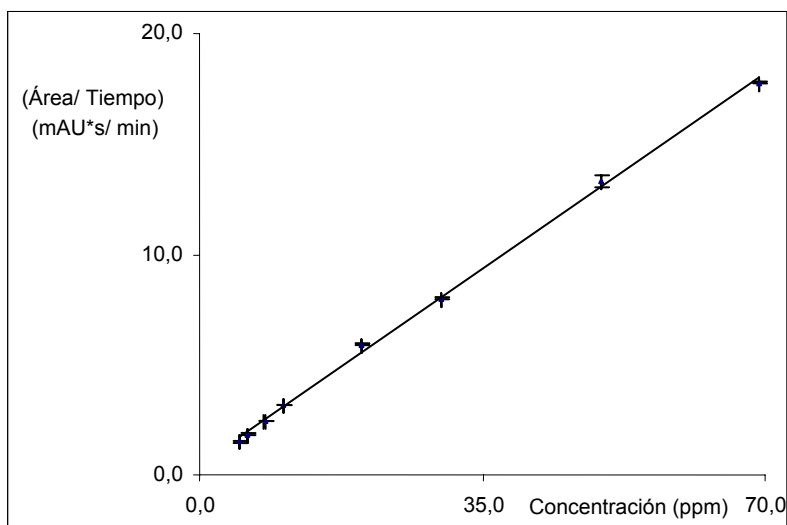
**Figura 14. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión  $NO_3^{1-}$ .**

$$A_{corr, i} = 0,2988x(\text{ppm de } NO_3^{1-}) + 0,0071$$

$$R^2 = 0,9995$$

**Tabla 29. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el anión  $NO_3^{1-}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
5,039	1,50 ± 0,02
6,028	1,85 ± 0,03
8,041	2,47 ± 0,03
10,290	3,17 ± 0,01
20,033	5,9 ± 0,3
29,988	8,01 ± 0,05
49,743	13,3 ± 0,1
69,376	17,7 ± 0,08



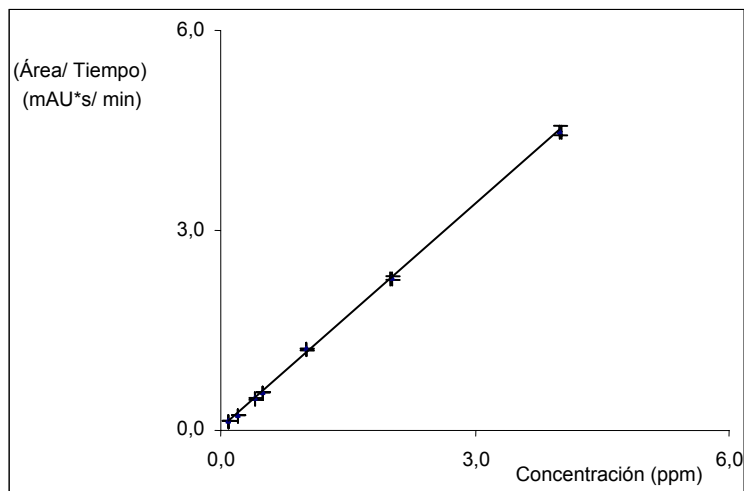
**Figura 15. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión  $NO_3^{1-}$ .**

$$A_{corr, i} = 0,2527x(\text{ppm de } NO_3^{1-}) + 0,4739$$

$$R^2 = 0,9985$$

**Tabla 30. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el anión  $F^{1-}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
0,101	0,141 ± 0,005
0,202	0,235 ± 0,005
0,404	0,48 ± 0,02
0,504	0,575 ± 0,009
1,007	1,22 ± 0,02
2,014	2,28 ± 0,03
4,006	4,50 ± 0,08



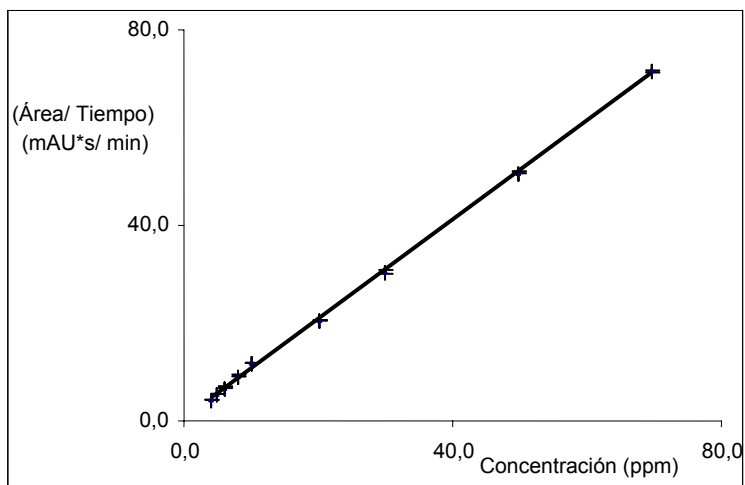
**Figura 16. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión  $F^{1-}$ .**

$$A_{corr,i} = 1,1175x(\text{ppm de } F^{1-}) + 0,0321$$

$$R^2 = 0,9996$$

**Tabla 31. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el anión  $F^{1-}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
4,006	4,50 ± 0,08
5,017	5,5 ± 0,2
6,001	6,9 ± 0,1
8,006	9,29 ± 0,09
10,052	11,82 ± 0,09
20,114	20,6 ± 0,4
29,959	30,3 ± 0,2
49,673	50,7 ± 0,2
69,726	71,6 ± 0,7



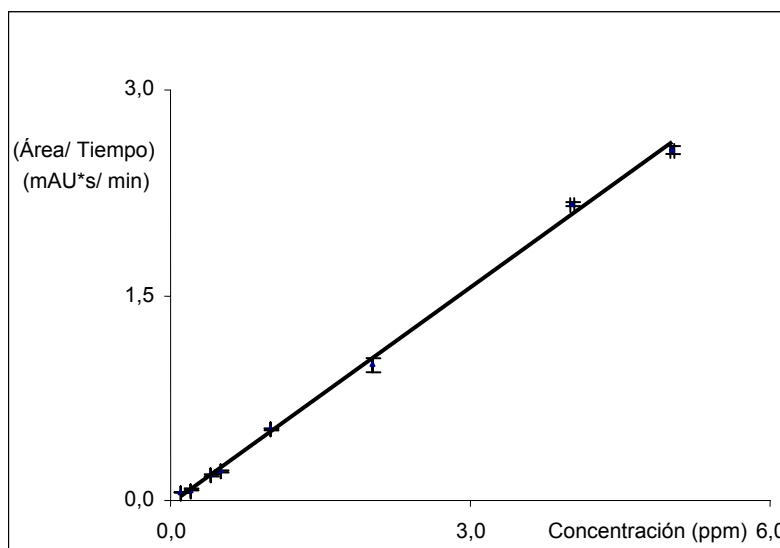
**Figura 17. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión  $F^{1-}$ .**

$$A_{corr,i} = 1,0109x(\text{ppm de } F^{1-}) + 0,7357$$

$$R^2 = 0,9995$$

**Tabla 32. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el anión  $PO_4^{3-}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
0,101	0,059 ± 0,002
0,202	0,080 ± 0,002
0,404	0,184 ± 0,003
0,505	0,213 ± 0,004
1,009	0,52 ± 0,01
2,018	0,99 ± 0,05
4,013	2,17 ± 0,02
5,025	2,56 ± 0,04



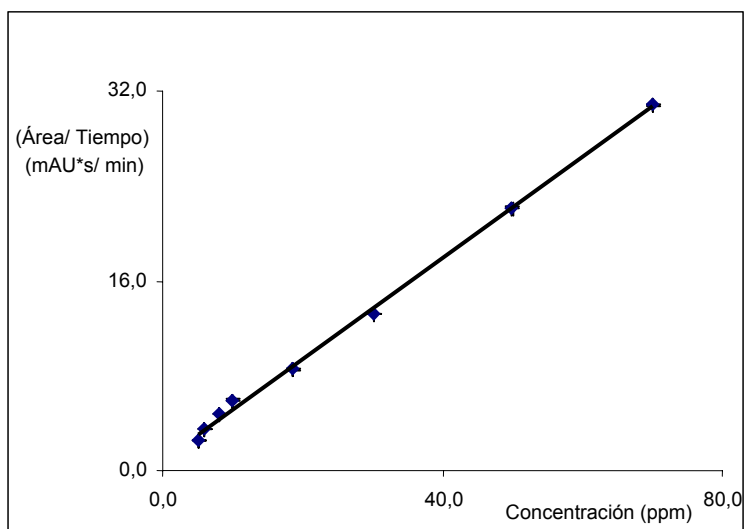
**Figura 18. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión  $PO_4^{3-}$ .**

$$A_{corr,i} = 0,5246x(\text{ppm de } PO_4^{3-}) - 0,0231$$

$$R^2 = 0,9979$$

**Tabla 33. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el anión  $PO_4^{3-}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
5,025	2,56 ± 0,04
6,011	3,55 ± 0,06
8,018	4,75 ± 0,06
10,068	5,95 ± 0,05
18,500	8,5 ± 0,1
30,099	13,23 ± 0,04
49,861	22,2 ± 0,4
69,961	30,8 ± 0,3



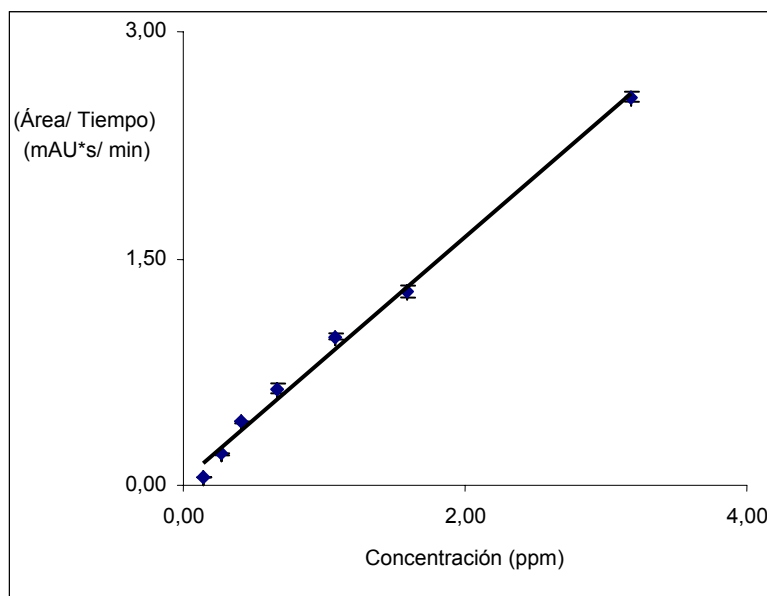
**Figura 19. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión  $PO_4^{3-}$ .**

$$A_{corr,i} = 0,4245x(\text{ppm de } PO_4^{3-}) + 0,9630$$

$$R^2 = 0,9982$$

**Tabla 34. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión  $NH_4^{1+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
0,14	0,05 ± 0,00
0,27	0,21 ± 0,01
0,41	0,42 ± 0,01
0,67	0,64 ± 0,03
1,08	0,98 ± 0,02
1,59	1,29 ± 0,04
3,18	2,57 ± 0,03



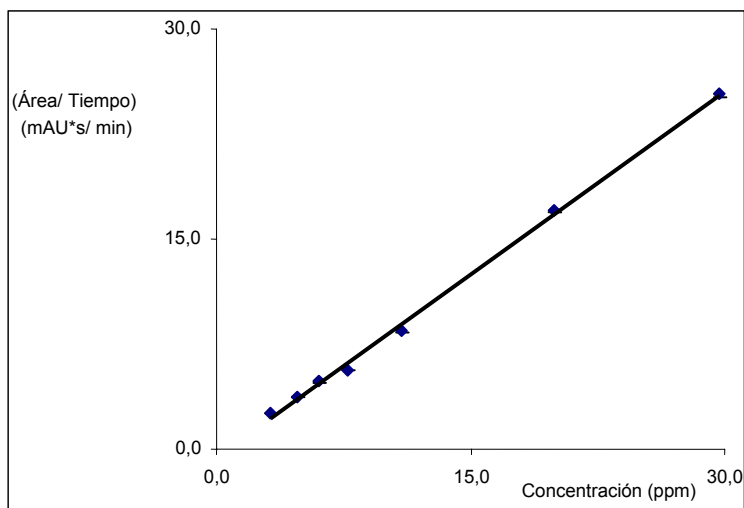
**Figura 20. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $NH_4^{1+}$ .**

$$A_{corr,i} = 0,8048x(\text{ppm de } NH_4^{1+}) + 0,0351$$

$$R^2 = 0,9941$$

**Tabla 35. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión  $NH_4^{1+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
3,18	2,57 ± 0,03
4,76	3,77 ± 0,05
6,00	4,85 ± 0,03
7,79	5,68 ± 0,06
10,92	8,44 ± 0,08
19,95	17,0 ± 0,2
29,73	25,4 ± 0,6



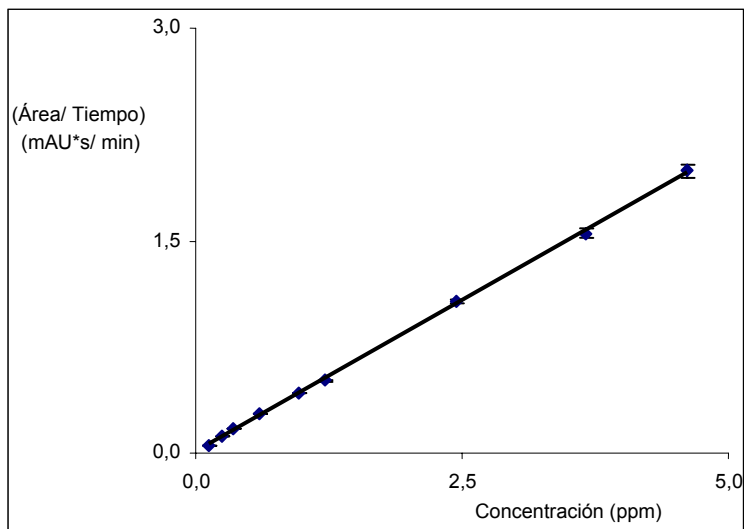
**Figura 21. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $NH_4^{1+}$ .**

$$A_{corr,i} = 0,8706x(\text{ppm de } NH_4^{1+}) - 0,5661$$

$$R^2 = 0,9981$$

**Tabla 36. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión  $K^{1+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
0,12	0,05 ± 0,00
0,24	0,12 ± 0,00
0,36	0,17 ± 0,00
0,60	0,28 ± 0,00
0,96	0,43 ± 0,00
1,22	0,51 ± 0,01
2,45	1,07 ± 0,02
3,66	1,55 ± 0,03
4,61	1,99 ± 0,04



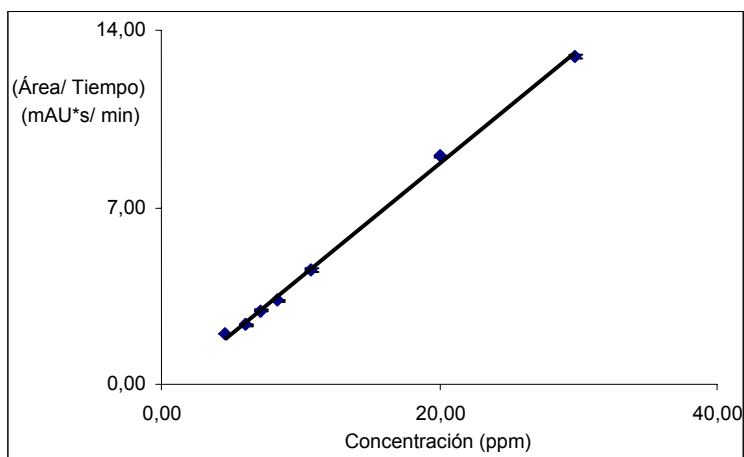
**Figura 22. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $K^{1+}$ .**

$$A_{corr,i} = 0,4264x(\text{ppm de } K^{1+}) + 0,0107$$

$$R^2 = 0,9995$$

**Tabla 37. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión  $K^{1+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
4,61	1,99 ± 0,04
5,99	2,34 ± 0,05
7,17	2,92 ± 0,06
8,40	3,31 ± 0,05
10,80	4,53 ± 0,08
20,01	9,0 ± 0,1
29,76	13,0 ± 0,2



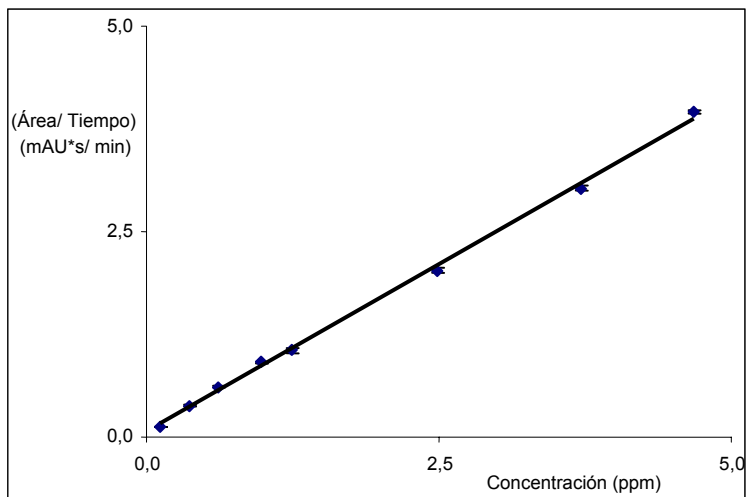
**Figura 23. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $K^{1+}$ .**

$$A_{corr,i} = 0,4489x(\text{ppm de } K^{1+}) - 0,2670$$

$$R^2 = 0,9981$$

**Tabla 38. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión  $Na^{1+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
0,12	0,13 ± 0,00
0,37	0,38 ± 0,01
0,61	0,61 ± 0,01
0,98	0,91 ± 0,02
1,24	1,06 ± 0,03
2,49	2,03 ± 0,03
3,72	3,03 ± 0,02
4,68	3,96 ± 0,03



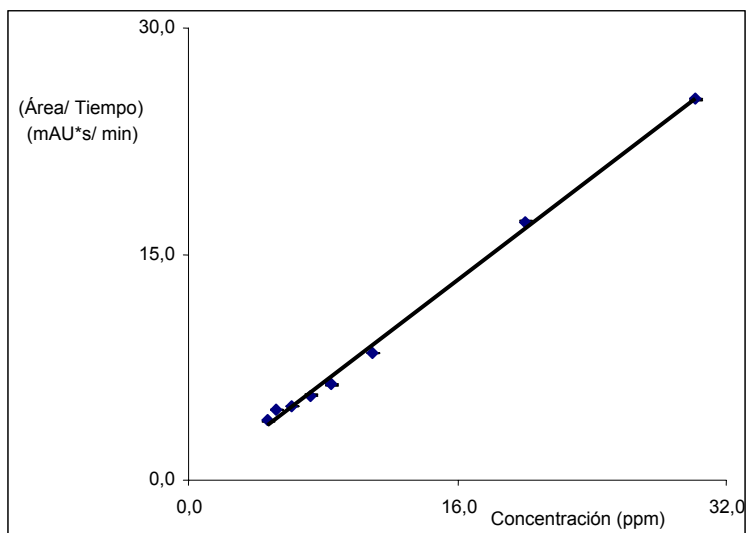
**Figura 24. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $Na^{1+}$ .**

$$A_{corr,i} = 0,8148x(\text{ppm de } Na^{1+}) + 0,0661$$

$$R^2 = 0,9984$$

**Tabla 39. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión  $Na^{1+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
4,68	3,96 ± 0,03
5,25	4,68 ± 0,04
6,08	4,88 ± 0,07
7,27	5,64 ± 0,02
8,53	6,37 ± 0,04
10,97	8,42 ± 0,07
20,03	17,2 ± 0,1
30,18	25,3 ± 0,4



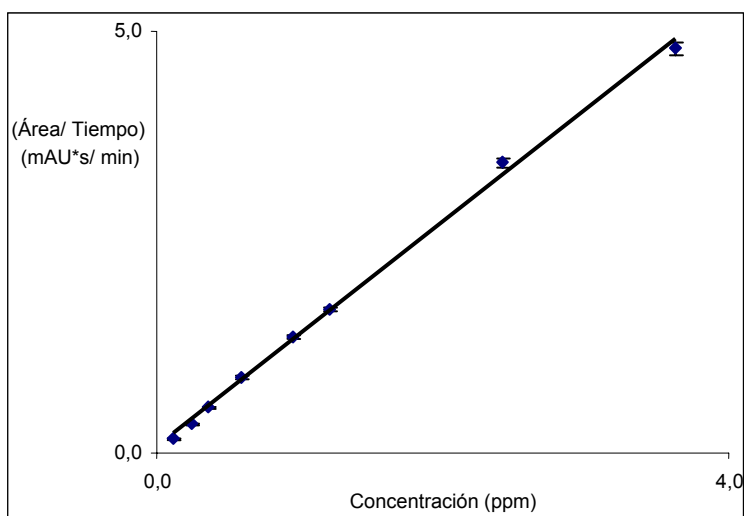
**Figura 25. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $Na^{1+}$ .**

$$A_{corr,i} = 0,8501x(\text{ppm de } Na^{1+}) - 0,3351$$

$$R^2 = 0,9969$$

**Tabla 40. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión  $Mg^{2+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
0,12	0,17 ± 0,01
0,24	0,34 ± 0,01
0,36	0,54 ± 0,01
0,59	0,90 ± 0,02
0,95	1,38 ± 0,02
1,21	1,70 ± 0,03
2,42	3,45 ± 0,05
3,63	4,80 ± 0,08



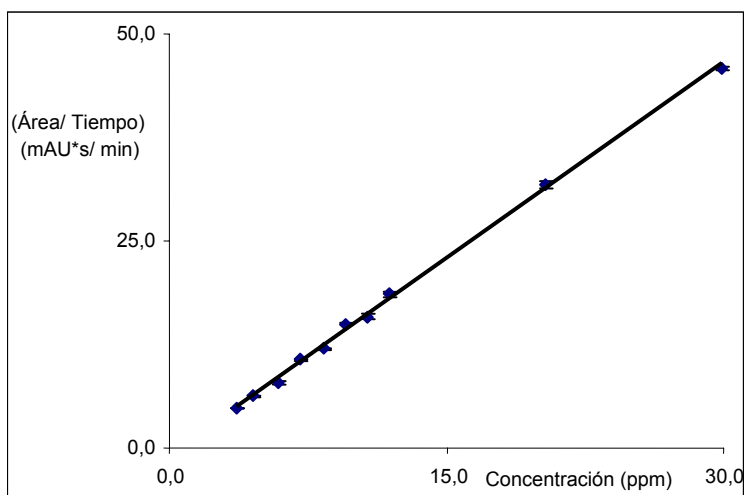
**Figura 26. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $Mg^{2+}$ .**

$$A_{corr,i} = 1,3321x(\text{ppm de } Mg^{2+}) + 0,0752$$

$$R^2 = 0,9976$$

**Tabla 41. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión  $Mg^{2+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
3,63	4,80 ± 0,08
4,57	6,3 ± 0,2
5,93	7,9 ± 0,1
7,09	10,7 ± 0,1
8,31	12,0 ± 0,1
9,51	15,0 ± 0,3
10,69	15,9 ± 0,3
11,89	18,6 ± 0,5
20,32	31,8 ± 0,2
29,89	45,8 ± 0,5



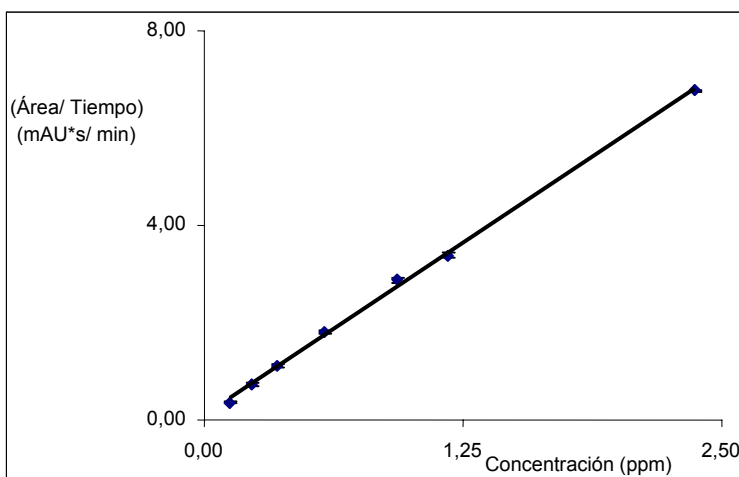
**Figura 27. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $Mg^{2+}$ .**

$$A_{corr,i} = 1,5778x(\text{ppm de } Mg^{2+}) - 0,7705$$

$$R^2 = 0,9984$$

**Tabla 42. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión  $Li^{1+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
0,12	0,35 ± 0,02
0,23	0,72 ± 0,03
0,35	1,11 ± 0,03
0,58	1,82 ± 0,04
0,93	2,87 ± 0,05
1,18	3,39 ± 0,06
2,37	6,77 ± 0,02



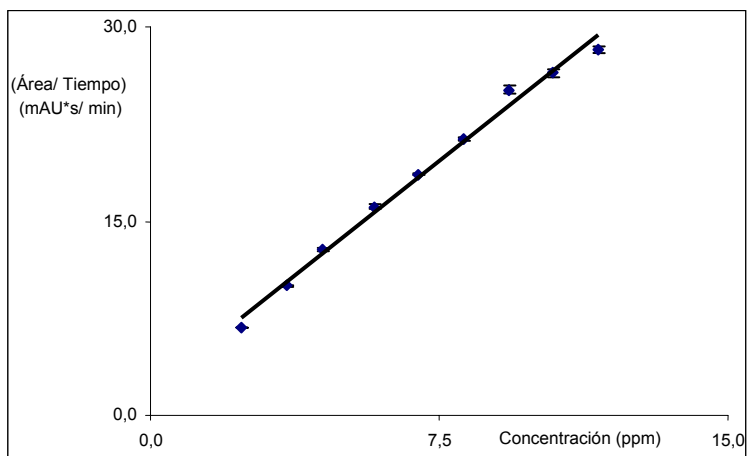
**Figura 28. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $Li^{1+}$ .**

$$A_{corr, i} = 2,8280x(\text{ppm de } Li^{1+}) + 0,1061$$

$$R^2 = 0,9987$$

**Tabla 43. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión  $Li^{1+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
2,37	6,77 ± 0,02
3,55	9,99 ± 0,08
4,47	12,8 ± 0,1
5,80	16,1 ± 0,2
6,94	18,61 ± 0,06
8,13	21,3 ± 0,1
9,31	25,2 ± 0,3
10,46	26,4 ± 0,3
11,63	28,3 ± 0,2



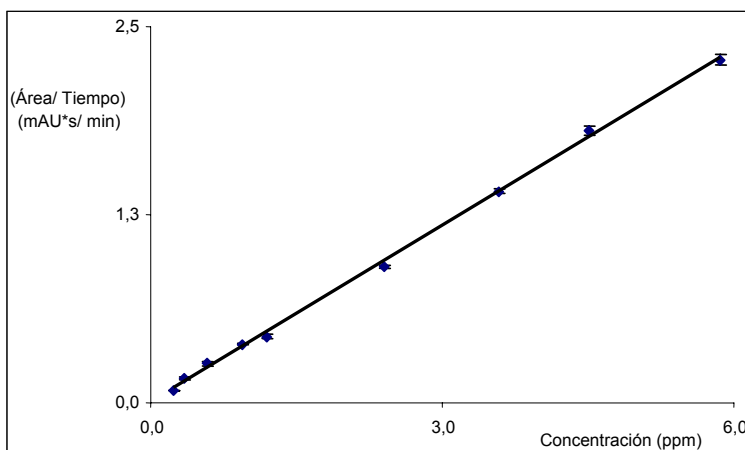
**Figura 29. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $Li^{1+}$ .**

$$A_{corr, i} = 2,3649x(\text{ppm de } Li^{1+}) + 1,9151$$

$$R^2 = 0,9912$$

**Tabla 44. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión  $Sr^{2+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
0,23	0,08 ± 0,00
0,35	0,16 ± 0,01
0,58	0,26 ± 0,02
0,94	0,39 ± 0,01
1,20	0,44 ± 0,01
2,40	0,91 ± 0,01
3,58	1,40 ± 0,01
4,51	1,81 ± 0,03
5,86	2,28 ± 0,03



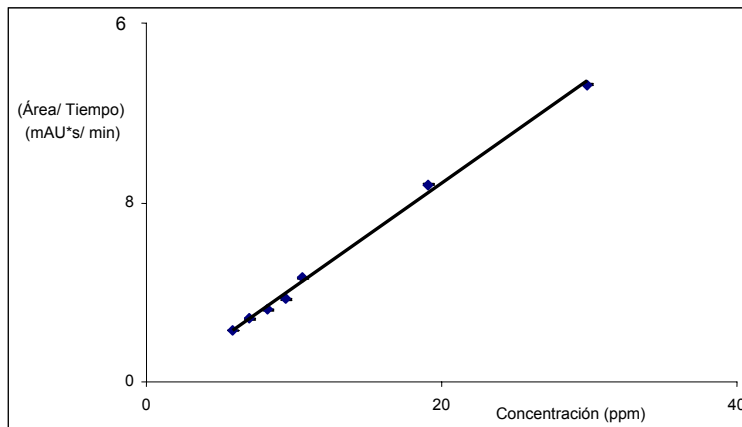
**Figura 30. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $Sr^{2+}$ .**

$$A_{corr, i} = 0,3901x(\text{ppm de } Sr^{2+}) + 0,0075$$

$$R^2 = 0,9988$$

**Tabla 45. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión  $Sr^{2+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
5,86	2,28 ± 0,03
7,01	2,81 ± 0,02
8,22	3,23 ± 0,04
9,40	3,68 ± 0,05
10,57	4,64 ± 0,08
19,07	8,8 ± 0,2
29,81	13,3 ± 0,2



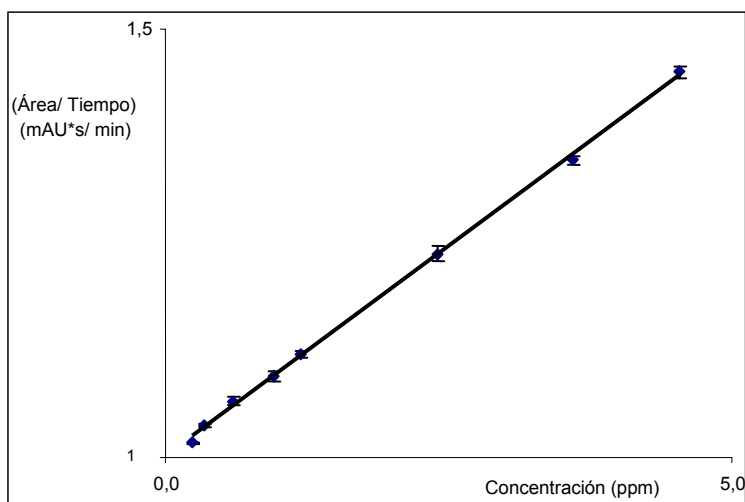
**Figura 31. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $Sr^{2+}$ .**

$$A_{corr, i} = 0,4670x(\text{ppm de } Sr^{2+}) - 0,4705$$

$$R^2 = 0,9971$$

**Tabla 46. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión  $Ba^{2+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
0,24	0,05 ± 0,00
0,35	0,11 ± 0,01
0,59	0,20 ± 0,01
0,95	0,29 ± 0,02
1,20	0,36 ± 0,01
2,41	0,71 ± 0,03
3,60	1,04 ± 0,01
4,54	1,35 ± 0,02



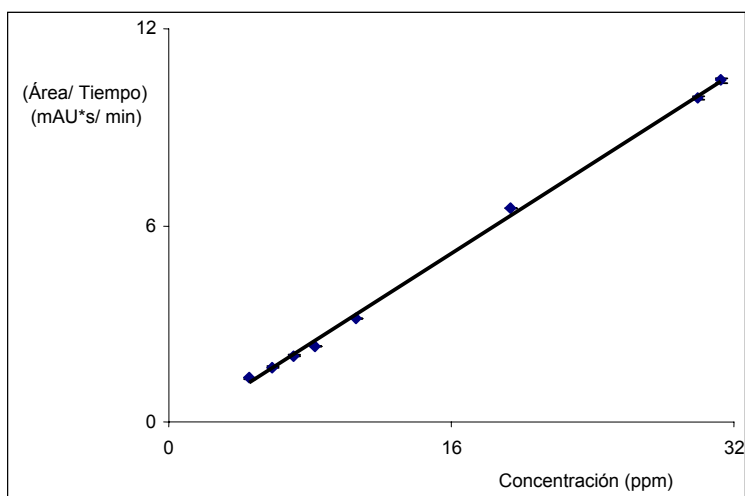
**Figura 32. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $Ba^{2+}$ .**

$$A_{corr,i} = 0,2936x(\text{ppm de } Ba^{2+}) + 0,0052$$

$$R^2 = 0,9990$$

**Tabla 47. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión  $Ba^{2+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
4,54	1,35 ± 0,02
5,90	1,67 ± 0,02
7,05	2,02 ± 0,02
8,26	2,31 ± 0,02
10,63	3,17 ± 0,06
19,39	6,53 ± 0,08
29,98	9,9 ± 0,1
31,25	10,44 ± 0,03



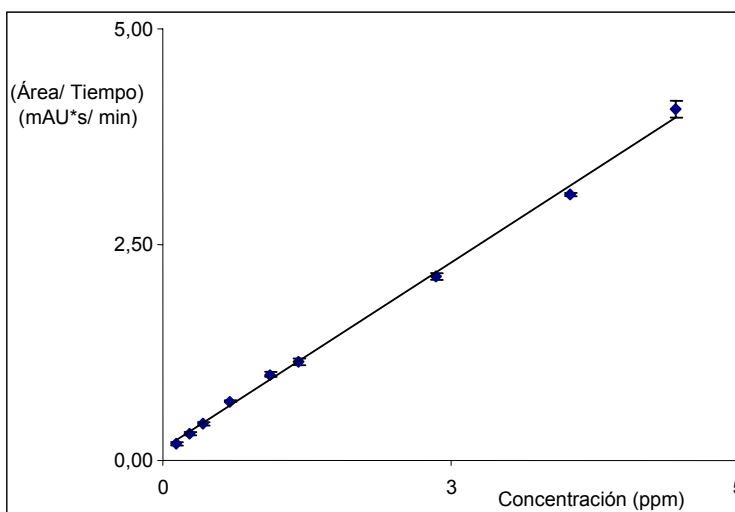
**Figura 33. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $Ba^{2+}$ .**

$$A_{corr,i} = 0,3456x(\text{ppm de } Ba^{2+}) - 0,3814$$

$$R^2 = 0,9988$$

**Tabla 48. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "bajas" para el catión  $Ca^{2+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
0,12	0,20 ± 0,02
0,23	0,31 ± 0,01
0,35	0,43 ± 0,01
0,58	0,68 ± 0,01
0,93	0,99 ± 0,02
1,18	1,14 ± 0,04
2,37	2,13 ± 0,05
3,54	3,09 ± 0,02
4,46	4,07 ± 0,09



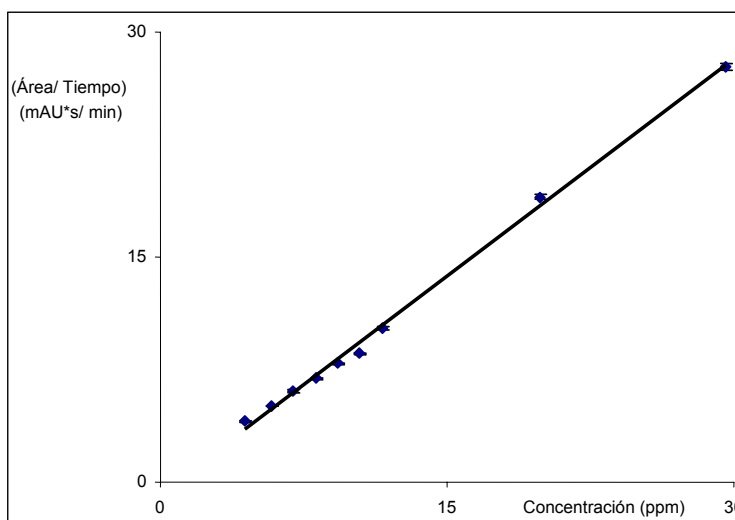
**Figura 34. Curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $Ca^{2+}$ .**

$$A_{corr,i} = 0,8649x(\text{ppm de } Ca^{2+}) + 0,1259$$

$$R^2 = 0,9981$$

**Tabla 49. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones "altas" para el catión  $Ca^{2+}$**

Concentración (ppm)	$A_{corr,i}$ (mAU*s/min)
4,46	4,07 ± 0,09
5,79	5,09 ± 0,08
6,92	6,06 ± 0,05
8,11	6,91 ± 0,06
9,28	7,9 ± 0,1
10,43	8,6 ± 0,2
11,60	10,3 ± 0,2
19,84	19,0 ± 0,3
29,56	27,72 ± 0,01



**Figura 35. Curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $Ca^{2+}$ .**

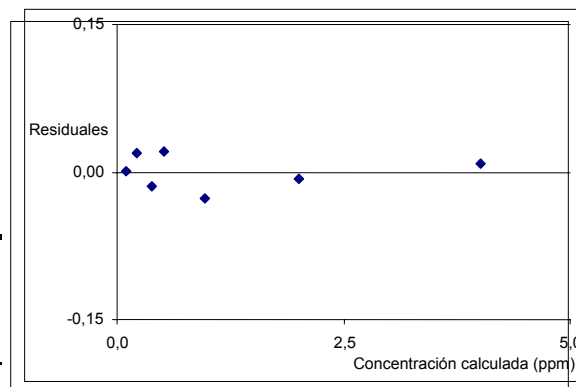
$$A_{corr,i} = 0,9655x(\text{ppm de } Ca^{2+}) - 0,7522$$

$$R^2 = 0,9971$$

**Tabla 50. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,101	0,000	0,0808
0,221	0,019	0,0793
0,388	-0,015	0,0775
0,524	0,021	0,0763
0,977	-0,027	0,0739
2,004	-0,006	0,0780
4,006	0,008	0,1145

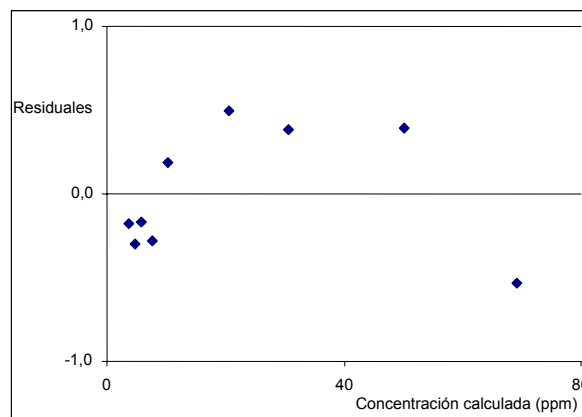


**Figura 36. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión  $Cl^{1-}$ .**

**Tabla 51. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
3,821	-0,177	0,0114
4,707	-0,299	0,0114
5,825	-0,164	0,0113
7,712	-0,276	0,0111
10,350	0,184	0,0109
20,482	0,496	0,0105
30,499	0,379	0,0107
50,237	0,393	0,0124
69,208	-0,537	0,0154

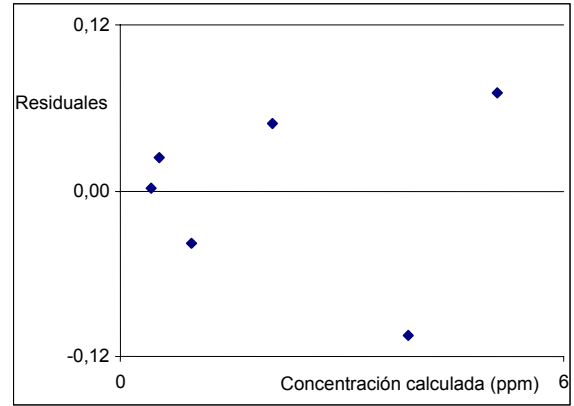


**Figura 37. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión  $Cl^{1-}$ .**

**Tabla 52. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,406	0,001	0,1761
0,529	0,024	0,1732
0,971	-0,038	0,1640
2,066	0,048	0,1529
3,908	-0,105	0,1758
5,096	0,071	0,2115

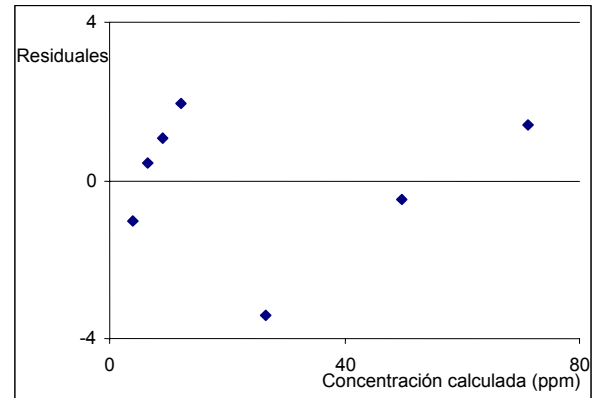


**Figura 38. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión  $NO_2^{1-}$ .**

**Tabla 53. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
4,000	-1,025	0,0359
6,462	0,450	0,0351
9,068	1,048	0,0344
12,024	1,955	0,0337
26,613	-3,394	0,0321
49,768	-0,470	0,0368
71,183	1,418	0,0466

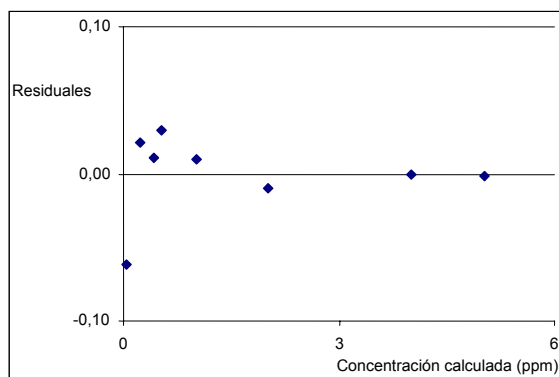


**Figura 39. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión  $NO_2^{1-}$ .**

**Tabla 54. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,039	-0,061	0,0586
0,223	0,022	0,0574
0,415	0,011	0,0563
0,533	0,029	0,0557
1,017	0,010	0,0538
2,005	-0,009	0,0531
4,005	-0,001	0,0644
5,015	-0,002	0,0746

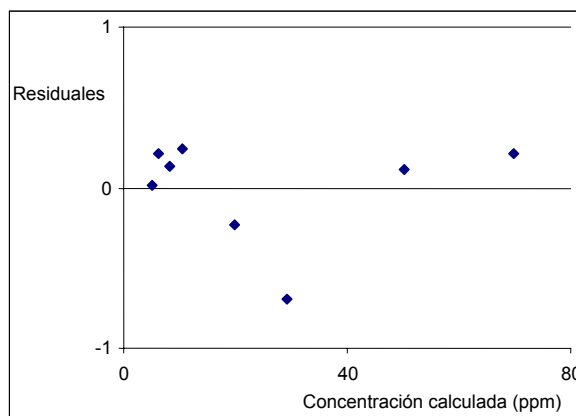


**Figura 40. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión  $SO_4^{2-}$ .**

**Tabla 55. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
5,028	0,011	0,0064
6,210	0,209	0,0064
8,139	0,133	0,0063
10,405	0,243	0,0062
19,761	-0,232	0,0059
29,290	-0,692	0,0059
50,096	0,111	0,0068
69,809	0,214	0,0085

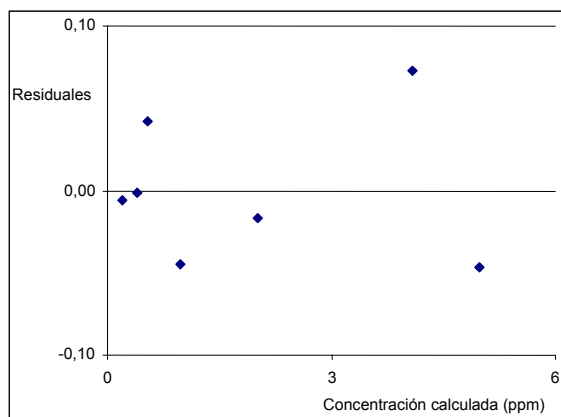


**Figura 41. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión  $SO_4^{2-}$ .**

**Tabla 56. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,196	-0,006	0,1034
0,404	-0,002	0,1008
0,548	0,042	0,0992
0,967	-0,045	0,0954
2,006	-0,017	0,0918
4,096	0,073	0,1109
4,992	-0,047	0,1268

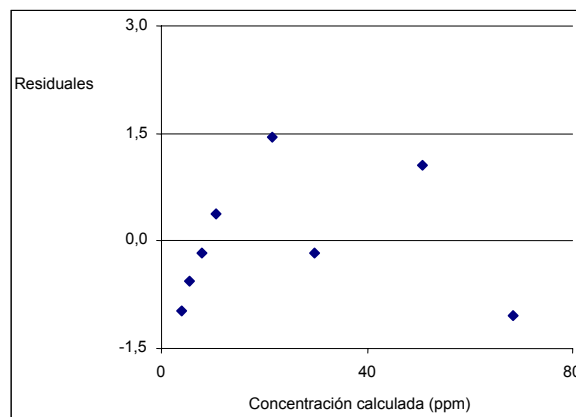


**Figura 42. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión  $NO_3^{1-}$ .**

**Tabla 57. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión**



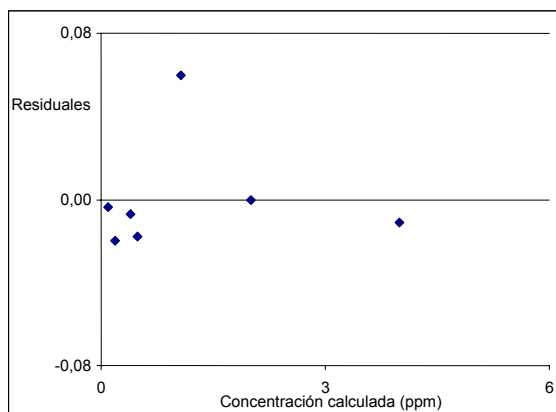
Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
4,055	-0,984	0,0250
5,458	-0,570	0,0247
7,883	-0,157	0,0242
10,672	0,382	0,0237
21,484	1,451	0,0225
29,815	-0,173	0,0226
50,800	1,057	0,0264
68,333	-1,044	0,0323



**Figura 43. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión  $NO_3^{1-}$ .**

**Tabla 58. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión  $F^{1-}$**

Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,097	-0,004	0,1281
0,182	-0,020	0,1264
0,396	-0,007	0,1227
0,486	-0,018	0,1215
1,067	0,060	0,1168
2,014	0,000	0,1236
3,995	-0,011	0,1808

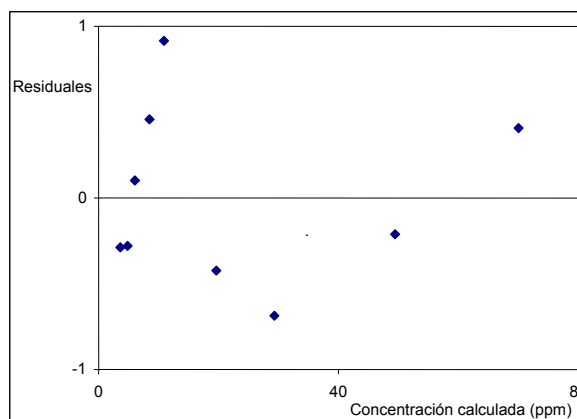


**Figura 44. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión  $F^{1-}$ .**

**Tabla 59. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión**

$F^{1-}$

Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
3,720	-0,286	0,0091
4,737	-0,279	0,0090
6,104	0,103	0,0089
8,463	0,457	0,0088
10,966	0,914	0,0087
19,692	-0,422	0,0084
29,272	-0,687	0,0085
49,463	-0,210	0,0098
70,136	0,410	0,0124

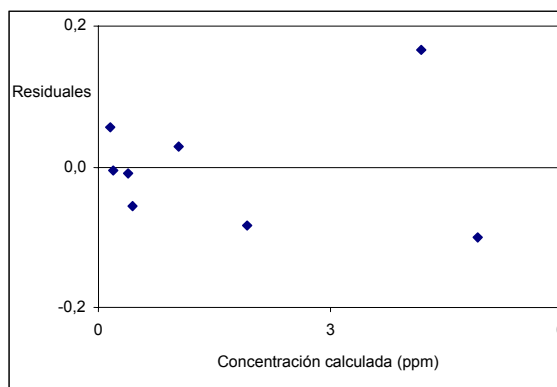


**Figura 45. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión  $F^{1-}$ .**

**Tabla 60. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,157	0,056	0,1879
0,197	-0,005	0,1871
0,395	-0,009	0,1833
0,449	-0,055	0,1824
1,037	0,029	0,1746
1,935	-0,083	0,1723
4,180	0,167	0,2142
4,924	-0,101	0,2388

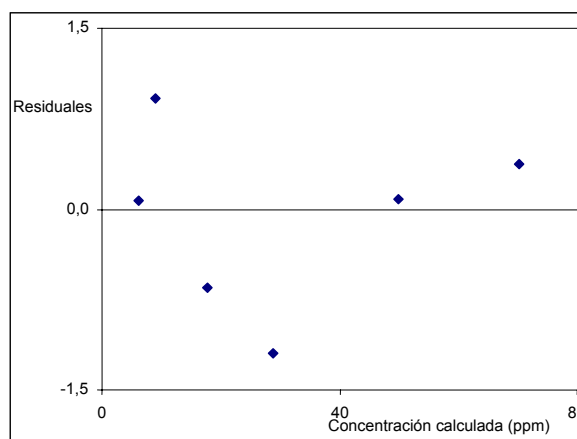


**Figura 46. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el anión  $PO_4^{3-}$ .**

**Tabla 61. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
3,762	-1,262	0,0297
6,085	0,074	0,0291
8,931	0,912	0,0284
11,748	1,680	0,0278
17,842	-0,658	0,0270
28,906	-1,193	0,0268
49,940	0,080	0,0309
70,330	0,369	0,0390

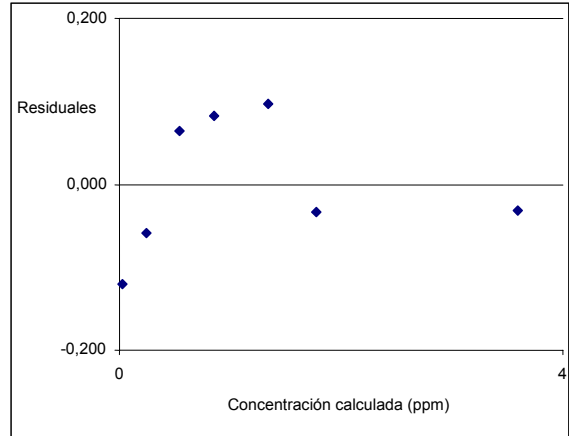


**Figura 47. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el anión  $PO_4^{3-}$ .**

**Tabla 62. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,020	-0,120	0,3770
0,211	-0,059	0,3610
0,475	0,065	0,3436
0,752	0,082	0,3318
1,177	0,097	0,3282
1,556	-0,034	0,3401
3,148	-0,032	0,5027

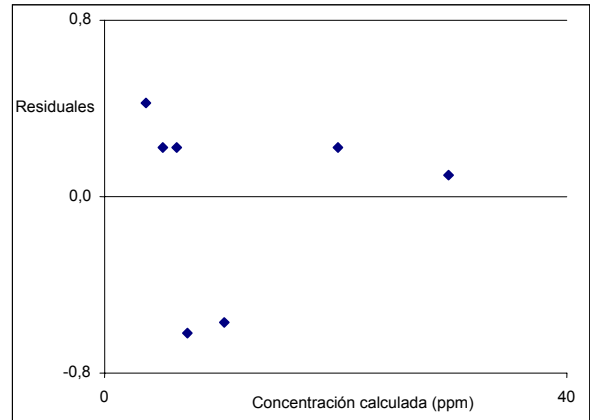


**Figura 48. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $NH_4^{1+}$ .**

**Tabla 63. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
3,601	0,421	0,0247
4,984	0,224	0,0240
6,222	0,225	0,0234
7,171	-0,620	0,0230
10,349	-0,568	0,0222
20,178	0,224	0,0249
29,827	0,094	0,0330

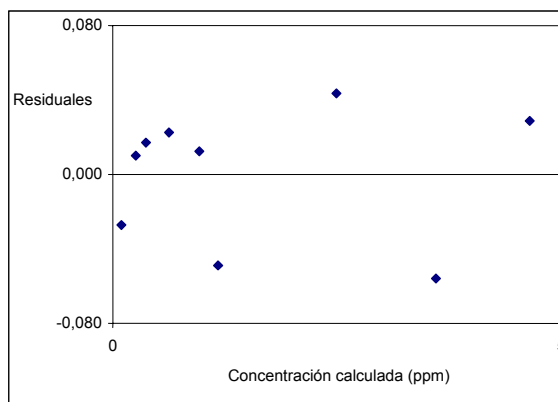


**Figura 49. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $NH_4^{1+}$ .**

**Tabla 64. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,093	-0,027	0,0759
0,250	0,010	0,0745
0,377	0,017	0,0734
0,622	0,022	0,0716
0,972	0,012	0,0696
1,171	-0,049	0,0689
2,493	0,043	0,0713
3,604	-0,056	0,0818
4,642	0,028	0,0965

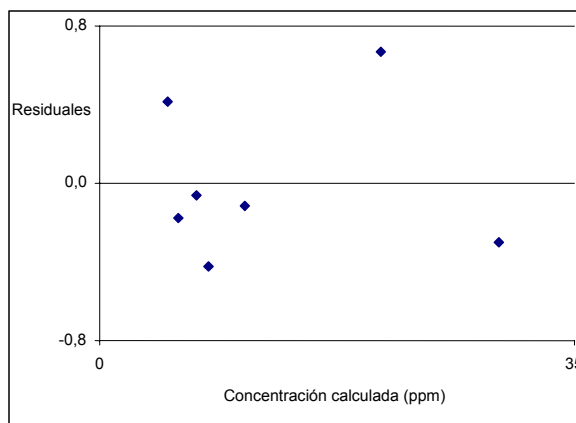


**Figura 50. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $K^{1+}$ .**

**Tabla 65. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
5,028	0,414	0,0117
5,814	-0,180	0,0115
7,103	-0,063	0,0111
7,974	-0,425	0,0110
10,687	-0,116	0,0106
20,679	0,670	0,0120
29,457	-0,303	0,0157

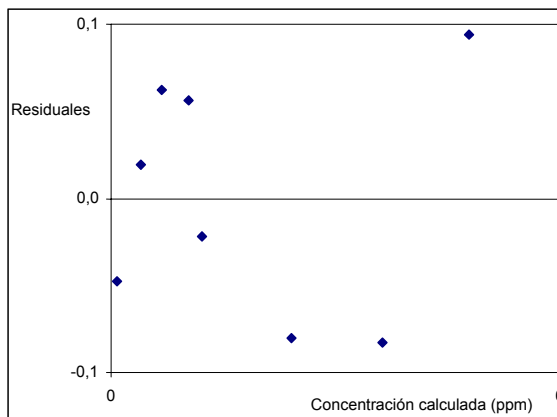


**Figura 51. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $K^{1+}$ .**

**Tabla 66. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,073	-0,047	0,1534
0,390	0,020	0,1470
0,672	0,062	0,1422
1,036	0,056	0,1375
1,218	-0,022	0,1358
2,410	-0,080	0,1364
3,637	-0,083	0,1569
4,778	0,094	0,1885

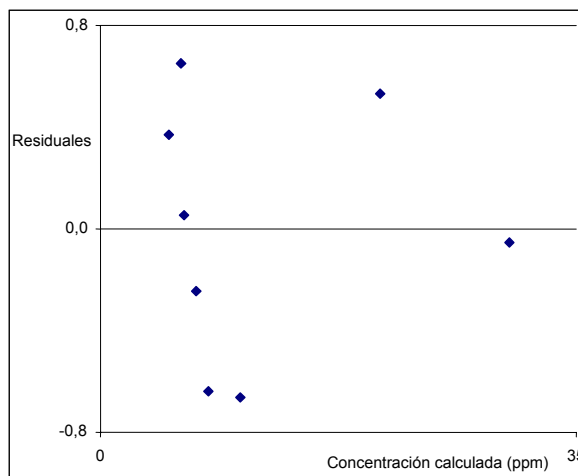


**Figura 52. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $Na^{1+}$ .**

**Tabla 67. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
5,051	0,367	0,0162
5,895	0,649	0,0159
6,136	0,052	0,0159
7,029	-0,245	0,0156
7,885	-0,641	0,0154
10,304	-0,663	0,0151
20,563	0,532	0,0172
30,126	-0,055	0,0229

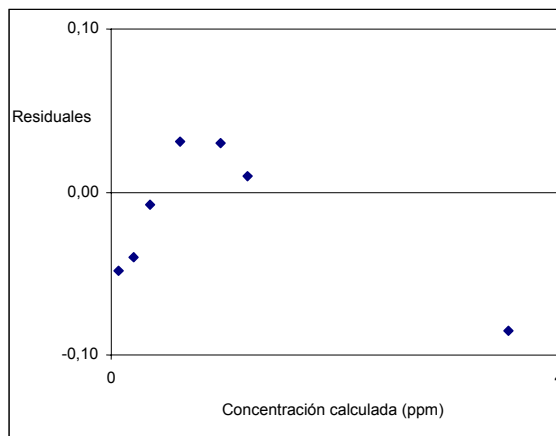


**Figura 53. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $Na^{1+}$ .**

**Tabla 68. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,072	-0,048	0,0672
0,200	-0,040	0,0657
0,352	-0,008	0,0642
0,620	0,030	0,0619
0,980	0,030	0,0602
1,220	0,010	0,0600
2,531	0,111	0,0702
3,545	-0,085	0,0877

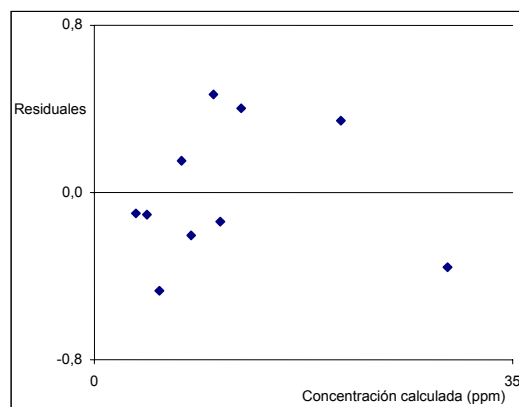


**Figura 54. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $Mg^{2+}$ .**

**Tabla 69. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
3,529	-0,101	0,0078
4,461	-0,107	0,0077
5,465	-0,468	0,0075
7,245	0,151	0,0073
8,112	-0,202	0,0072
9,984	0,469	0,0071
10,557	-0,138	0,0071
12,293	0,403	0,0071
20,668	0,347	0,0082
29,539	-0,355	0,0108

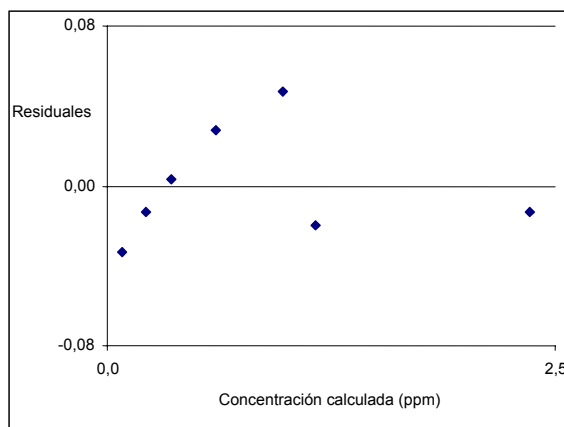


**Figura 55. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $Mg^{2+}$ .**

**Tabla 70. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,087	-0,033	0,0690
0,217	-0,013	0,0663
0,354	0,004	0,0640
0,608	0,028	0,0611
0,977	0,047	0,0607
1,160	-0,020	0,0622
2,357	-0,013	0,0924

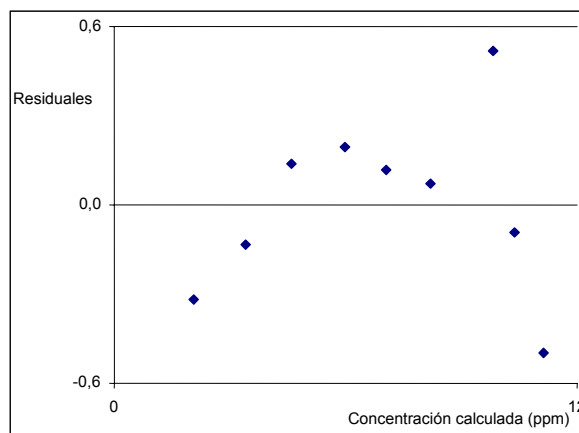


**Figura 56. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $Li^{1+}$ .**

**Tabla 71. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
2,053	-0,317	0,0107
3,416	-0,134	0,0096
4,606	0,138	0,0089
5,998	0,194	0,0084
7,059	0,119	0,0083
8,203	0,069	0,0084
9,826	0,518	0,0092
10,371	-0,091	0,0095
11,135	-0,497	0,0101

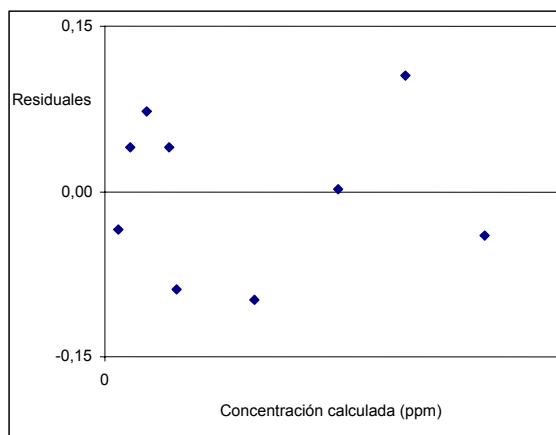


**Figura 57. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $Li^{1+}$ .**

**Tabla 72. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,195	-0,035	0,1491
0,390	0,040	0,1461
0,652	0,072	0,1425
0,980	0,040	0,1388
1,112	-0,088	0,1375
2,302	-0,098	0,1325
3,582	0,002	0,1409
4,620	0,106	0,1568
5,824	-0,040	0,1824

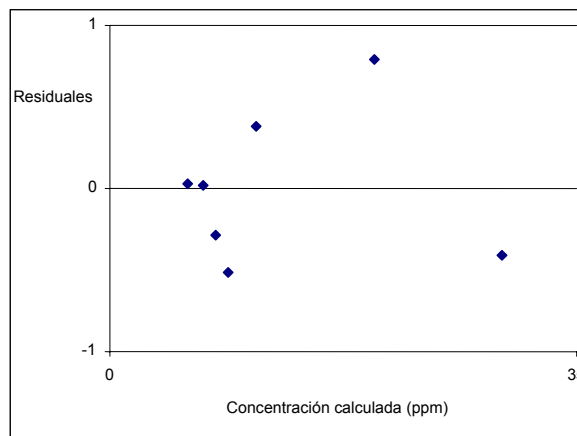


**Figura 58. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $Sr^{2+}$ .**

**Tabla 73. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
5,888	0,025	0,0198
7,025	0,014	0,0192
7,929	-0,287	0,0188
8,886	-0,516	0,0185
10,949	0,380	0,0180
19,858	0,790	0,0198
29,400	-0,407	0,0270

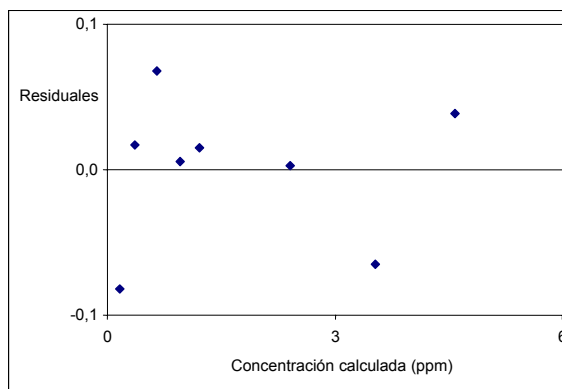


**Figura 59. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $Sr^{2+}$ .**

**Tabla 74. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,157	-0,083	0,2157
0,367	0,017	0,2095
0,658	0,068	0,2020
0,955	0,005	0,1961
1,215	0,015	0,1923
2,413	0,003	0,1944
3,535	-0,065	0,2231
4,578	0,039	0,2657

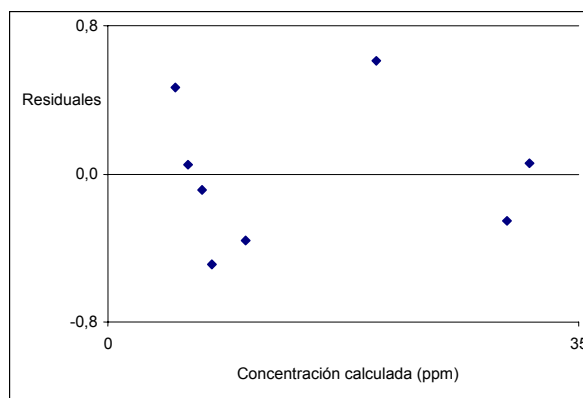


**Figura 60. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $Ba^{2+}$ .**

**Tabla 75. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión**



Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
5,008	0,469	0,0070
5,945	0,049	0,0069
6,962	-0,087	0,0068
7,776	-0,486	0,0067
10,269	-0,358	0,0065
19,999	0,610	0,0065
29,723	-0,252	0,0080
31,305	0,057	0,0083

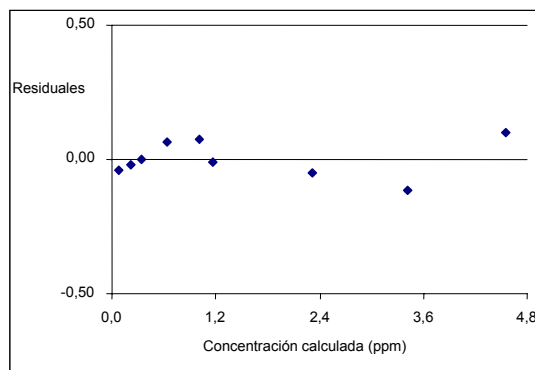


**Figura 61. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $Ba^{2+}$ .**

**Tabla 76. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión**



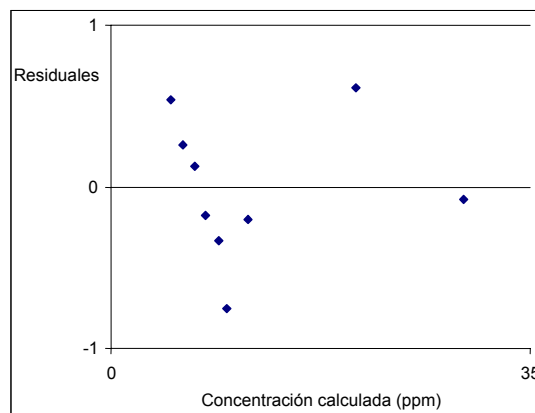
Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,082	-0,038	0,3066
0,210	-0,020	0,3015
0,349	-0,001	0,2965
0,643	0,063	0,2875
1,004	0,074	0,2798
1,169	-0,011	0,2775
2,318	-0,052	0,2851
3,423	-0,117	0,3270
4,559	0,102	0,3940



**Figura 62. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "bajas" para el catión  $Ca^{2+}$ .**

**Tabla 77. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $Ca^{2+}$**

Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
4,993	0,536	0,0118
6,051	0,261	0,0115
7,052	0,130	0,0113
7,935	-0,177	0,0111
8,951	-0,332	0,0110
9,680	-0,754	0,0109
11,398	-0,203	0,0108
20,453	0,612	0,0124
29,488	-0,075	0,0166



**Figura 63. Residuales de la curva de calibración en concentraciones "altas" para el catión  $Ca^{2+}$ .**

**ANEXO 3 Características en la robustez de las metodologías para la determinación de iones mediante CZE**

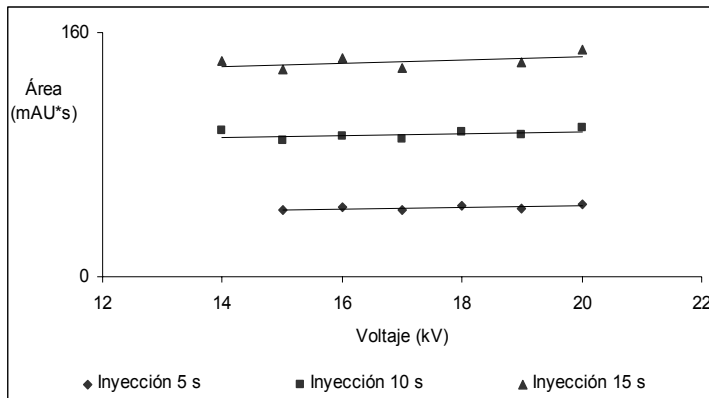
**Tabla 78. Tiempo de inyección y voltaje de análisis en la determinación de los aniones  $Cl^{1-}$ ,  $NO_2^{1-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^{1-}$ ,  $F^{1-}$  y  $PO_4^{3-}$  presentes en aguas, mediante CZE**

Tiempo de inyección (s)	Voltaje de análisis (kV)	$CEF$	$A_{Total}$ (mAU*s/min)	$A_{corr}^{Total}$ (mAU*s/min)
5	15	8,3 ± 0,1	43,8 ± 1,1	9,2 ± 0,2
5	16	8,4 ± 0,4	45,6 ± 2,4	10,1 ± 0,4
5	17	8,1 ± 0,2	43,8 ± 1,8	10,2 ± 0,3
5	18	8,6 ± 0,8	46,1 ± 2,7	11,1 ± 0,6
5	19	9,2 ± 1,4	44,8 ± 2,0	11,4 ± 0,5
5	20	8,6 ± 0,5	47,7 ± 1,9	12,5 ± 0,5
10	14	9,8 ± 0,4	95,7 ± 2,6	19,0 ± 0,4
10	15	9,6 ± 0,2	89,5 ± 2,6	18,9 ± 0,4
10	16	9,4 ± 1,0	92,0 ± 3,7	20,4 ± 0,7
10	17	9,9 ± 1,1	90,1 ± 3,2	20,9 ± 0,5
10	18	10,3 ± 1,1	95,0 ± 4,2	23,0 ± 0,9
10	19	10,0 ± 1,2	92,8 ± 4,8	23,6 ± 1,1
10	20	9,5 ± 1,0	97,7 ± 1,7	25,6 ± 0,5
15	14	14,6 ± 0,9	141,7 ± 2,9	28,0 ± 0,4
15	15	14,3 ± 1,5	136,1 ± 5,5	28,6 ± 0,9
15	16	12,0 ± 0,7	142,9 ± 4,7	31,5 ± 0,7
15	17	9,8 ± 0,5	136,6 ± 5,5	31,6 ± 1,0
15	19	9,2 ± 0,3	140,5 ± 7,1	35,5 ± 1,6
15	20	8,2 ± 0,2	148,8 ± 4,1	39,0 ± 1,0

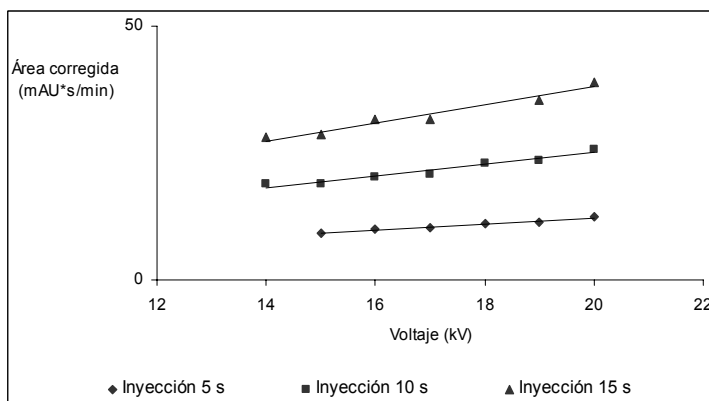
**Tabla 79. Efectos del tiempo de inyección y del voltaje de análisis sobre el área y la selectividad para los cationes  $NH_4^{1+}$ ,  $K^{1+}$ ,  $Na^{1+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Li^{1+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  y  $Ca^{2+}$  presentes en aguas, mediante CZE.**

Tiempo de inyección (s)	Voltaje de análisis (kV)	$CEF$	$A_{Total}$ (mAU*s/min)	$A_{corr}^{Total}$ (mAU*s/min)
5	10	25,1 ± 8,6	635,6 ± 65,1	54,8 ± 3,2
5	11	21,7 ± 19,8	608,8 ± 132,6	56,7 ± 6,9
5	12	21,1 ± 10,9	550,5 ± 185,6	56,6 ± 9,6
5	14	20,6 ± 4,9	464,4 ± 85,3	57,0 ± 5,4
5	15	25,7 ± 18,6	436,1 ± 178,4	57,9 ± 12,0
5	16	31,2 ± 5,9	416,4 ± 260,9	59,5 ± 17,0
5	17	35,6 ± 5,0	389,8 ± 70,9	59,3 ± 5,0
10	10	58,2 ± 18,8	1260,6 ± 169,2	106,6 ± 12,4
10	11	59,2 ± 6,8	1169,3 ± 232,3	109,6 ± 16,7
10	12	56,9 ± 5,8	1086,9 ± 62,4	110,3 ± 5,3
10	14	54,6 ± 12,4	911,2 ± 129,9	110,2 ± 11,3
10	15	62,7 ± 5,2	851,7 ± 223,9	111,3 ± 20,2
10	16	65,0 ± 14,0	802,3 ± 57,3	112,9 ± 5,7
10	17	69,8 ± 19,4	747,6 ± 118,7	111,8 ± 11,9
15	10	108,9 ± 10,4	1867,3 ± 173,1	155,5 ± 17,1
15	11	107,4 ± 21,9	1759,5 ± 58,7	162,0 ± 6,6
15	12	103,7 ± 19,9	1595,3 ± 121,8	163,0 ± 13,6
15	14	97,6 ± 10,4	1374,4 ± 162,8	163,9 ± 17,4
15	15	98,3 ± 23,0	1274,6 ± 55,1	165,0 ± 6,7
15	16	97,0 ± 17,5	1202,1 ± 104,9	167,0 ± 12,4
15	17	102,4 ± 14,1	1133,5 ± 153,3	167,4 ± 17,6

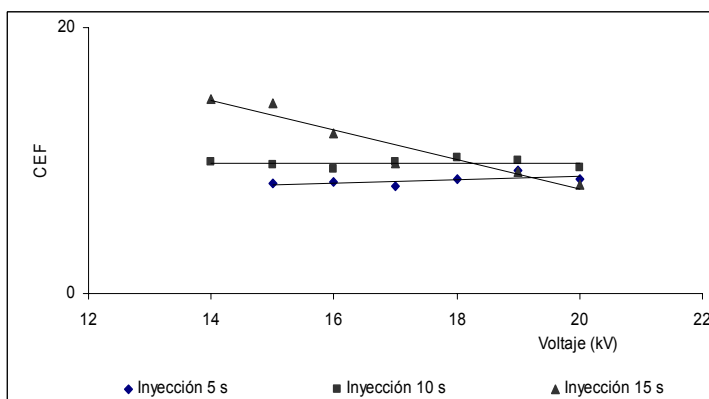
A)



B)

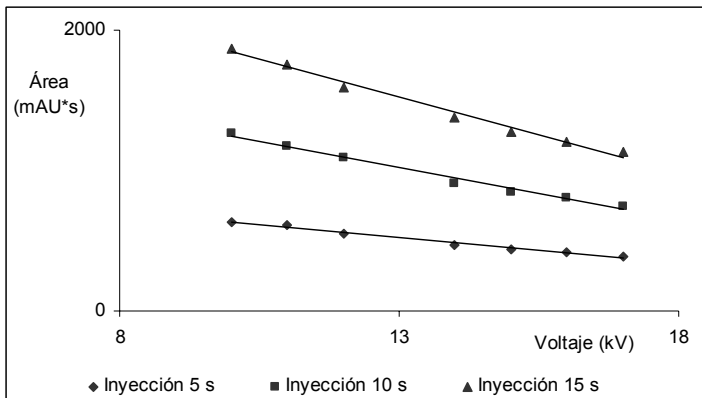


C)

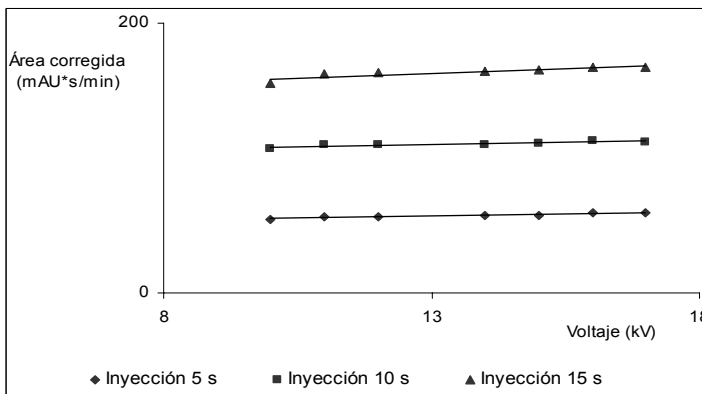


**Figura 64. Separación de aniones mediante CZE**  
**Dependencia que tienen con el voltaje de análisis y con el tiempo de inyección:**  
**A) el área del pico;**  
**B) el área del pico corregida con el tiempo de retención;**  
**C) el factor exponencial cromatográfico.**  
**Condiciones de análisis:**  
**inyección en modo hidrodinámico, 0 kV, 3000 Pa;**  
**voltaje de análisis, -16 kV;**  
**buffer de análisis: CrO<sub>3</sub> (5 mM), DEA (20 mM) y CTAB (1,65 mM);**  
**temperatura de análisis, 20 °C; y detección indirecta, 254 nm.**

A)



B)



C)

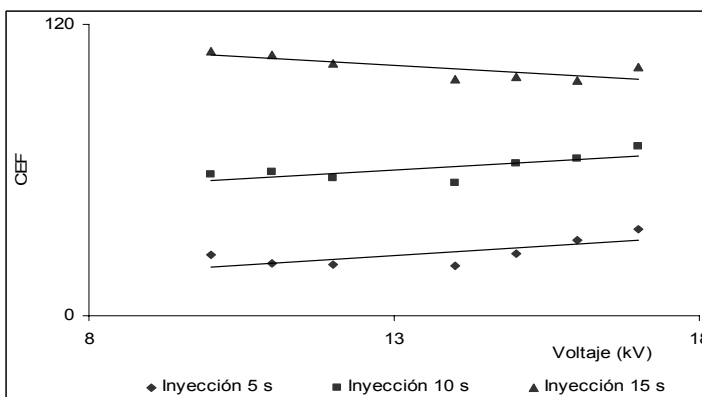


Figura 65. Separación de cationes mediante CZE Dependencia que tienen con el voltaje de análisis y con el tiempo de inyección:

A) el área del pico;

B) el área del pico corregida con el tiempo de retención;

C) el factor exponencial cromatográfico.

Condiciones de análisis:

inyección en modo

hidrodinámico, 0 kV, 3000 Pa;

buffer de análisis:

benzimidazol, 6 mM; ácido

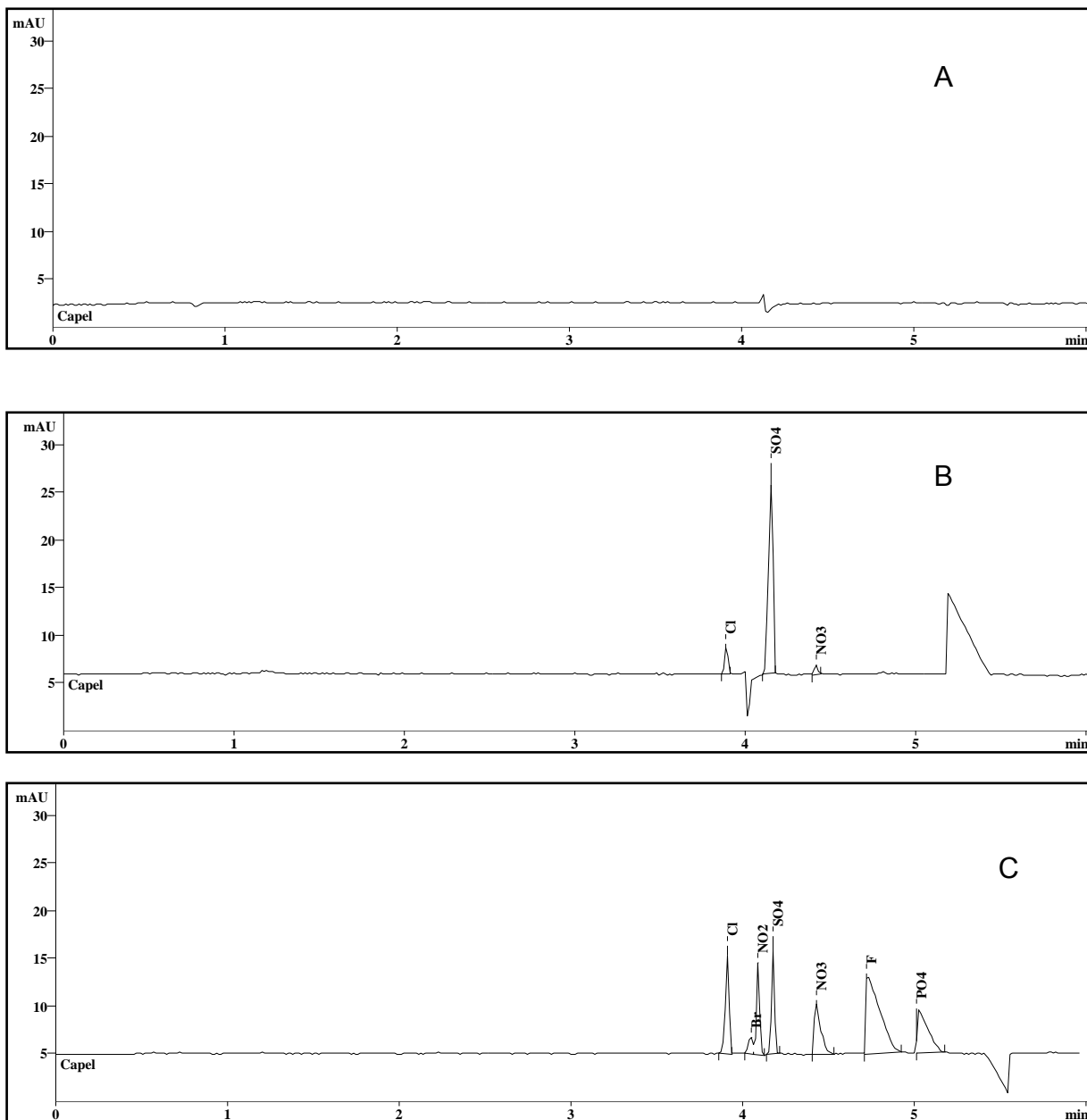
tartárico, 2,5 mM; 18-corona-6,

2 mM; temperatura de análisis,

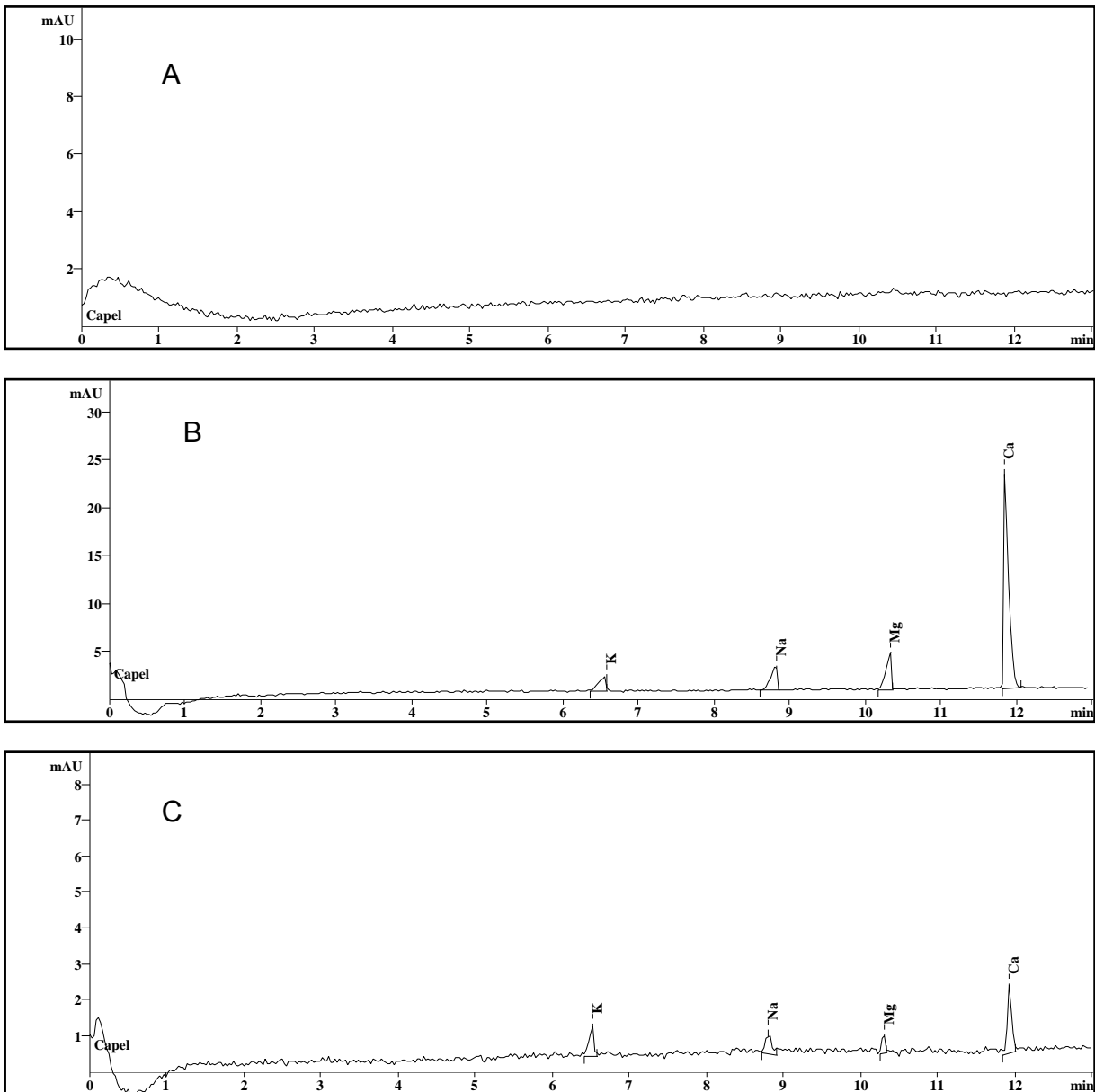
20 °C; y detección indirecta,

254 nm.

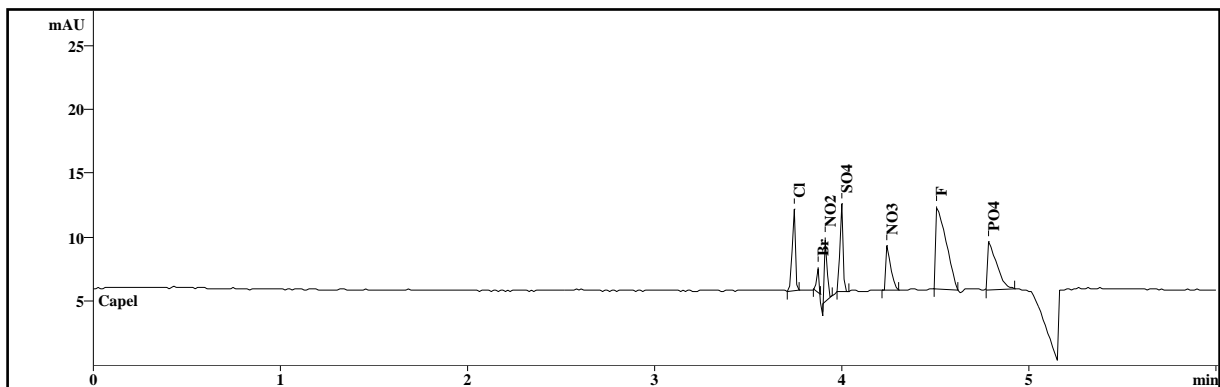
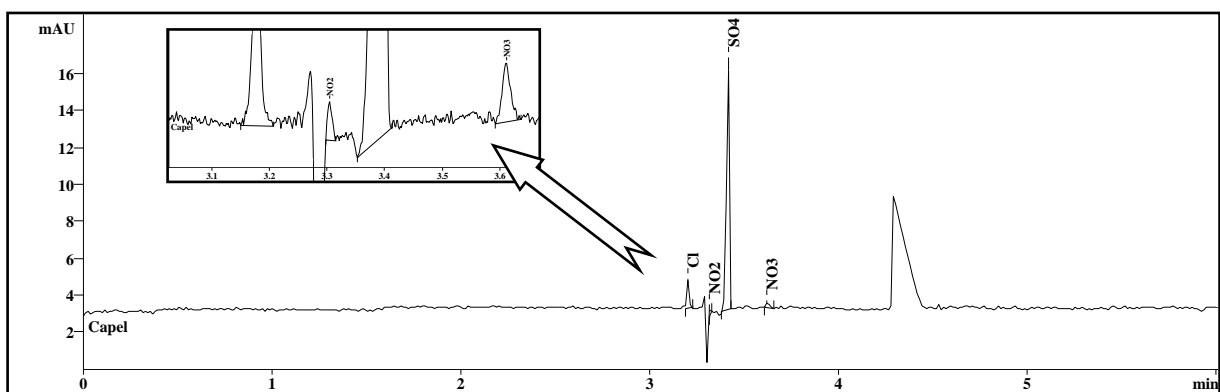
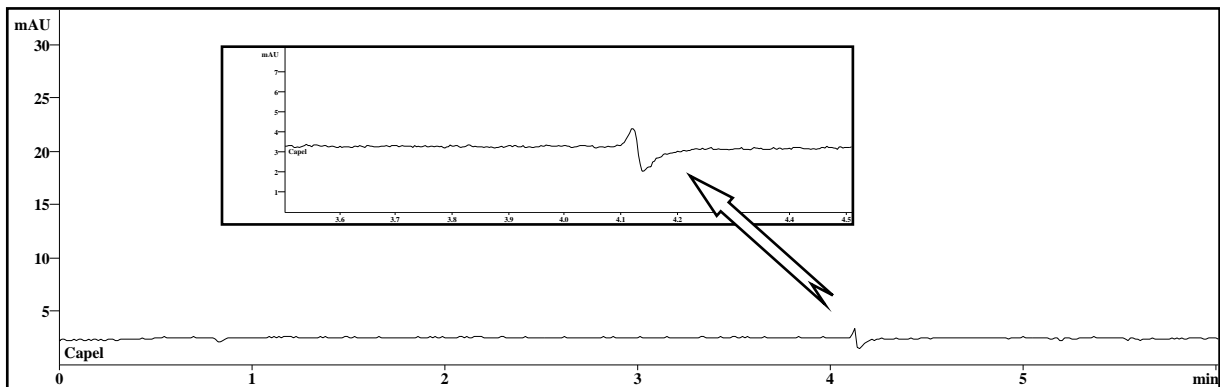
**ANEXO 4 Electroforegramas obtenidos en el análisis de iones presentes en muestras de agua mediante CZE**



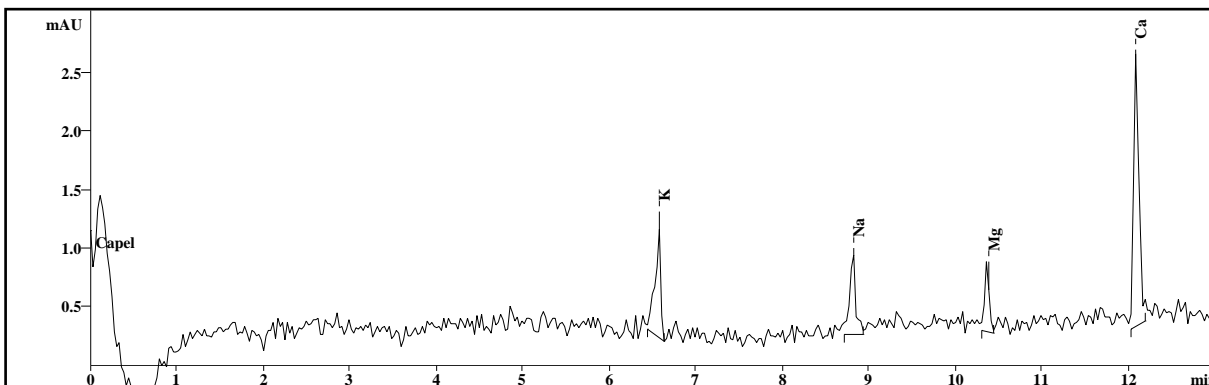
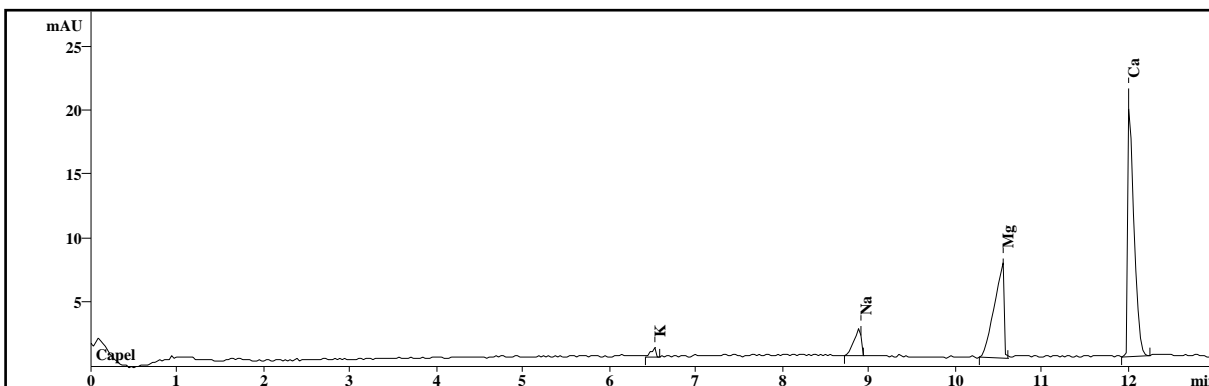
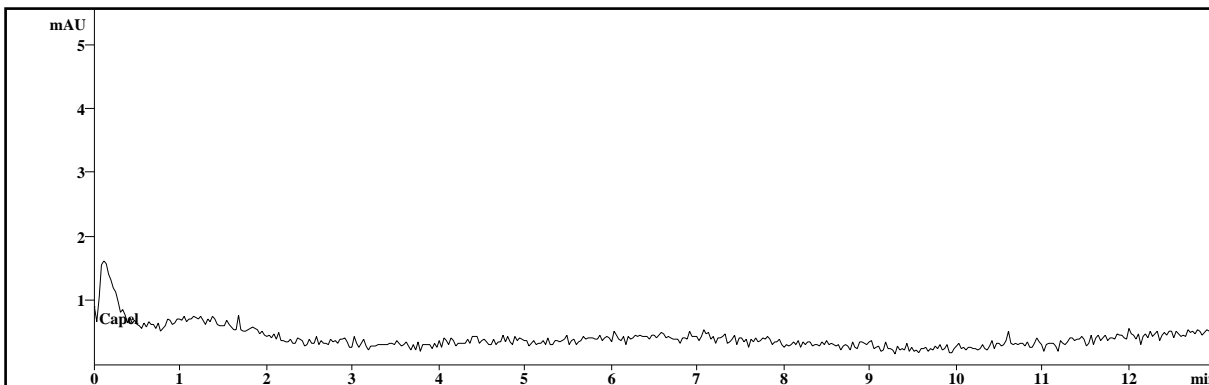
**Figura 66. Separación de aniones mediante CZE. A) Blanco; B) muestra de agua del acueducto Morrorrrico; C) mezcla patrón de aniones. Condiciones de análisis: inyección en modo hidrodinámico, 0 kV, 3000 Pa, 15 s; voltaje de análisis, -16 kV; *buffer* de análisis: CrO<sub>3</sub> (5 mM), DEA (20 mM) y CTAB (1,65 mM); temperatura de análisis, 20 °C; y detección indirecta, 254 nm.**



**Figura 67. Separación de cationes mediante CZE. A) Blanco; B) muestra de agua del acueducto Morrorríco; C) mezcla patrón de cationes. Condiciones de análisis: inyección en modo hidrodinámico, 0 kV, 3000 Pa, 10 s; voltaje de análisis, +10 kV; *buffer* de análisis: benzimidazol, 6 mM; ácido tartárico, 2,5 mM; 18-corona-6, 2 mM; temperatura de análisis, 20 °C; y detección indirecta, 254 nm.**

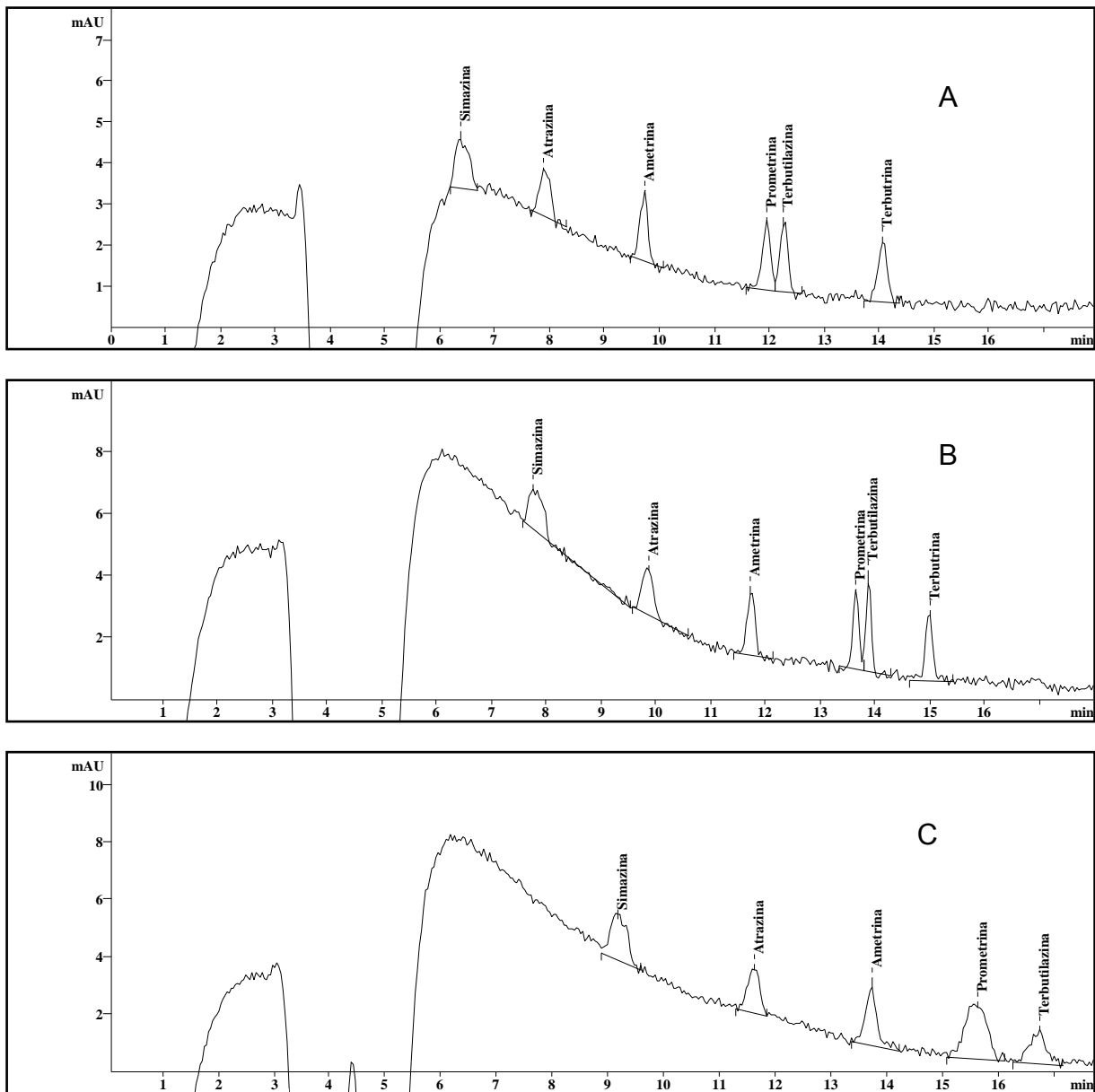


**Figura 68. Separación de aniones mediante CZE. A) Blanco; B) muestra de agua del acueducto Piedecuesta; C) mezcla patrón de aniones. Condiciones de análisis: inyección en modo hidrodinámico, 0 kV, 3000 Pa, 15 s; voltaje de análisis, -16 kV; *buffer* de análisis: CrO<sub>3</sub> (5 mM), DEA (20 mM) y CTAB (1,65 mM); temperatura de análisis, 20 °C; y detección indirecta, 254 nm.**

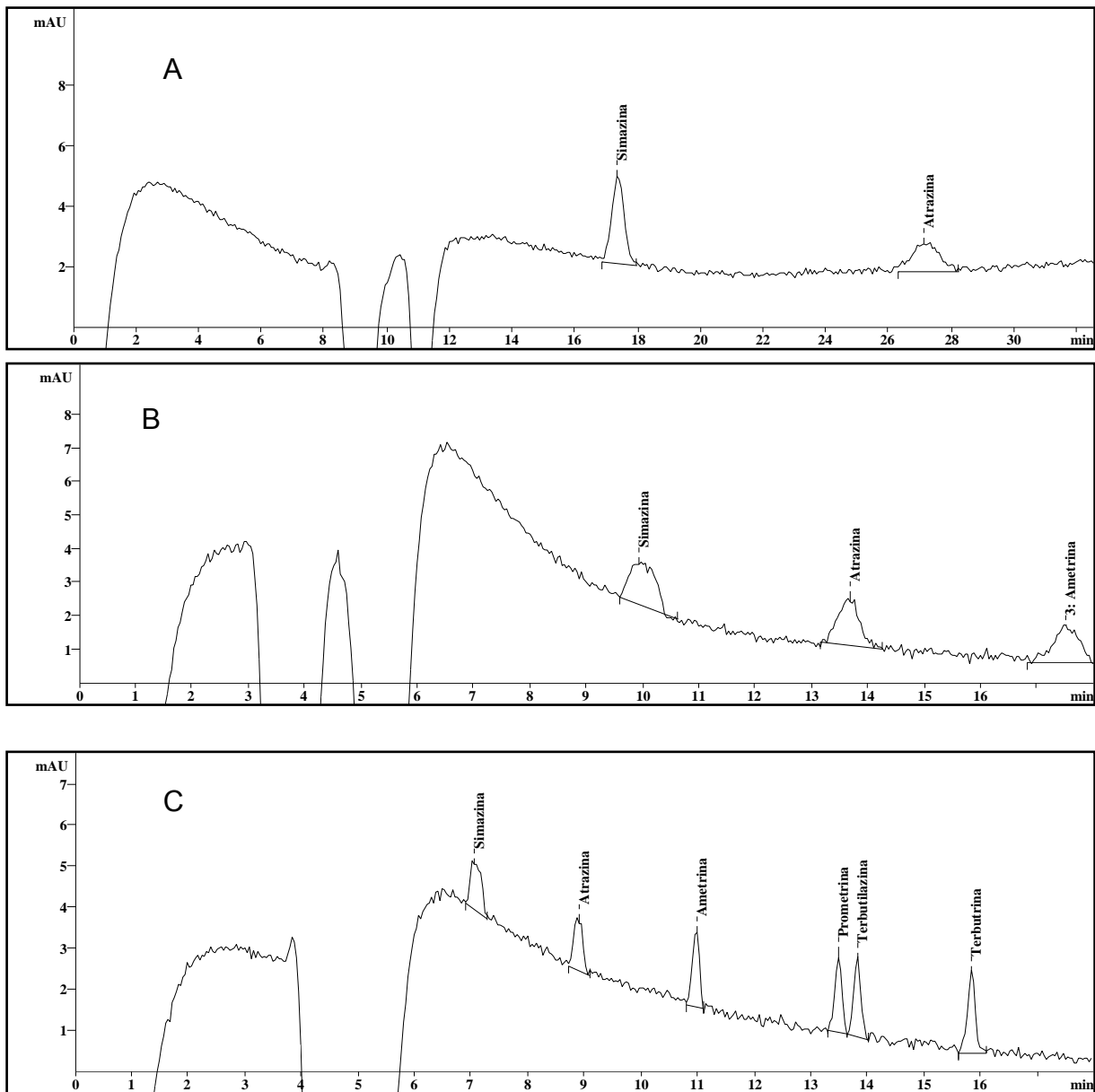


**Figura 69. Separación de cationes mediante CZE. A) Blanco; B) muestra de agua del acueducto Piedecuesta; C) mezcla patrón de cationes. Condiciones de análisis: inyección en modo hidrodinámico, 0 kV, 3000 Pa, 10 s; voltaje de análisis, +10 kV; *buffer* de análisis: benzimidazol, 6 mM; ácido tartárico, 2,5 mM; 18-corona-6, 2 mM; temperatura de análisis, 20 °C; y detección indirecta, 254 nm.**

**ANEXO 5 Electroforegramas obtenidos en el análisis de triazinas presentes en muestras de agua mediante ECSI-NA-CCC en línea con MEKC**



**Figura 70. Electroforegramas obtenidos para una mezcla de triazinas, mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC. Condiciones de análisis: voltaje de análisis, + 25 kV; *buffer* de análisis:  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ , 10 mM;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  10 mM; 1-propanol, 4 %p/p; temperatura de análisis, 25 °C; y detección, 222 nm; inyección en modo electrocinético, 10 kV, 150 s; SDS, A) 25 mM; B) 50 mM; C) 75 mM.**



**Figura 71. Electroforegramas obtenidos para una mezcla de triazinas, mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC. Condiciones de análisis: voltaje de análisis, + 25 kV; SDS, 25 mM; 1-propanol, 4 %p/p; temperatura de análisis, 25 °C; y detección, 222 nm; inyección en modo electrocinético, 10 kV, 150 s; *buffer* de análisis:  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ , y  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , respectivamente a: A) 25 mM y 25 mM; B) 15 mM y 15 mM; C) . 10 mM y 10 mM. Nota: el electroforegrama A está en una escala de 0 hasta 32 min.**

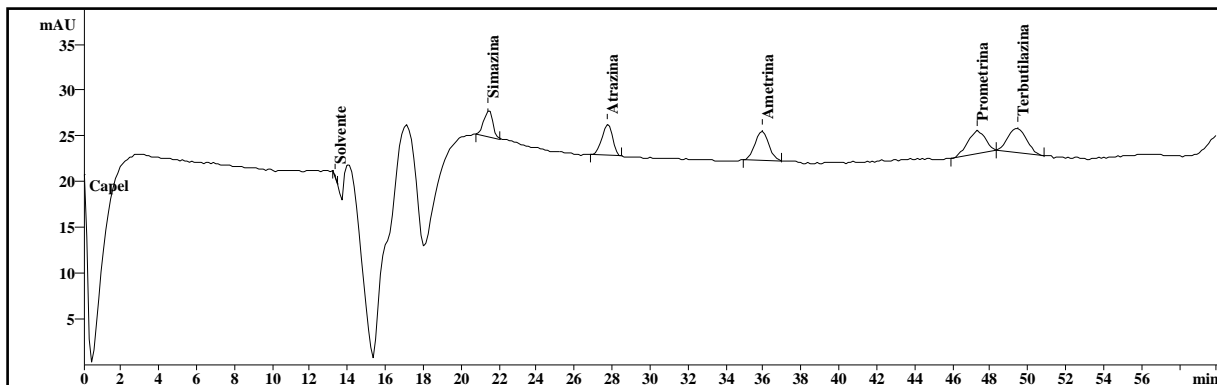


Figura 72. Electroforegrama obtenido para una mezcla de triazinas, mediante <sup>B</sup> EKSI-NA-CCC en línea con MEKC. Condiciones de análisis: inyección en modo hidrodinámico, 10 s, 3000 Pa; *buffer* de análisis: Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>, 10 mM; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10 mM; SDS, 25 mM; 1-propanol, 4 %p/p; temperatura de análisis, 25 °C; y detección, 222 nm; voltaje de análisis, + 10 kV.

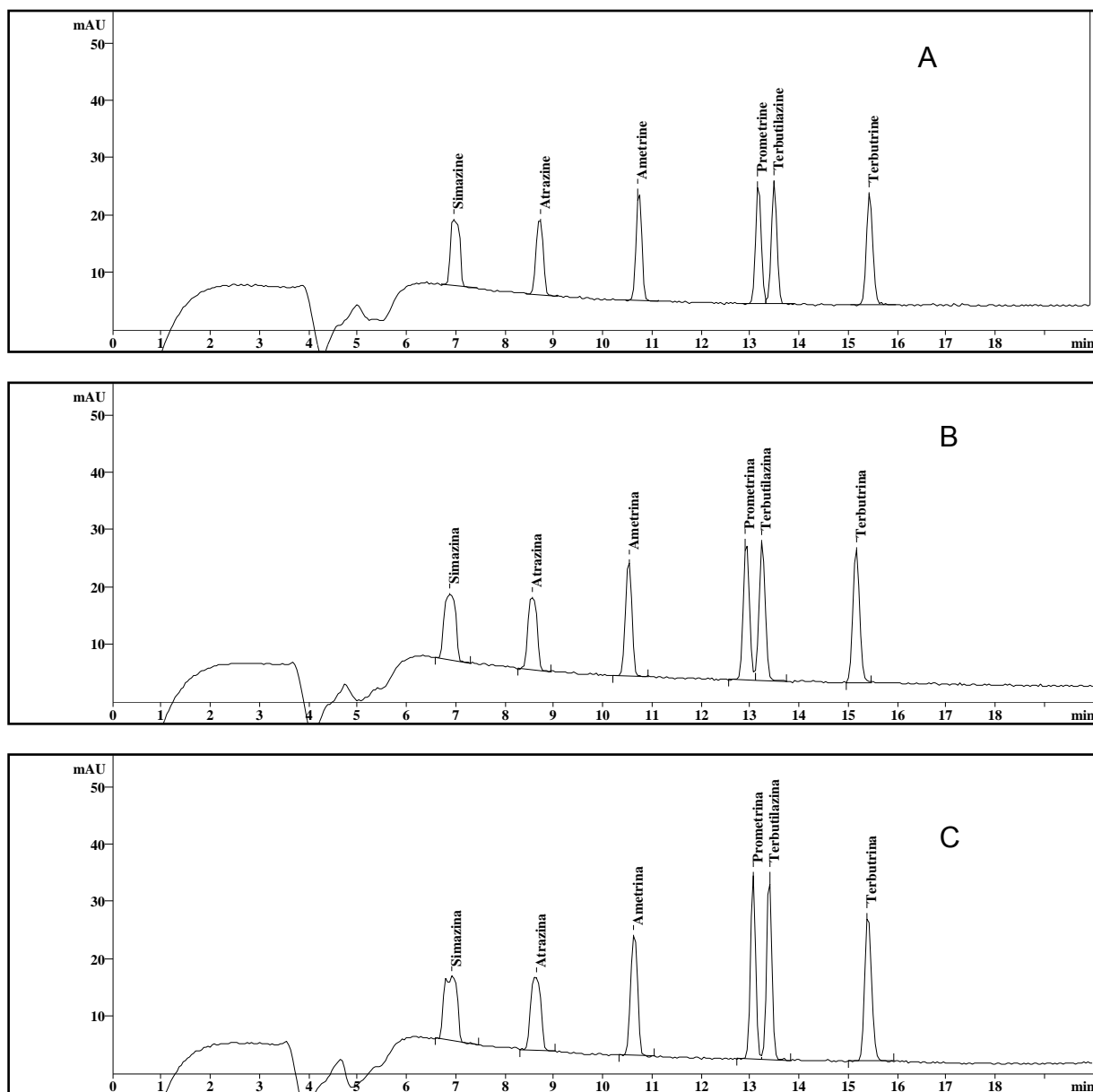
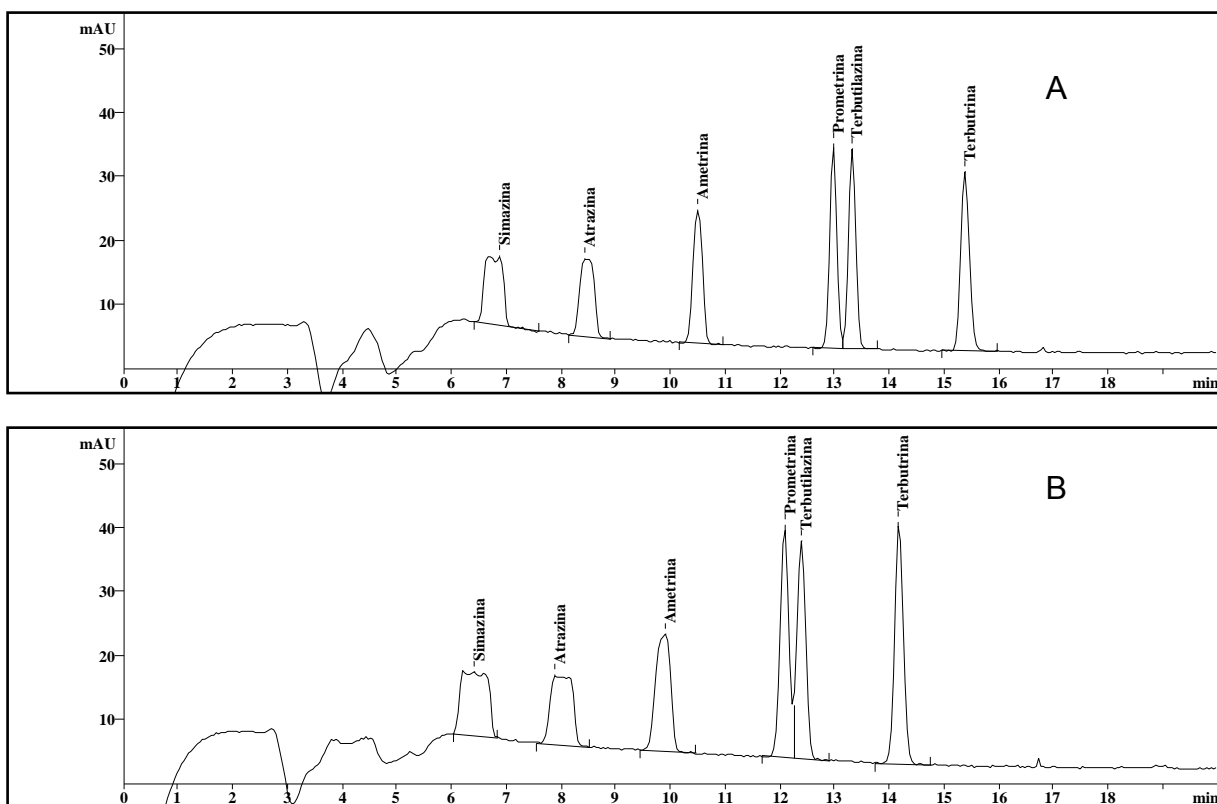


Figura 73. Electroforegramas obtenidos para una mezcla de triazinas, mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC. Condiciones de análisis: voltaje de análisis, + 25 kV; *buffer* de análisis:  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ , 10 mM;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  10 mM; SDS, 25 mM; 1-propanol, 4 %p/p; temperatura de análisis, 25 °C; y detección, 222 nm; inyección en modo electrocinético, 150 s, A) 10 kV; B) 12 kV; C) 13 kV.



**Figura 74. Electroforegramas obtenidos para una mezcla de triazinas, mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC. Condiciones de análisis: voltaje de análisis, + 25 kV; *buffer* de análisis: Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>, 10 mM; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10 mM; SDS, 25 mM; 1-propanol, 4 %p/p; temperatura de análisis, 25 °C; y detección, 222 nm; inyección en modo electrocinético, 150 s, A) 15 kV; B) 20 kV.**

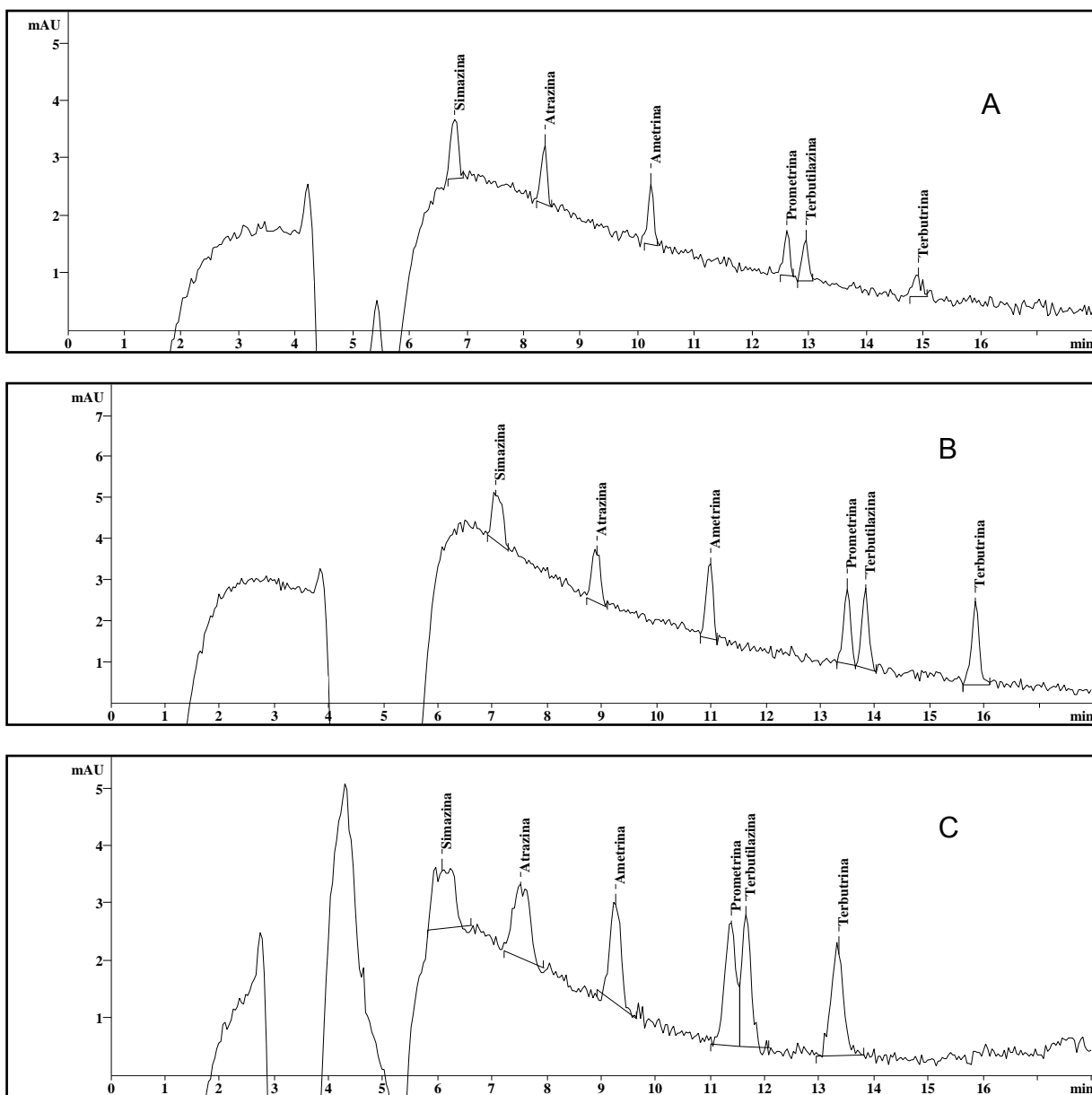
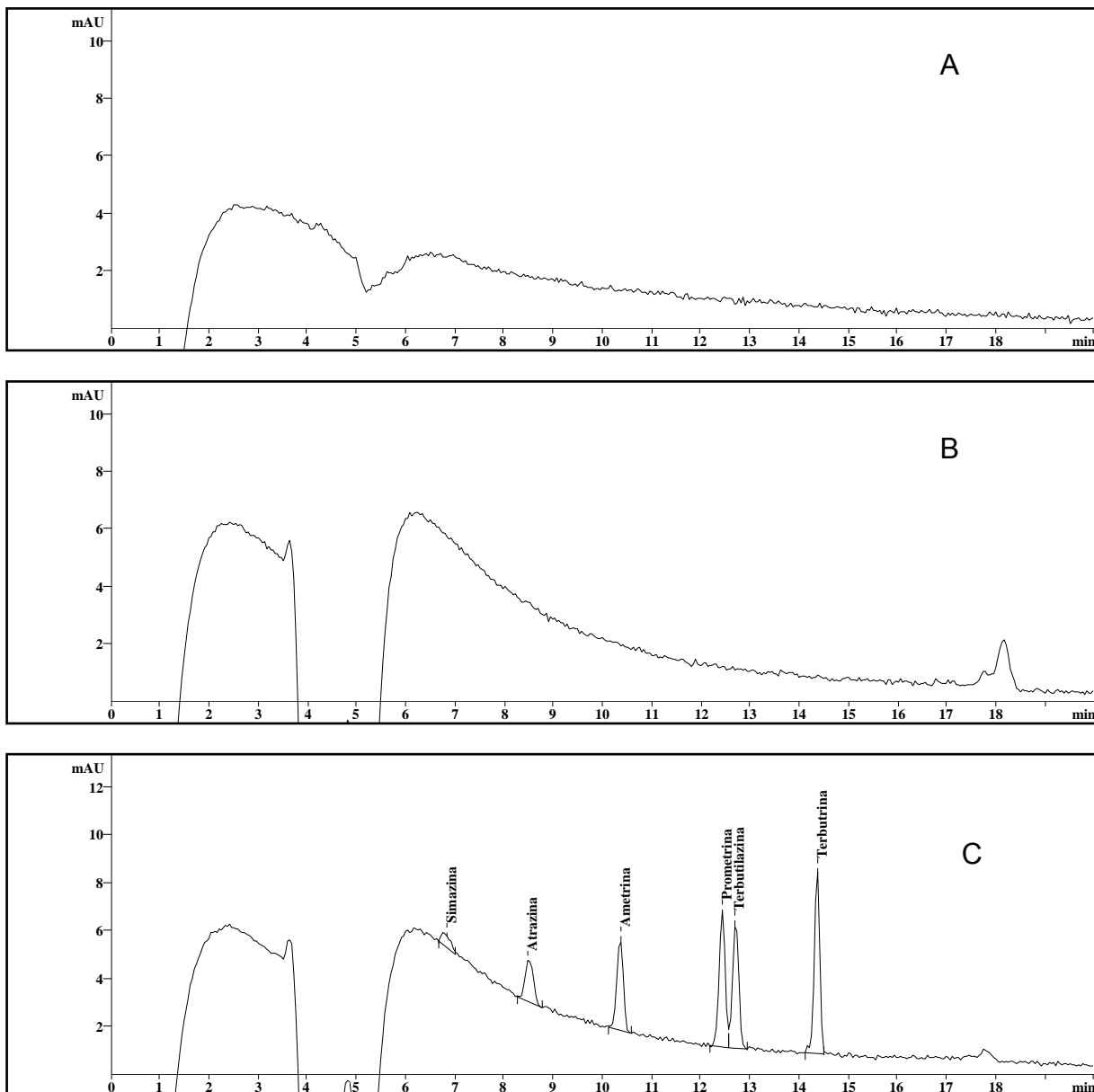


Figura 75. Electroforegramas obtenidos para una mezcla de triazinas, mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC. Condiciones de análisis: voltaje de análisis, + 25 kV; *buffer* de análisis: Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>, 10 mM; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10 mM; SDS, 25 mM; 1-propanol, 4 %p/p; temperatura de análisis, 25 °C; y detección, 222 nm; inyección en modo electrocinético, 10 kV, A) 100 s; B) 150 s; C) 300 s.



**Figura 76. Electroforegramas obtenidos para una mezcla de triazinas, extraídas con SPME y analizadas mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC. A) Blanco; B) Muestra de agua del acueducto Bosconia; C) Muestra de agua enriquecida con solución patrón de triazinas. Condiciones de análisis: voltaje de análisis, + 25 kV; *buffer* de análisis:  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ , 10 mM;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  10 mM; 1-propanol, 4 %p/p; temperatura de análisis, 25 °C; y detección, 222 nm; inyección en modo electrocinético, 10 kV, 150 s; SDS, 25 mM.**

**ANEXO 6 Características analíticas y curvas de calibración para la determinación de triazinas presentes en aguas mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC**

**Tabla 80. Características analíticas de la metodología para la determinación de triazinas mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC**

Compuesto	Intercepto	Pendiente [(mAU*s/min)/min]	Coefficiente de correlación
Simazina	0,0118 ± 0,0352	23,1217 ± 0,1986	0,9996
Atrazina	0,0710 ± 0,0442	15,8036 ± 0,2493	0,9988
Ametrina	0,0642 ± 0,0450	14,6539 ± 0,2541	0,9985
Prometrina	0,0323 ± 0,0554	12,8933 ± 0,3124	0,9971
Terbutilazina	0,0452 ± 0,0441	13,2950 ± 0,2489	0,9983
Terbutrina	-0,0354 ± 0,0355	11,8 ± 0,2	0,9986

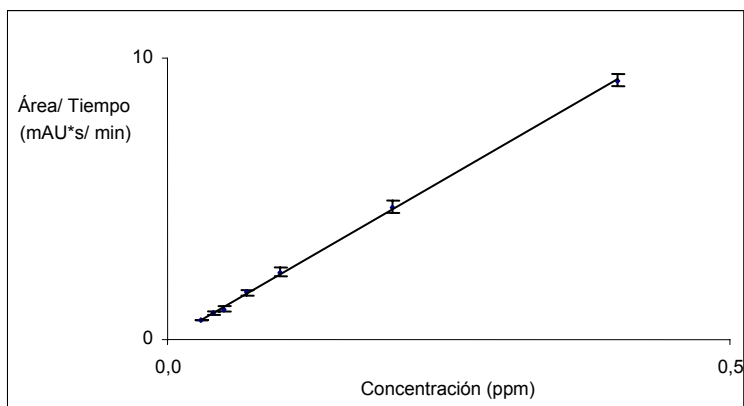
**Tabla 81. Límites de detección y de cuantificación de la metodología para la determinación de triazinas mediante EKSI-NA-CCC en línea con MEKC, y LOD de algunas metodologías de concentración de muestra reportadas en la literatura**

Compuesto	LOD (ppm) <sup>a</sup>	LOQ (ppm) <sup>b</sup>	LOD (ppm) <sup>c</sup>	LOD (ppm) <sup>d</sup>	LOD (ppm) <sup>e</sup>	LOD (ppm) <sup>f</sup>	LOD (ppm) <sup>g</sup>
Simazina	0,02	0,05	0,051	0,050	0,0035	0,0066	0,0085
Atrazina	0,01	0,03	0,050	0,050	0,0065	0,046	0,0055
Ametrina	0,01	0,04	0,045	0,010	0,017	0,027	0,0033
Prometrina	0,01	0,05	0,042	0,014	-	-	-
Terbutilazina	0,01	0,04	-	-	-	-	-
Terbutrina	0,01	0,05	0,045	0,015	-	-	-

<sup>a</sup> LOD obtenidos en este trabajo. <sup>b</sup> LOQ obtenidos en este trabajo. <sup>c</sup> LOD obtenidos mediante MEKC [125]. <sup>d</sup> LOD obtenidos mediante MEKC-ESIMS [146]. <sup>e</sup> LOD obtenidos mediante m-SRMM (*stacking* modificado con migración invertida de las micelas) [127]. <sup>f</sup> LOD obtenidos mediante SRW (*stacking* con migración invertida de las micelas con inyección de agua después de la muestra) [126]. <sup>g</sup> LOD obtenidos mediante RESPM (modo de *stacking* con polaridad de electrodo invertida) [126].

**Tabla 82. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones para la simazina**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
0,030	0,689 ± 0,024
0,040	0,912 ± 0,061
0,050	1,081 ± 0,102
0,070	1,664 ± 0,094
0,100	2,393 ± 0,140
0,200	4,705 ± 0,207
0,400	9,217 ± 0,204



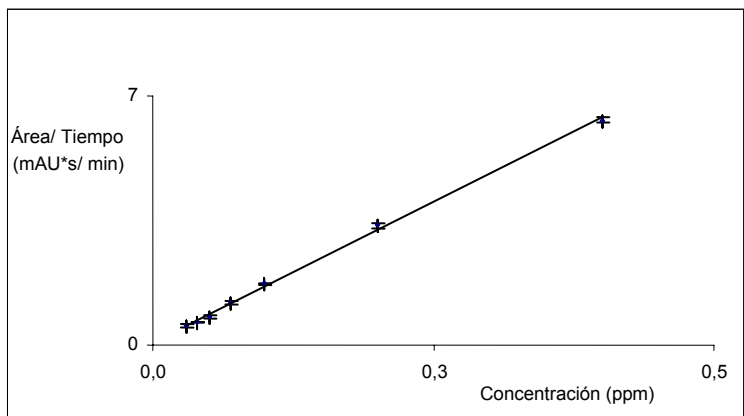
**Figura 77. Curva de calibración de área corregida con el tiempo de retención vs. concentración para la simazina.**

$$A_{corr, i} = 23,1217x(\text{ppm de simazina}) + 0,0118$$

$$R^2 = 0,9996$$

**Tabla 83. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones para la atrazina**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
0,030	0,528 ± 0,054
0,040	0,648 ± 0,002
0,050	0,786 ± 0,046
0,070	1,205 ± 0,058
0,100	1,715 ± 0,033
0,200	3,354 ± 0,083
0,400	6,327 ± 0,078



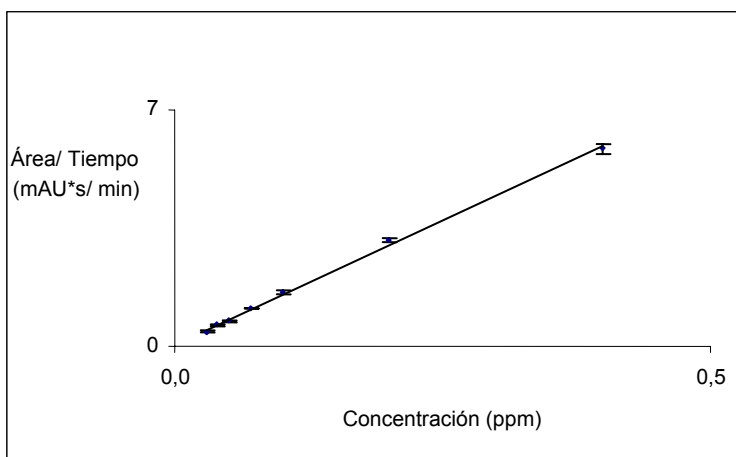
**Figura 78. Curva de calibración de área corregida con el tiempo de retención vs. concentración para la atrazina.**

$$A_{corr, i} = 15,8036x(\text{ppm de atrazina}) + 0,0710$$

$$R^2 = 0,9988$$

**Tabla 84. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones para la ametrina**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
0,030	0,435 ± 0,019
0,040	0,625 ± 0,053
0,050	0,754 ± 0,037
0,070	1,112 ± 0,012
0,100	1,581 ± 0,064
0,200	3,133 ± 0,050
0,400	5,854 ± 0,149



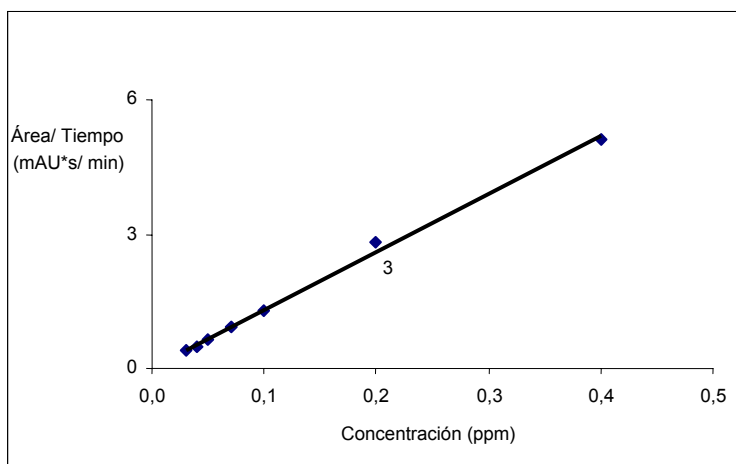
**Figura 79. Curva de calibración de área corregida con el tiempo de retención vs. concentración para la ametrina.**

$$A_{corr, i} = 14,6540x(\text{ppm de ametrina}) + 0,0642$$

$$R^2 = 0,9985$$

**Tabla 85. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones para la prometrina**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
0,030	0,384 ± 0,035
0,040	0,501 ± 0,023
0,050	0,655 ± 0,031
0,070	0,943 ± 0,037
0,100	1,304 ± 0,072
0,200	2,812 ± 0,139
0,400	5,102 ± 0,025



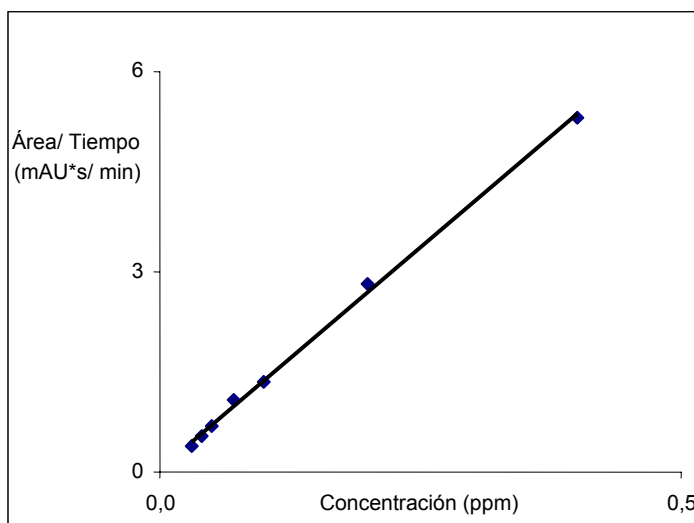
**Figura 80. Curva de calibración de área corregida con el tiempo de retención vs. concentración para la prometrina.**

$$A_{corr, i} = 12,8933x(\text{ppm de prometrina}) + 0,0323$$

$$R^2 = 0,9971$$

**Tabla 86. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones para la terbutilazina**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
0,030	0,394 ± 0,017
0,040	0,534 ± 0,027
0,050	0,679 ± 0,037
0,070	1,068 ± 0,082
0,100	1,341 ± 0,042
0,200	2,827 ± 0,080
0,400	5,306 ± 0,102



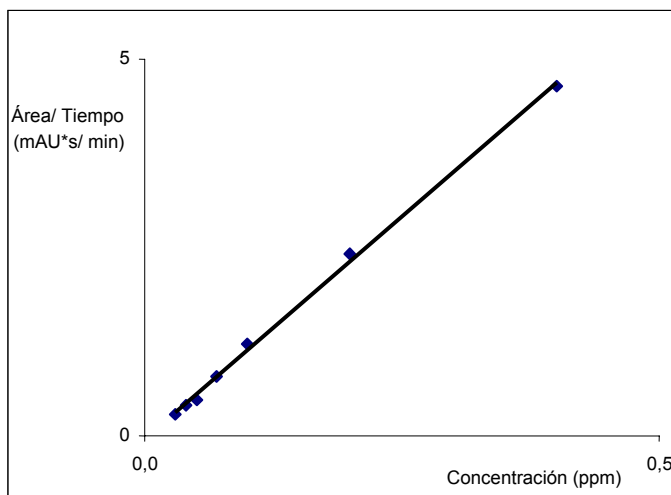
**Figura 81. Curva de calibración de área corregida con el tiempo de retención vs. concentración para la terbutilazina.**

$$A_{corr, i} = 13,2950x(\text{ppm de terbutilazina}) + 0,0452$$

$$R^2 = 0,9983$$

**Tabla 87. Áreas corregidas con el tiempo de retención y concentraciones para la terbutrina**

Concentración (ppm)	$A_{corr, i}$ (mAU*s/min)
0,030	0,299 ± 0,010
0,040	0,410 ± 0,032
0,050	0,485 ± 0,010
0,070	0,793 ± 0,073
0,100	1,224 ± 0,070
0,200	2,406 ± 0,056
0,400	4,635 ± 0,136



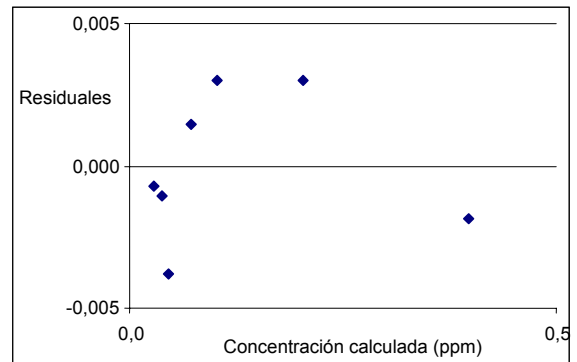
**Figura 82. Curva de calibración de área corregida con el tiempo de retención vs. concentración para la terbutrina.**

$$A_{corr, i} = 11,7960x(\text{ppm de terbutrina}) - 0,0354$$

$$R^2 = 0,9986$$

**Tabla 88. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración para la simazina**

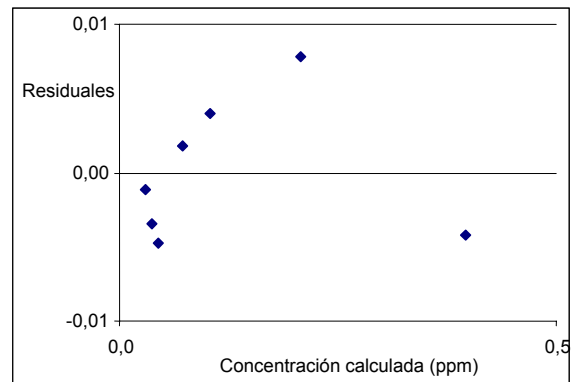
Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,029	-0,001	0,0062
0,039	-0,001	0,0061
0,046	-0,004	0,0060
0,071	0,001	0,0059
0,103	0,003	0,0057
0,203	0,003	0,0060
0,398	-0,002	0,0089



**Figura 83. Residuales de la curva de calibración para la simazina.**

**Tabla 89. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración para la atrazina**

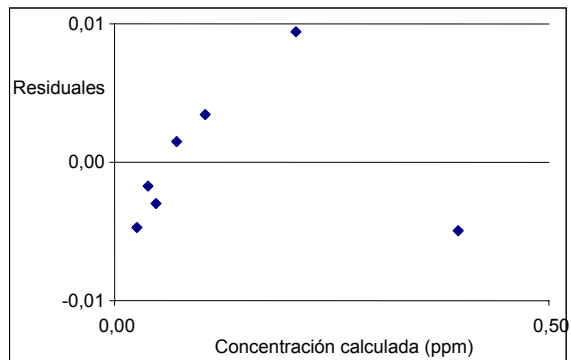
Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,029	-0,001	0,0108
0,037	-0,003	0,0106
0,045	-0,005	0,0105
0,072	0,002	0,0101
0,104	0,004	0,0099
0,208	0,008	0,0105
0,396	-0,004	0,0153



**Figura 84. Residuales de la curva de calibración para la atrazina.**

**Tabla 90. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración para la ametrina**

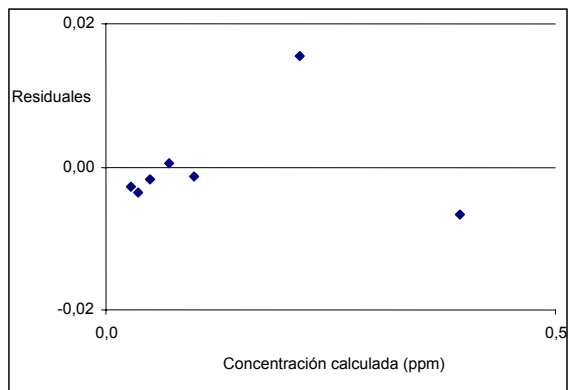
Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,025	-0,005	0,0121
0,038	-0,002	0,0118
0,047	-0,003	0,0117
0,071	0,001	0,0114
0,103	0,003	0,0111
0,209	0,009	0,0117
0,395	-0,005	0,0171



**Figura 85. Residuales de la curva de calibración para la ametrina.**

**Tabla 91. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración para la prometrina**

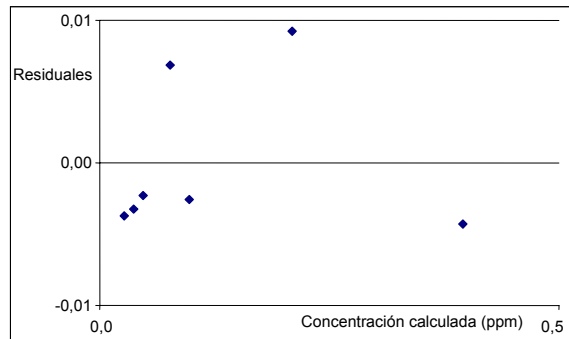
Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,027	-0,003	0,0168
0,036	-0,004	0,0165
0,048	-0,002	0,0162
0,071	0,001	0,0158
0,099	-0,001	0,0155
0,216	0,016	0,0165
0,393	-0,007	0,0237



**Figura 86. Residuales de la curva de calibración para la prometrina.**

**Tabla 92. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración para la terbutilazina**

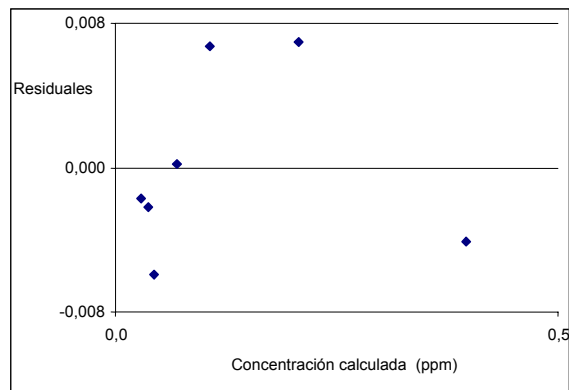
Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,026	-0,004	0,0129
0,037	-0,003	0,0126
0,048	-0,002	0,0124
0,077	0,007	0,0120
0,097	-0,003	0,0118
0,209	0,009	0,0125
0,396	-0,004	0,0182



**Figura 87. Residuales de la curva de calibración para la terbutilazina.**

**Tabla 93. Residuales e intervalo de confianza de la curva de calibración para la terbutrina**

Concentración calculada (ppm)	Residuales	Intervalo de confianza para la concentración calculada (ppm)
0,028	-0,002	0,0116
0,038	-0,002	0,0115
0,044	-0,006	0,0113
0,070	0,000	0,0110
0,107	0,007	0,0107
0,207	0,007	0,0113
0,396	-0,004	0,0166



**Figura 88. Residuales de la curva de calibración para la terbutrina.**

**ANEXO 7. Diseño central compuesto rotatorio para mejorar la extracción y desorción de triazinas presentes en aguas mediante SPME.**

**Tabla 94. Diseño central compuesto rotatorio para mejorar la extracción por SPME.**

Tiempo extracción (min)	Temperatura extracción (°C)	NaCl (% p/p)	Tiempo desorción (min)	Temperatura desorción (°C)	Área total (mAU*s)
17,5	40	5,0	15	35	219,7 ± 7,5
45,0	30	2,5	20	30	198,1 ± 1,9
45,0	30	7,5	10	30	492,7 ± 0,3
45,0	30	2,5	10	40	165,3 ± 7,4
45,0	30	7,5	20	40	261,6 ± 2,1
45,0	50	7,5	20	30	318,7 ± 3,3
45,0	50	2,5	10	30	288,1 ± 0,9
45,0	50	2,5	20	40	267,1 ± 4,7
45,0	50	7,5	10	40	415,5 ± 2,3
72,5	20	5,0	15	35	372,0 ± 11,2
72,5	40	5,0	15	25	492,8 ± 3,7
72,5	40	0,0	15	35	324,2 ± 2,6
72,5	40	5,0	5	35	276,2 ± 15,0
72,5	40	5,0	15	35	266,3 ± 0,0
72,5	40	5,0	25	35	388,2 ± 2,5
72,5	40	10,0	15	35	399,8 ± 0,5
72,5	40	5,0	15	45	161,9 ± 6,6
72,5	60	5,0	20	30	604,9 ± 7,7
100,0	30	2,5	10	30	388,8 ± 0,4
100,0	30	7,5	20	30	550,3 ± 2,1
100,0	30	2,5	20	40	273,3 ± 7,9
100,0	30	7,5	10	40	268,8 ± 5,4
100,0	50	7,5	10	30	593,4 ± 0,5
100,0	50	2,5	20	30	611,1 ± 26,8
100,0	50	2,5	10	40	450,6 ± 6,9
100,0	50	7,5	20	40	252,4 ± 15,4
127,5	40	5,0	15	35	250,3 ± 7,5

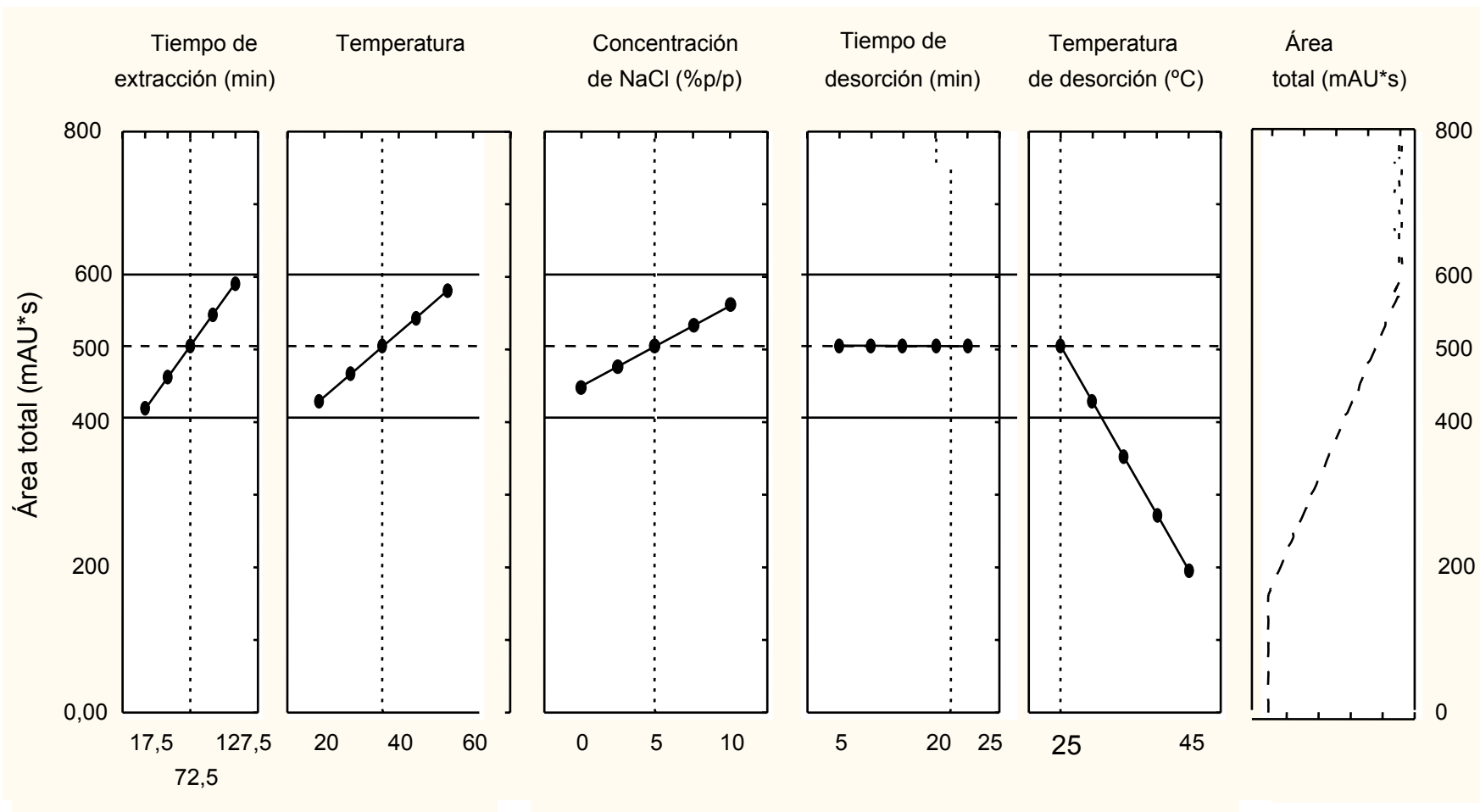


Figura 89. Efecto de las variables individuales del proceso de SPME sobre el área total de los electroforegramas.

**Tabla 95. Porcentajes de recuperación logrados con la extracción mediante SPME.**

Triazina	Concentración (ppm)	% R	LOD (ppm)
Simazina	0,1	3,9	0,006
Atrazina	0,1	10,0	0,013
Ametrina	0,1	22,1	0,005
Prometrina	0,1	30,6	0,003
Terbutilazina	0,1	24,6	0,005
Terbutrina	0,1	38,6	0,003

Nota: todas las condiciones analíticas se presentan en el texto, numerales **3.3.2.1** y **4.2.4**.