

DETERMINACION DE IONES EN SUELOS POR ELECTROFORESIS CAPILAR

INES AHUMADA T., EDUARDO SCHALSCHA B. Y RAUL SOTO C.

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Casilla 233,
Santiago de Chile

RESUMEN

En el presente estudio se analizaron los aspectos generales y la aplicabilidad de la técnica de Electroforesis Capilar de Zona (ECZ), evaluando la repetibilidad y sensibilidad de los resultados obtenidos al trabajar con muestras de extractos acuosos de suelos.

Utilizando tres suelos Inceptisoles, se identificó y cuantificó en sus respectivos extractos acuosos 1:1 los aniones cloruro, sulfato, nitrato, fosfato, bicarbonato y los cationes sodio, potasio, calcio y magnesio. Empleando la técnica de ECZ con detección UV indirecta y técnicas clásicas en la determinación de ellos, se encontró que los resultados con ambos tipos de técnicas se relacionaban satisfactoriamente para la mayoría de las especies analizadas, excepto bicarbonato y potasio, observándose límites de detección entre 0,3 y 1,5 ppm para los distintos analitos y repetibilidad con coeficientes de variación menores a 2% en el caso de los aniones, comprobándose las ventajas de la técnica de electroforesis capilar en términos de su rapidez, economía y precisión.

ABSTRACT

The applicability, sensitivity and repetitivity, as well as general aspects of the Capillary Zone Electrophoresis (CZE) technique was studied as applied in the identification and quantification of Cl^- , NO_3^- , HCO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+} , contained in a 1:1 soil-water extract of three Inceptisols. Results were compared with those obtained using usual methods and found to be satisfactory for most of the ions studied. Detection limits were from 0.3 to 1.5 ppm for the different analytes, and a repetitivity with variation coefficients of less than 2% in the case of anions. The advantage of CZE in terms of speed, economy, and precision are excellent.

INTRODUCCION

El desarrollo industrial y el crecimiento de la población urbana han traído consigo un marcado deterioro del medio ambiente que nos rodea ya que, para satisfacer las necesidades de la población y de las industrias, se ha ido a una explotación muchas veces no racional de los recursos naturales. Junto a ello se ha producido una contaminación del medio ambiente por la emisión descontrolada de los desechos y residuos de esta actividad.

Estas contaminaciones están creciendo y es tarea ineludible controlarlas. Para esto es indispensable el estudio responsable de los factores en juego. Estos estudios, por su costo y tiempo que muchas veces demandan, llevan a prescindir de ellos. De ahí la conveniencia de incorporar

nuevos procedimientos y técnicas que, junto con abaratar costos, aporten información rápida y confiable. Entre los estudios necesarios para ello, están aquellos relacionados con las contaminaciones de aguas y suelos con compuestos inorgánicos. Es en este campo donde se han introducido en los últimos decenios nuevas técnicas y metodologías, entre ellas la de Electroforesis Capilar de Zona (ECZ). Esta técnica ha sido recomendada para el estudio de la presencia y cuantía de contaminantes aniónicos y catiónicos en aguas^{2,9,6,7,12}.

La ECZ es utilizada para la separación de cationes o aniones en solución, que utiliza un capilar de sílice fundida sometido a una diferencia de potencial de entre 0 y 30 kV permitiendo la migración diferencial de los distintos componentes de una mezcla hacia el ánodo o cátodo según su naturaleza eléctrica. Se ha estudiado la aplicación de esta nueva técnica en distintos tipos de muestras^{5,16} pero sólo encontramos un estudio sobre separación de ácidos húmicos³ en matrices derivadas de suelos, es por ello que deseamos aportar algunos antecedentes sobre el particular.

En el presente trabajo hemos intentado evaluar el uso y las aplicaciones de la técnica para la determinación de algunos aniones y cationes inorgánicos contenidos en extractos acuosos de suelos, realizando un estudio de la precisión, versatilidad, rapidez y economía de esta técnica y como ello se compara con los resultados obtenidos por métodos clásicos utilizados para estas determinaciones.

MATERIALES Y METODOS

Las muestras de suelos corresponden a especies del orden Inceptisol, serie Mapocho ubicadas en la comuna de Maipú de la Región Metropolitana, Chile. Estos suelos han sido regados durante más de medio siglo con aguas de alcantarilla doméstica e industriales no tratadas. Las muestras se sacaron de tres áreas distintas de un mismo predio y corresponden al nivel superficial (0-10 cm) del suelo respectivo. Luego de recolectarlos y llevarlos al laboratorio, fueron secadas a temperatura ambiente, tamizados por tamiz inerte de 2 mm y almacenados en recipientes de polietileno a temperatura ambiente, para ser luego utilizadas en las determinaciones que se indican.

Determinaciones generales

Se determinó el pH del suelo utilizando una pasta 1:2,5 suelo/agua. La humedad se determinó secando a 105°C hasta peso constante; el contenido de carbono orgánico por oxidación con dicromato de potasio según el método de Walkley y Black y la capacidad de intercambio catiónico (CIC) por saturación con acetato de sodio a pH 8.2¹³.

Los metales totales contenidos en las muestras de suelos fueron determinados luego de solubilizarlos por digestión ácida con una mezcla de HNO₃, HF y H₂O₂ en un horno microonda Milestone. El producto del ataque fue luego evaporado a sequedad en vasos de teflón, llevado a un volumen de 10 mL con HCl 1 M y luego filtrado, determinándose los metales por Espectroscopia de Absorción Atómica (EAA) con llama.

El extracto acuoso de suelo se obtuvo agitando suelo y agua en proporción 1:1 durante 4 horas, centrifugando y filtrando el sobrenadante a través de membrana de policarbonato de 0,4 µm. El filtrado se almacenó luego a 4°C en frascos de polietileno. En este filtrado y luego de determinar su pH, se cuantificaron los aniones y cationes que se detallan utilizando para ello tanto los métodos clásicos respectivos como la técnica.

Los métodos clásicos empleados fueron: Potenciometría directa con electrodo selectivo para cloruros¹⁰; determinación calorimétrica de fosfatos por la formación del complejo azul de molibdeno, utilizando ácido ascórbico como reductor⁴; sulfatos por precipitación con una solución ácida de BaCrO₄, luego de alcalinizar con NH₄OH y determinar el exceso de CrO₄⁼ por espectrofotometría a 410 nm¹³; nitratos por reducción en columna de Cd a nitritos, que fueron determinados espectrofotométricamente a 540 nm después de haber formado un compuesto coloreado con sulfanilamida y α-naftilamina¹; los carbonatos se determinaron a través de una titulación potenciométrica con HCl 0,01 N¹³.

Los cationes alcalinos (Na y K) y alcalinotérreos (Ca y Mg) fueron determinados por fotometría de llama y por EAA con llama respectivamente¹⁰⁾.

La determinación de metales pesados contenidos en el extracto acuoso de suelo se realizó por EAA con llama¹⁰⁾.

Electroforesis Capilar de Zona (ECZ)

Se utilizó un equipo Quanta 4000 (Waters, Assoc.) con un detector UV. La detección indirecta de aniones y cationes fue realizada con una lámpara de mercurio utilizando un filtro óptico de 254 nm para los aniones y un filtro óptico de 185 nm para los cationes. Se utilizó un capilar de 60 cm de largo por 75 μm de DI. Las muestras se colocaron en viales de polipropileno de 600 μL . Los datos fueron recogidos por medio de una interfase SAT/IN y procesados a través del programa MILLENIUM (Waters Assoc.). Se utilizó introducción de muestra hidrostática, con una diferencia de nivel de 10 cm por 30 segundos, incorporándose con ello aproximadamente 10 nL de muestra¹⁵⁾, lo que equivale a 7,2 μm de longitud de capilar. Se utilizó siempre agua Milli-Q en todas las operaciones.

Preparación de electrolitos

Aniones: Para preparar el electrolito concentrado 0,1 M, se utilizó 23,41 g de Na_2CrO_4 tetrahidratado, el que se disolvió en 68 mL de H_2SO_4 10 mM y enrasó a 1000 mL con agua Milli-Q 18,2 M Ω . El electrolito de trabajo se preparó utilizando 9,2 mL del electrolito concentrado, al que se agregaron 4,6 mL de «Anion BT» (modificador de flujo electrosmótico, Waters) y se aforó a 200 mL con agua Milli-Q (enjuagándose la pipeta con esta agua), obteniéndose así electrolito cromato 5 mM a pH 8, el cual se filtró a través de filtro-membrana de 0,45 μm .

Cationes: Se utilizó como solución electrolito (pH 4,4) una mezcla de solución «UV-cat-1» (Waters) y ácido α -hidroxibutírico (HIBA). En un vaso plástico se agregó 100 mL de agua Milli-Q 18,2 M Ω , una barra magnética, 0,068 g de HIBA y se agitó. Luego se agregó 64 μL de UVcat-1 y se filtró por filtro de membrana de 0,45 μm .

Las soluciones de los electrolitos deben prepararse diariamente y desgasificarse.

Curvas de calibración

Para la preparación de las curvas de calibración, tanto de aniones como de cationes, se utilizó una mezcla de estándares entre las concentraciones 2 y 10 ppm (Figura 1).

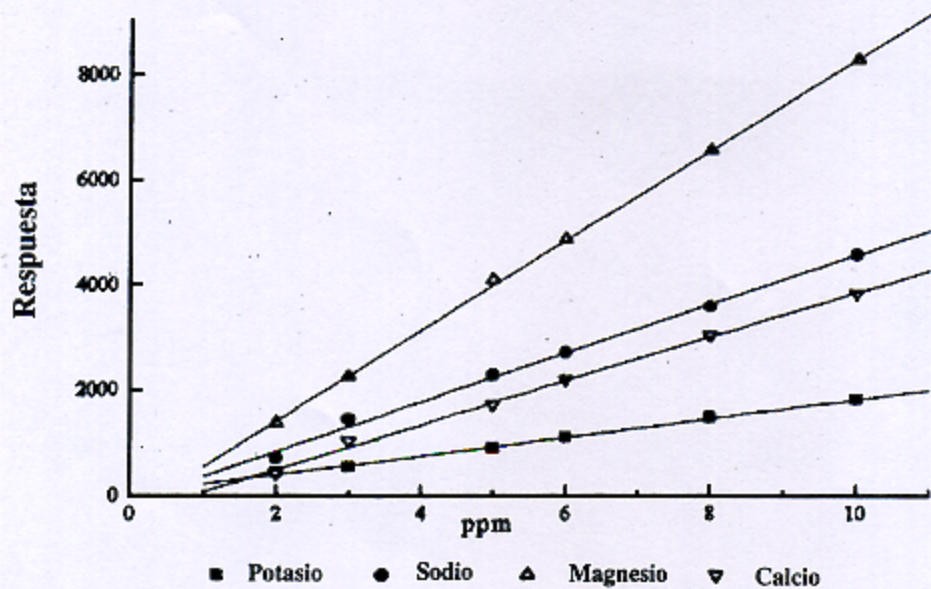
Límite de detección y cuantificación

Se calculó el límite de detección y el límite de cuantificación de los distintos analitos en estudio a través de las curvas de calibración construidas incluyendo estándares menores que 2 ppm¹¹⁾.

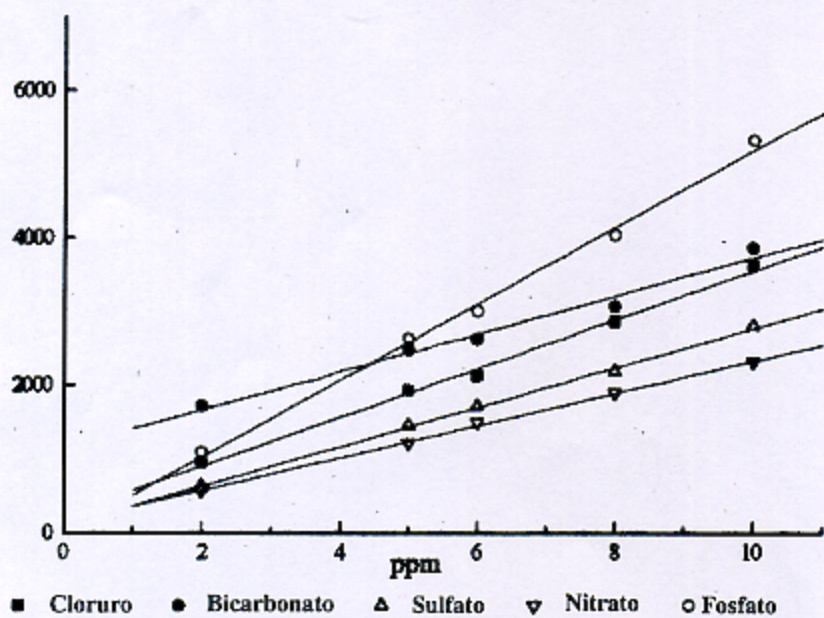
RESULTADOS Y DISCUSION

Algunas de las características de los suelos analizados están contenidas en la Tabla I. Puede observarse en ella que los tres suelos estudiados tienen pH muy cercano a la neutralidad y son parecidos entre sí (entre 6,15 y 6,45). El suelo II por otra parte tiene la más alta conductividad, indicando con ello una mayor presencia de sales solubles. La capacidad de intercambio catiónico (CIC) de los tres suelos es muy parecida y no sobrepasa 20 cmol/kg. Lo mismo aconteció con el carbono orgánico de los tres suelos que fluctúa entre 1,4 y 1,9%.

El contenido total de cobre y cromo en los tres suelos es alto y es atribuible al riego con aguas no tratadas de origen cloacal e industrial. Los demás metales pesados están presentes en cantidades que son habituales en este tipo de suelos.



a



b

FIG. 1. Curvas de calibración para cationes (a) y aniones (b).

TABLA I. Algunas características de los suelos.

	Suelo I	Suelo II	Suelo III
<u>Suelo</u>			
pH	6,15	6,29	6,49
CIC (cmol/kg)	17,42	19,00	16,82
Carbono orgánico (%)	1,90	1,90	1,40
Humedad (%)	4,62	5,75	7,45
<u>Metales Totales (µg/g)</u>			
Cadmio	3	3	3
Cinc	353	341	376
Cobalto	37	35	41
Cobre	728	655	978
Cromo	66	62	78
Manganeso	1024	1589	1262
Níquel	33	33	36
<u>Extracto acuoso</u>			
Conductividad (µS/cm)	1038	2055	666
<u>Metales (mg/L)</u>			
Cobre	0,10	0,22	0,17
Cromo	0,18	0,26	0,27

En la Tabla III se encuentran los resultados obtenidos al utilizar la técnica ECZ en la determinación de cationes y aniones contenidos en el extracto acuoso de cada suelo. En el caso de los cationes sólo fue posible detectar calcio, magnesio, sodio y potasio ya que, aún utilizando muestra sin diluir, no fue posible detectar ningún metal pesado. Esto último puede deberse a los bajos niveles de concentración (Tabla I) en que ellos se encuentran lo que, vistos estos resultados, requerirá de futuros estudios conducentes al uso de esta técnica para la determinación de estos analitos.

Como puede observarse en la Tabla II, en lo que respecta a aniones, predominan los sulfatos, nitratos y cloruros, encontrándose concentraciones menores de fosfatos y bicarbonatos. La cuantía de ellos varía de un suelo a otro, pero como puede observarse, al utilizar cinco alícuotas o repeticiones de cada extracto acuoso y efectuar las determinaciones por ECZ, se obtiene una buena repetibilidad (coeficientes de variación 0,5-1,7 %) para sulfatos, nitratos y cloruros, mientras que ésta es menos favorable para fosfato y bicarbonato, los cuales están presentes en las muestras de suelos a concentraciones bastante menores que los otros aniones. En la determinación por ECZ de metales alcalinos y alcalino-térreos (Tabla III) los resultados obtenidos en este primer enfoque, no son tan positivos ya que al compararlos con aquellos obtenidos por métodos clásicos, se observa que sólo en el caso de calcio y sodio se obtienen valores parecidos, en el caso del magnesio algunas diferencias y muy diferentes para el potasio.

TABLA II. Contenido de aniones en los extractos acuosos de los suelos. Determinación por ECZ. (Los valores que se entregan corresponden a 5 repeticiones)

Suelo	CLORURO			SULFATO			NITRATO			FOSFATO			BICARBONATO		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
media	133	176	60,0	219	468	162	124	534	81,0	8,0	5,0	8,0	35	12	30
σ	0,92	3,65	9,80	3,20	5,10	1,50	0,81	4,20	0,95	0,72	0,20	2,2	0,83	10	11
% CV	1,30	1,67	1,30	1,50	0,70	0,90	0,50	0,80	1,10	3,0	4,1	28	3,0	28	37

TABLA III. Comparación de los resultados obtenidos utilizando técnicas clásicas y de Electroforesis Capilar de Zona en la determinación de aniones y cationes.

	SUELO I		SUELO II		SUELO III	
	Clásico*	ECZ	Clásico	ECZ	Clásico	ECZ
Cloruro	114	113	183	176	80	60
Sulfato	222	219	448	468	160	162
Nitrato	103	124	693	534	83	81
Fosfato	7	8	6	5	7	8
Bicarbonato	89	35	68	12	79	30
Potasio	17	7	17	96	5	32
Sodio	85	82	145	167	68	76
Calcio	130	122	350	357	100	132
Magnesio	20	12	43	40	9	10

*Los valores presentados para los métodos clásicos y para los cationes por ECZ son promedios de dos repeticiones.

Los resultados descritos son los obtenidos luego de evaluar la influencia e importancia de algunas de las variables en juego. Así, se observó que al aumentar el voltaje desde 10 a 25 kV se produce un corrimiento de las señales hacia la ordenada de hasta dos minutos, evidenciando la existencia de una relación entre el flujo electrosmótico y el voltaje aplicado.

En el caso específico de la determinación de aniones, en donde se utiliza cromato de sodio 5 mM y el modificador de flujo Anion-BT a pH 8 (Waters), se constató que para la mayoría de ellos este electrolito es el adecuado. La eficiencia del cromato, electrolito para iones de alta movilidad que migra a velocidad semejante a la del analito, se manifiesta claramente por la obtención de una señal más simétrica y menos dispersa. En cambio, en el caso de fosfato y bicarbonato, se aprecia una señal desplazada debido a que la velocidad de estos analitos es menor que la del electrolito (Figura 2). Siguiendo indicaciones publicadas por Salimi-Moosavi y Cassidy¹⁴, recomendando el uso de ftalato de sodio 5 mM a pH 5,6, tampoco se obtuvieron resultados aceptables para estos dos aniones.

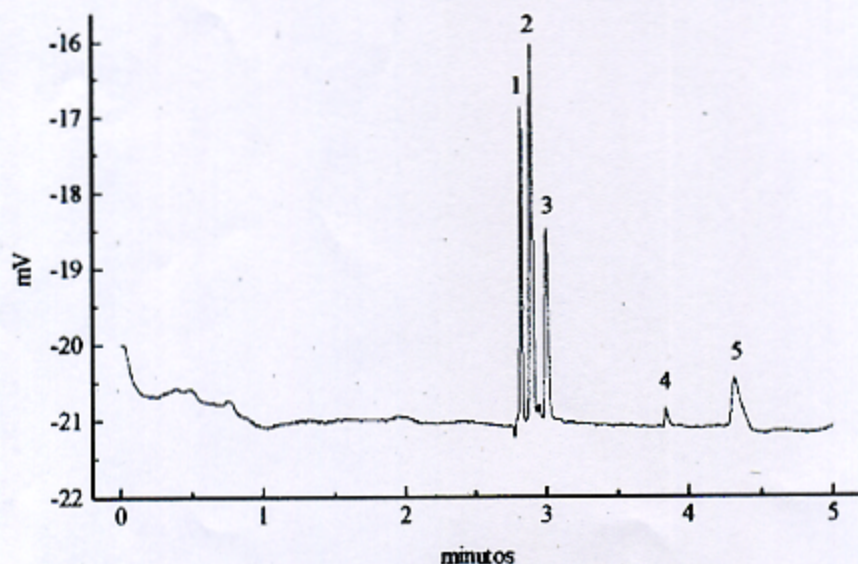


FIG. 2. Electroferograma de los aniones cloruro (1), sulfato (2), nitrato (3), fosfato (4) y bicarbonato (5) en la muestra de suelo III.

Con el fin de evaluar la validez de los resultados obtenidos y tal como se describe en materiales y métodos, se determinaron los analitos utilizando las técnicas clásicas del caso. Al comparar los resultados obtenidos por ECZ y por método clásico, se obtuvieron los resultados que se encuentran en la Tabla III.

Es fácil constatar que existe una relación aceptable entre los resultados obtenidos por ECZ y por método clásico en los casos de los aniones cloruro y sulfato, en cambio para nitrato y fosfato se observan diferencias algo mayores, no muy satisfactorias para este tipo de muestra. Los resultados obtenidos para bicarbonato con ambos métodos difieren notablemente.

CONCLUSION

Tal como ya se ha expresado, la técnica de Electroforesis Capilar permite una identificación rápida de diversos iones contenidos en extractos acuosos de suelo. Es así como se detecta la presencia de aniones tales como cloruro, sulfato, nitrato, fosfato, bicarbonato y cationes sodio, potasio, calcio y magnesio. Sin embargo, en las condiciones de trabajo empleadas y dada la baja concentración de ellos, no fue posible detectar los metales pesados (Cu y Cr) presentes y que, en cambio, fueron cuantificados por EAA con llama (Tabla I).

En las evaluaciones descritas en este trabajo, fue posible determinar adecuadamente cloruros, sulfatos, nitratos y con menor precisión fosfato y bicarbonato. La sensibilidad fue diferente para cada uno de los analitos, y se obtuvieron límites de detección entre 0,3 y 1,5 $\mu\text{g/L}$ (Tabla IV). Al comparar los resultados con los obtenidos por los métodos clásicos se observaron resultados aceptables para los aniones, con excepción del bicarbonato y en el caso de los cationes estos resultados fueron diferentes mayoritariamente en el caso del potasio. El potasio no fue posible cuantificarlo satisfactoriamente, aunque se detecta claramente. Esto puede atribuirse a la alta cantidad de Na^+ y Ca^{2+} presentes en el extracto acuoso de suelo y que podrían estar interfiriendo la cuantificación del K^+ . Esto concuerda con lo señalado por Koberda y col.⁸⁾, que encontraron que matrices conteniendo más de 80 ppm de Na^+ y Ca^{2+} , interferían la determinación del K^+ .

TABLA IV. Límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LQ) de los distintos analitos.

ANALITOS	LD (mg/L)	LQ (mg/L)
Cloruro	0,67	2,2
Sulfato	0,37	1,2
Nitrato	0,42	1,4
Fosfato	0,64	2,1
Bicarbonato	1,50	5,0
Potasio	0,61	2,1
Sodio	0,72	2,4
Calcio	0,76	2,5
Magnesio	0,34	1,1

Como conclusión de éste, nuestro primer intento de estudio de las ventajas y limitaciones en el uso de la técnica de ECZ en la determinación de iones en extracto acuoso de suelo, podemos señalar:

- la técnica de Electroforesis Capilar de Zona es rápida, requiriendo de menos de 6 minutos por muestra para obtener un resultado.
- se determinan múltiples especies iónicas simultáneamente.
- los costos de operación son bajos, no requiriéndose más reactivos que el electrolito.
- se utilizan menos de 10 μL de muestra.

Las desventajas, ya descritas, están en que:

- la composición de la matriz, la cual si contiene cantidades mayores de ciertos analitos, puede impedir la adecuada cuantificación de los presentes en cantidades mucho menores.

la poca sensibilidad, bajo las condiciones de trabajo utilizadas en este estudio, en la determinación de metales pesados en la matriz estudiada.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por FONDECYT a través del proyecto 196-1034 y cuyo aporte agradecemos.

BIBLIOGRAFIA

1. APHA, AWWA, WPCF. 1992. Métodos normalizados para el análisis de agua potable y residuales. In: Días de Santos S.A. Madrid p: 4/146-148, 153-155.
2. G. Bondoux, P. Jandik and W.R. Jones. *J. Chromatography*, **602**, 79-88 (1992).
3. A.W. Garrison, P. Schmitt and A. Kettrup. *Wat. Res.*, **9**, 2149-2159 (1995).
4. W.A. Dick and M.A. Tabatabai. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **41**, 511-514 (1977).
5. S.C. Grocott, L.P. Jefferies, T. Bowser, J. Camevale and P.E. Jackson. *J. Chromatography*, **602**, 257-264 ().
6. P.E. Jackson and P.R. Haddad. *J. Chemistry*, **640**, 481-488 (1993).
7. P.E. Jackson and P.R. Haddad. *Trends Anal. Chem.*, **12**, 231-238 (1993).
8. M. Koberda, M. Konkowsky, P. Youngberg, W. Jones and A. Weston. *J. Chromatography*, **602**, 235-240 (1992).
9. B.L. Karger and F. Foret. *Capillary Electrophoresis: Introduction and Assessment*. Norberto Guzman (ed.), *Capillary Electrophoresis Technology*. Marcel Dekker, New York (1993), p. 3-64.
10. A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney (ed.). *Methods of soil analysis Part 2*. Agronomy 9: Am. Soc. of Agron., Madison, Wisconsin, USA (1982), p. 173-174, 326-327, 338-339, 459-460.
11. J.C. Miller y J.N. Miller. *Estadística para Química Analítica*. In: Addison-Wesley Iberoamerican, S.A. Delaware E.U.A. (1993), p. 100-103.
12. J.P. Romano and J. Krol. *J. Chromatography*, **640**, 403-412 (1993).
13. M.A. Sadzawka. *Métodos de análisis de suelos*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA, Chile. Serie Inia N° 16 (1990).
14. H. Selimi-Moosavi and R.M. Cassidy. *Anal. Chem.*, **67**, 1067-1073 (1995).
15. M. Schmitt, F. Saulnier, Malhautier and G. Linden. *J. Chromatography*, **640**, 419-424 (1993).
16. A.R. Timerbaev. *J. Capillary Electrophoresis*, **2**, 14-22 (1995).