

Tesis de Doctorado en Química

Molibdeno (VI): determinación analítica
y formas químicas en muestras de agua
de relevancia ambiental

Q.F. Florencia Tissot

Directores de tesis:


Dr. Moisés Knochen

Dra. Julia Torres

Química Analítica – DEC
Química Inorgánica – DEC

Facultad de Química
Universidad de la República

2017



ACTA DEFENSA DE TESIS

v.01
 2017/07/10

Escala de calificaciones	
Excelente	12
Muy satisfactoria	9
Satisfactoria	6
Rechazada	0

Carrera: DOCTORADO

Plan: 2004

LUGAR	FECHA	HORA
Salón del Claustro (Anexo Sáenz, 4° Piso).	28 de julio de 2017	11:00

DIRECTORES DE TESIS:

Dr. Moises Knochen Dra. Julia Torres

TRIBUNAL:

Dra. Mabel Tudino
Dra. Diana Míguez
Dr. Eduardo Kremer



ESTUDIANTE		CALIFICACIÓN	
APELLIDO Y NOMBRE	Cédula de Identidad	NUMERO	SIMBOLO
TISSOT, Florencia	3.944.454-8	12	EXCELENTE

NOMBRE DE LA TESIS:

"Molibdeno (VI): determinación analítica y formas químicas en muestras de agua de relevancia ambiental"



PROGRAMA DE DESARROLLO DE LAS CIENCIAS BASICAS
Ministerio de Educación y Cultura - Universidad de la República

Área Química

ACTA. En Montevideo a los veintiocho días del mes de julio de 2017, se reúne en la Facultad de Química el Tribunal que entendió en la defensa de tesis de Doctorado en Química que postula la Q.F. Florencia Tissot, cuyo título es "Molibdeno (VI): determinación analítica y formas químicas en muestras de agua de relevancia ambiental". Asisten todos sus integrantes: Prof. Ing. Quím. Eduardo Kremer, Dra. Diana Míguez, Prof. Dra. Mabel Tudino (Presidente del Tribunal), y los Dres. Moisés Knochen y Julia Torres (Directores de tesis).

El Tribunal, habiendo analizado la tesis en profundidad, considera:

El trabajo presenta una exhaustiva recopilación de antecedentes bibliográficos y contempla aspectos de química analítica de trazas de molibdeno y de química de soluciones acuosas del mismo elemento.

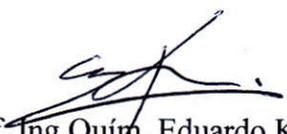
Se trata de un estudio exhaustivo, muy bien escrito y documentado. Se evidencia que se realizó un trabajo experimental novedoso, que se planteó mediante un muy buen diseño experimental, tanto en los aspectos analíticos metodológicos como en las determinaciones de constantes termodinámicas operativas. Los resultados obtenidos ofrecen una alternativa de desempeño optimizado en comparación con lo informado en la bibliografía. Resulta particularmente interesante la articulación de aspectos analíticos e inorgánicos para el análisis de la problemática ambiental.

El trabajo desarrollado ha dado lugar a dos publicaciones en revistas internacionales con referato y a varias presentaciones en congresos nacionales e internacionales.

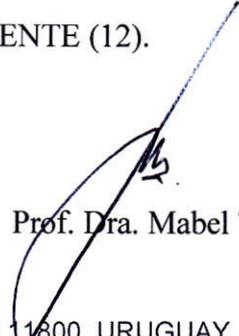
La presentación fue realizada utilizando medios audiovisuales adecuados, destacándose la claridad de la exposición.

Posteriormente respondió con solidez las preguntas del Tribunal lo que indica la excelente formación alcanzada.

Por lo anterior, el Tribunal le otorga la calificación de EXCELENTE (12).


Prof. Ing. Quím. Eduardo Kremer


Dra. Diana Míguez


Prof. Dra. Mabel Tudino

Facultad de Química. Av. General Flores 2124, Montevideo 11600, URUGUAY

Teléfonos: (+598) 29242338. Fax: (+598) 29241906.

Página web: www.pedeciba.edu.uy/quimica

Correo electrónico: lsegredo@fq.edu.uy – gabig@fq.edu.uy

AGRADECIMIENTOS

A mis directores, Dr. Moisés Knochen y Dra. Julia Torres, por la oportunidad de realizar este trabajo de tesis, por su orientación y confianza y por todo lo aprendido.

A la Q.F. Alicia Mollo, quién dedicó su tiempo para capacitarme en el uso del espectrómetro, por sus recomendaciones y consejos que aportaron mucho a mi trabajo.

Al Prof. Eduardo Kremer, por la posibilidad de realizar las medidas de Mo en las muestras por ICP-MS en Argentina.

A la Dra. Lucía Otero, por sus consejos y por proporcionarme el reactivo para poder comenzar a trabajar en el desarrollo analítico.

Al Dr. Nicolás Veiga, por tomarse el tiempo para analizar los datos obtenidos.

A todos mis compañeros de Química Analítica quienes, de diferentes formas, me han ayudado y apoyado a lo largo de estos años.

A Italo Bove y Karime Villanueva del Laboratorio de Inestabilidades en Fluidos del Instituto de Física de la Facultad de Ingeniería por la filmación de las extracciones.

Al Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA) por el apoyo económico brindado.

Al programa CSIC de apoyo a grupos y a la ANII por la financiación de proyectos de investigación en los que se enmarcó el trabajo de tesis.

A mi esposo Néstor por ayudarme, apoyarme y creer en mí siempre, a mis hijas Eugenia e Isabel que fueron creciendo a lo largo de esta tesis por su comprensión y paciencia.

A todos, ¡muchas gracias!

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS	13
LISTADO DE ABREVIATURAS	16
RESUMEN	19
ABSTRACT	21
CAPÍTULO 1: Introducción general	23
1.1 Elementos químicos en la biósfera	24
1.2 Elementos traza en aguas naturales.....	28
1.3 Especies químicas y análisis de especiación	32
1.4 Constantes de equilibrio: definición y determinación.....	34
1.5 Química analítica y agua	37
1.6 Selección de molibdeno.....	38
1.7 Molibdeno.....	40
1.7.1 Propiedades generales y usos	40
1.7.2 Esencialidad y toxicidad.....	41
1.7.3 Formas químicas de molibdeno en ambiente	44
1.7.4 Relación de molibdeno con otros elementos traza	46
1.8 Determinación de la concentración de molibdeno	46
1.8.1 Espectrometría de absorción molecular UV-visible	47
1.8.2 Espectrometría atómica	49
1.8.2.1 Espectrometría de emisión mediante plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES).....	49
1.8.2.2 Espectrometría de absorción atómica.....	49
1.8.2.3 Espectrometría de masa con fuente de plasma (ICP-MS)	50
1.8.3 Voltamperometría	51
1.8.4 Análisis por activación de neutrones.....	53
1.9 Técnicas de preconcentración y separación.....	53
1.9.1 Extracción en fase sólida	54
1.9.2 Extracción líquido líquido	59
1.9.3 Coprecipitación.....	63

1.9.4	Cromatografía.....	64
1.10	Justificación y relevancia de la investigación.....	65
1.11	Objetivos generales y específicos.....	66
CAPÍTULO 2: Estudio preliminar de la concentración de Mo y dureza en aguas naturales.....		67
2.1	Descripción y fundamento de la metodología de trabajo.....	68
2.1.1	Desarrollo y validación de métodos analíticos.....	68
2.1.2	Espectrometría de absorción atómica.....	71
2.1.3	Atomización electrotérmica.....	74
2.1.4	Dureza.....	77
2.2	Desarrollo de la metodología.....	78
2.2.1	Equipos.....	78
2.2.2	Muestras.....	79
2.2.3	Reactivos.....	80
2.2.4	Optimización y validación de la metodología.....	80
2.2.5	Condiciones de trabajo.....	82
2.3	Resultados y discusión.....	83
2.4	Conclusiones.....	84
CAPÍTULO 3: Desarrollo analítico de una metodología con preconcentración para la determinación de Mo en aguas naturales por ETAAS.....		85
3.1	Descripción y fundamento de la metodología de trabajo.....	86
3.1.1	Optimización de metodologías analíticas.....	86
3.1.2	Microextracción dispersiva líquido líquido (DLLME).....	89
3.1.3	Espectrometría de masa con fuente de plasma (ICP-MS).....	97
3.2	Desarrollo analítico de metodología DLLME/ETAAS.....	101
3.2.1	Desarrollo de DLLME con DDTC como complejante.....	101
3.2.1.1	Equipos.....	101
3.2.1.2	Reactivos.....	102
3.2.1.3	Optimización y validación de la metodología.....	102
3.2.1.4	Condiciones de trabajo.....	105

3.2.2	Desarrollo de DLLME con EX como complejante	106
3.2.2.1	Equipos.....	106
3.2.2.2	Reactivos.....	108
3.2.2.3	Optimización y validación de la metodología.....	108
3.2.2.4	Condiciones de trabajo	113
3.3	Resultados y discusión	116
3.3.1	Desarrollo de DLLME con DDTC como complejante	116
3.3.2	Desarrollo de DLLME con EX como complejante	119
3.3.3	Comparación del desempeño de la metodología desarrollada con otras metodologías para la determinación de Mo en agua	124
3.4	Conclusiones	127
CAPÍTULO 4: Determinación de la concentración de Mo en aguas naturales por DLLME-ETAAS.....		128
4.1	Descripción y fundamento de la metodología de trabajo.....	129
4.2	Resultados y discusión	129
4.3	Conclusiones	133
CAPÍTULO 5: Estudio de especies químicas relevantes de Mo en aguas naturales e interacción con elementos de interés.....		134
5.1	Descripción y fundamento de la metodología de trabajo.....	135
5.1.1	Determinación de constantes de equilibrio	135
5.1.2	Variación de las constantes con la fuerza iónica: Teoría de interacción específica (SIT).....	137
5.2	Desarrollo analítico	139
5.2.1	Equipos	139
5.2.2	Reactivos.....	139
5.2.3	Condiciones de trabajo.....	140
5.3	Resultados y discusión	144
5.3.1	Selección de la fuerza iónica de trabajo.....	144
5.3.2	Constantes de protonación y polimerización.....	144
5.3.3	Interacción de oxoaniones de Mo(VI) con cationes metálicos	150
5.3.4	Especiación en aguas naturales.....	154

5.4	Conclusiones	158
CAPÍTULO 6: Estudios de solubilidad.		159
6.1	Descripción y fundamento de la metodología de trabajo.....	160
6.1.1	Síntesis y caracterización de molibdatos al estado sólido	160
6.1.2	Determinación de la solubilidad de molibdatos al estado sólido	160
6.1.3	Determinaciones analíticas	160
6.1.3.1	Espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS)	160
6.1.3.2	Espectroscopía infrarroja (IR)	164
6.2	Desarrollo.....	166
6.2.1	Síntesis y caracterización de sólidos.....	166
6.2.1.1	Equipos.....	166
6.2.1.2	Reactivos	166
6.2.1.3	Condiciones de trabajo de síntesis	166
6.2.2	Determinación de la solubilidad de molibdatos al estado sólido	167
6.2.2.1	Equipos.....	167
6.2.2.2	Condiciones de trabajo	168
6.3	Resultados y discusión	169
6.4	Conclusiones	174
CAPÍTULO 7: Estudio comparativo de distribución de especies de Mo(VI) con otros elementos formadores de aniones en las condiciones de las aguas naturales.		175
7.1	Tungsteno	176
7.2	Selenio.....	184
7.3	Azufre.....	188
7.4	Arsénico	190
7.5	Comparación de la química en solución acuosa de Mo(VI) con elementos formadores de aniones.....	192
7.6	Conclusiones	194
CAPÍTULO 8: Aplicaciones analíticas de los estudios de especiación.		195
8.1	Aplicación de los estudios de especiación al desarrollo de nuevas metodologías de análisis.....	196

8.2 Distribución de especies de Mo(VI) en muestras de aguas subterráneas del Uruguay.....	198
CAPÍTULO 9: Conclusiones generales.....	203
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	206
ANEXO I: Publicaciones y presentaciones.....	223

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1 Ciclo hidrológico.	25
Figura 1.2 Fe en aguas naturales.	26
Figura 1.3 Abundancia de elementos traza en agua de río.	29
Figura 1.4 Diagrama normalizado de concentración de elementos traza disueltos en agua de río a concentración en corteza terrestre.	30
Figura 1.5 Vías de ingreso de los elementos a las aguas naturales.	31
Figura 1.6 Definición de constante de equilibrio de una reacción.	34
Figura 1.7 Principales compuestos de molibdeno.	40
Figura 1.8 Molibdopterina y cofactor de Mo.	40
Figura 1.9 Efecto de la deficiencia de Mo en hojas de tomate.	42
Figura 1.10 Decoloración de lana de una oveja debida a molibdenosis severa.	43
Figura 1.11 Estructuras de aniones de Mo(VI) al estado sólido.	45
Figura 1.12 Esquema de metodología para la determinación de Mo en frijoles por extracción en fase sólida y detección por ETAAS.	58
Figura 1.13 Sistema SIA para la determinación de Mo en agua de océano por ICP-MS.	58

CAPÍTULO 2

Figura 2.1 Lámpara de cátodo hueco.	72
Figura 2.2 Proceso de emisión en una lámpara de cátodo hueco.	72
Figura 2.3 Lámpara de descarga sin electrodo.	73
Figura 2.4 Tubo de grafito calefaccionado longitudinalmente.	74
Figura 2.5 Esquema de espectrómetro de absorción atómica electrotérmica con corrección de fondo por efecto Zeeman.	77
Figura 2.6 Espectrómetro de absorción atómica con atomización electrotérmica Thermo iCE 3500.	78

CAPÍTULO 3

Figura 3.1 Pasos del diseño experimental.	86
Figura 3.2 Superficie de respuesta de dos factores.	88

Figura 3.3 Diseño central compuesto de dos factores: a) El diseño consiste de un diseño factorial 22 combinaciones, más un diseño estrella y el punto central. b) El diseño compuesto.....	89
Figura 3.4 Inyección de la mezcla de solventes luego de la formación del complejo del metal.....	91
Figura 3.5 Inyección simultánea de complejante y mezcla de solventes.	92
Figura 3.6 Posibles disposiciones de Mo como átomo central.....	92
Figura 3.7 Estructura de ligandos para Mo.	93
Figura 3.8 Estructuras reportadas de complejos de Mo con ligandos de trabajo.	95
Figura 3.9 Representación esquemática del proceso de la muestra en el análisis por ICP-MS.....	97
Figura 3.10 Fuente de plasma de acoplamiento inductivo.....	98
Figura 3.11 Esquema de una cámara de nebulización.....	99
Figura 3.12 Esquema de interfase de ICP-MS.	99
Figura 3.13 Esquema de un cuadrupolo.....	100
Figura 3.14 Esquema de multiplicador de electrones.....	101
Figura 3.15 Curva de pirolisis para determinación de Mo mediante DLLME.	103
Figura 3.16 Esquema del procedimiento general de determinación de Mo por DLLME y ETAAS con DDTC como complejante.....	106
Figura 3.17 Sistema de inyección.....	107
Figura 3.18 Separación de fases.....	107
Figura 3.19 Influencia de los solventes de extracción y dispersión en la respuesta.	109
Figura 3.20 Influencia del volumen de HCl y la concentración de PEX en la respuesta analítica.....	111
Figura 3.21 Influencia del volumen de PEX y volumen de acetonitrilo en la respuesta analítica.....	112
Figura 3.22 Formación de opalescencia luego de la inyección.....	114
Figura 3.23 Esquema del procedimiento de determinación de Mo por método de preconcentración con EX como complejante.....	114
Figura 3.24 Secuencia de inyección de mezcla ternaria. Izquierda con capilar fuera de la solución y derecha con capilar sumergido.	115

Figura 3.25 Curva de calibración del método de preconcentración con DDTC.	116
Figura 3.26 Recta de regresión DLLME-DDTC/ICP-MS.	118
Figura 3.27 Elipse de confianza para prueba conjunta de pendiente y ordenada de recta de regresión (DLLME-DDTC/ICP-MS).	118
Figura 3.28 Curva de calibración del método de preconcentración con EX.	119
Figura 3.29 Regresión lineal entre resultados obtenidos por ICP-MS y DLLME-EX.	120
Figura 3.30 Elipse de confianza para prueba conjunta de pendiente y ordenada de recta de regresión (DLLME-EX/ICP-MS).	120
Figura 3.31 Recta de regresión DLLME-EX/DLLME-DDTC.	121
Figura 3.32 Elipse de confianza para prueba conjunta de pendiente y ordenada de recta de regresión (DLLME-EX/DLLME-DDTC).	121
Figura 3.33 Trompeta de Horwitz.	123
CAPÍTULO 4	
Figura 4.1 Muestras de Mo cuantificadas.	131
Figura 4.2 Niveles de concentración de Mo y de dureza en muestras de diferentes zonas del país.	132
CAPÍTULO 5	
Figura 5.1 Esquema de la celda de potenciometría.	136
Figura 5.2 Titulador Mettler Toledo T 50.	139
Figura 5.3 Vista completa del sistema de titulaciones potenciométricas.	141
Figura 5.4 Captura de pantalla del software LabX Titration.	142
Figura 5.5 Curvas de titulación experimental (azul) y teórica (rojo).	143
Figura 5.6 Diagrama de distribución de especies de Mo(VI) para $[Mo] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$	146
Figura 5.7 Diagrama de distribución de especies de Mo(VI) para $[Mo] < 1 \text{ mmol L}^{-1}$	146
Figura 5.8 Constantes experimentales y calculadas de Mo(VI) a diferentes concentraciones de KNO_3 a $20,0 \text{ }^\circ\text{C}$	149
Figura 5.9 Diagrama de distribución de especies calculado a partir de los valores de las Tablas 5.1 y 5.4.	151
Figura 5.10 Diagramas de distribución de especies calculados a partir de los valores de las Tablas 5.1 y 5.4. a) $[Mo] = [Cu] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$. b) $[Mo] = [Zn] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$	152

Figura 5.11 Diagrama de distribución de especies calculado a partir de los valores de las Tablas 5.1 y 5.4. $[\text{Mo}] = [\text{Cd(II)}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$	153
Figura 5.12 Diagrama de distribución de especies calculado a partir de los valores de las Tablas 5.1 y 5.4. Concentración $[\text{Mo}] = [\text{Fe(II)}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$	153
Figura 5.13 Diagrama de distribución de especies calculado a partir de los valores de las Tablas 5.1 y 5.4. $[\text{Mo}] = [\text{Fe(III)}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$	154
Figura 5.14 Diagrama de distribución de especies calculado a partir de los valores de las Tablas 5.1 y 5.4. $[\text{Mo}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{Ca}] = 13,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{Mg}] = 0,092 \text{ mmol L}^{-1}$...	155
Figura 5.15 Diagrama de distribución de especies calculado a partir de los valores de las Tablas 5.1 y 5.4. $[\text{Mo}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{Cd(II)}] = 9 \times 10^{-7} \text{ mmol L}^{-1}$	156
Figura 5.16 Variación de las constantes de asociación Ca-Mo(VI) con la concentración de fuerza iónica.	157
CAPÍTULO 6	
Figura 6.1 Procesos que ocurren durante la atomización en la llama.	162
Figura 6.2 Regiones de la llama.	163
Figura 6.3 Vibraciones moleculares.	165
Figura 6.4 Precipitado de CdMoO_4 (izquierda) y CuMoO_4 (derecha)	167
Figura 6.5 Sistema para determinación de solubilidad de sólidos.	167
Figura 6.6 Celdas termostatizadas con tubos conteniendo los sólidos.	168
Figura 6.7 Diagramas de distribución de especies con fases sólidas. Izquierda Mo(VI)-Cd(II). Derecha Mo(VI)-Cu(II).	172
Figura 6.8 Curva de titulación experimental del sistema Mo(VI)-Cd para concentraciones indicadas.	172
Figura 6.9 Curva de titulación experimental del sistema Mo(VI)-Cu para concentraciones indicadas.	173
CAPÍTULO 7	
Figura 7.1 Diagrama de distribución de especies de W(VI) para $[\text{W}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$	177
Figura 7.2 Constantes experimentales y calculadas de W(VI) a diferentes concentraciones de KNO_3 a $20,0 \text{ }^\circ\text{C}$	179
Figura 7.3 Constantes de formación de especies M(II)-Mo(VI) y M(II)-W(VI) a $20,0 \text{ }^\circ\text{C}$ en KNO_3 $0,100 \text{ mol L}^{-1}$	180

Figura 7.4 Constantes de formación de especies M(II)-Mo(VI) a 20,0 °C en KNO_3 0,100 mol L^{-1} .	181
Figura 7.5 Diagrama de distribución de especies realizado a partir de las constantes de las Tablas 7.1 y 7.4. $[\text{W}] = [\text{Cu(II)}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$.	182
Figura 7.6 Diagrama de distribución de especies realizado a partir de las constantes de las Tablas 7.1 y 7.4. $[\text{W}] = [\text{Ca(II)}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$.	183
Figura 7.7 Diagramas de distribución de especies realizados a partir de datos de Tablas 5.4 y 7.4. $[\text{Ca}] = 13,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{Mg}] = 0,092 \text{ mmol L}^{-1}$. a) $[\text{Mo}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, b) $[\text{W}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.	184
Figura 7.8 Diagramas de distribución de especies de Se(IV) (izquierda) y Se(VI) (derecha) para $[\text{Se}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.	184
Figura 7.9 Diagrama de distribución de especies Se(IV)-Ca. $[\text{Se}] = [\text{Ca}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$ (23).	185
Figura 7.10 Diagrama de distribución de especies Se(IV)-Ca. $[\text{Se}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{Ca}] = 0,0136 \text{ mol L}^{-1}$.	186
Figura 7.11 Diagrama de distribución de especies de Se(VI)-Ca y Se(VI)-Mg. $[\text{Se}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{Ca}] = 0,0136 \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{Mg}] = 9,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.	186
Figura 7.12 Diagrama de E en función de pH para Se.	187
Figura 7.13 Diagrama de E en función de pH para S.	188
Figura 7.14 Diagrama de distribución de especies de S para $[\text{S}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$.	189
Figura 7.15 Diagrama de distribución de especies de S para $[\text{S}] = 1,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{Ca}] = 0,0136 \text{ mol L}^{-1}$.	189
Figura 7.16 Diagrama de E en función de pH para As.	190
Figura 7.17 Diagramas de distribución de especies de As(III) (izquierda) y As(V) (derecha). $[\text{As}] = 7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$.	191
Figura 7.18 Diagramas de distribución de especies de As(III) (izquierda) y As(V) (derecha). $[\text{As}] = 7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{Ca}] = 0,0136 \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{Mg}] = 9,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.	192
Figura 7.19 Diagramas de distribución de especies de Mo(VI)-Ca en presencia de W(VI), As(V) y Se(VI) para $[\text{Mo}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{W}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{As}] = 7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{Se}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. a) $[\text{Ca}] = 0,0136 \text{ mol L}^{-1}$ b) $[\text{Ca}] = 5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.	193

CAPÍTULO 8

Figura 8.1 Diagramas de distribución de especies realizados a partir de datos termodinámicos de (33). $[\text{Mo(VI)}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. a) $[\text{Ca(II)}] = 13,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{Mg(II)}] = 0,092 \text{ mmol L}^{-1}$. b) $[\text{Cd(II)}] = 9 \times 10^{-7} \text{ mmol L}^{-1}$197

Figura 8.2 Diagramas de distribución de especies de Mo(VI) en muestras de aguas subterráneas seleccionadas para estudio y cálculos de porcentajes de especies a pH 7.200

Figura 8.3 Diagramas de distribución de especies Mo(VI)-Cd construido a partir de datos de Tabla 5.4 para $[\text{Mo}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. a) $[\text{Cd}] = 9 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. b) $[\text{Cd}] = 4,05 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$202

ÍNDICE DE TABLAS

CAPÍTULO 1

Tabla 1.1 Reactivos para la determinación espectrofotométrica de Mo(VI).....	48
Tabla 1.2 Características de métodos catalíticos para la determinación de la concentración de Mo(VI).....	48
Tabla 1.3 Metodologías voltamperométricas para determinación de Mo.....	52
Tabla 1.4 Métodos de determinación de Mo por análisis de activación de neutrones..	53
Tabla 1.5 Métodos de determinación de Mo con extracción en fase solida.....	56
Tabla 1.6 Métodos de determinación de Mo con extracción líquido líquido convencional.	59
Tabla 1.7 Métodos para determinación de Mo con extracción por punto nube.	60
Tabla 1.8 Métodos para determinación de Mo con microextracción líquido líquido.	62
Tabla 1.9 Métodos para determinación de Mo por preconcentración por coprecipitación.	64
Tabla 1.10 Métodos de determinación de Mo con preconcentración cromatográfica. ..	64

CAPÍTULO 2

Tabla 2.1 Condiciones operativas de ETAAS para determinación directa de Mo en agua.	82
Tabla 2.2 Cifras de mérito de la determinación directa de Mo por ETAAS.	83
Tabla 2.3 Concentraciones de Mo determinadas por medida directa en ETAAS y dureza.	84

CAPÍTULO 3

Tabla 3.1 Programa de temperatura de ETAAS para la determinación de Mo con preconcentración.....	105
Tabla 3.2 Diseño experimental para optimización de volumen de HCl y [PEX].	110
Tabla 3.3 Diseño experimental para optimización de volúmenes de PEX y acetonitrilo.	112
Tabla 3.4 Condiciones operativas de ICP-MS para medida de Mo.	115
Tabla 3.5 Cifras de mérito del método de preconcentración con DDTC.	116
Tabla 3.6 Cifras de mérito del método de preconcentración con EX.	119
Tabla 3.7 Recuperación de muestras fortificadas. Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar de las tres réplicas de cada análisis.....	122

Tabla 3.8 Efecto de posibles interferentes en la determinación de Mo.....	124
Tabla 3.9 Características generales de metodologías de determinación de Mo en agua..	126
CAPÍTULO 4	
Tabla 4.1 Concentraciones de Mo ($\mu\text{g L}^{-1}$).	130
CAPÍTULO 5	
Tabla 5.1 Logaritmos de las constantes de protonación y polimerización de Mo(VI) determinadas en KNO_3 0,100 mol L^{-1} y NaClO_4 0,15 mol L^{-1} a 20 °C y en NaCl 0,100 mol L^{-1} a 25 °C	145
Tabla 5.2 Logaritmos de las constantes de protonación y polimerización de Mo(VI) determinadas en KNO_3 0,010-0,500 mol L^{-1} a 20 °C.....	148
Tabla 5.3 Logaritmos calculados por SIT de las constantes de protonación y polimerización de Mo(VI) en KNO_3 0,010-0,510 mol Kg^{-1} a 20 °C.	148
Tabla 5.4 Logaritmos de constantes de formación M(II)-Mo(VI) y Fe(III)-Mo(VI) determinadas en KNO_3 0,100 mol L^{-1} a 20 °C.	150
Tabla 5.5 Logaritmos de constantes de hidrólisis de Fe(III) determinadas en KNO_3 0,100 mol L^{-1} a 20 °C.....	151
Tabla 5.6 Logaritmos de constantes de formación Ca(II)-Mo(VI) a 20,0°C en diferentes concentraciones de fuerza iónica.....	156
Tabla 5.7 Logaritmos calculados por SIT de las constantes de asociación Ca(II)-Mo(VI) en KNO_3 0,030-0,51 mol Kg^{-1} a 20 °C.....	157
CAPÍTULO 6	
Tabla 6.1 Resultados del análisis elemental, rendimientos y composición química de los sólidos.....	169
Tabla 6.2 Asignación de bandas del IR de los sólidos sintetizados.....	170
Tabla 6.3 Constantes de producto de solubilidad y concentraciones totales y en equilibrio de Mo, Cd y Cu en sistemas de estudio de solubilidad de los sólidos.	171
Tabla 6.4 Valores de pH de precipitación experimentales y calculados para las fases sólidas de Mo(VI) con los iones Cd^{2+} y Cu^{2+}	173

CAPÍTULO 7

Tabla 7.1 Logaritmos de las constantes de protonación y polimerización de W(VI) determinadas en KNO_3 0,100 mol L^{-1} a 20 °C (36).....177

Tabla 7.2 Logaritmos de las constantes de protonación y polimerización de W(VI) determinadas en KNO_3 0,030-0,500 mol L^{-1} a 20 °C.....178

Tabla 7.3 Logaritmos calculados por SIT de las constantes de protonación y polimerización de W(VI) en KNO_3 0,030-0,501 mol Kg^{-1} a 20 °C. *Constante de protonación a dilución infinita calculada por SIT.178

Tabla 7.4 Logaritmos de constantes de formación M(II)-W(VI) y Fe(III)-W(VI) a 20,0 °C en KNO_3 0,100 mol L^{-1} (36)180

CAPÍTULO 8

Tabla 8.1 Concentraciones de Mo, Ca y Mg de muestras de aguas subterráneas.199

LISTADO DE ABREVIATURAS

AAN: Análisis por Activación de Neutrones.

AHNA: Ácido 4-amino-3-hidroxi-naftaleno sulfónico.

ANSA: Ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfónico.

AOAC: International Association of Official Analytical Chemists.

APDC: Pirrolidinditiocarbamato de amonio.

APHA: American Public Health Association.

CPC: Cloruro de cetilpiridinio.

CPE (Cloud Point Extraction): Extracción por Punto Nube.

CRM (Certified Reference Material): Material de Referencia Certificado.

CTAB: Bromuro de cetiltrimetilamonio.

CTAC: Cloruro de N-cetil-N,N,N-trimetil amonio.

DAPSH: 2,6- diacetilpiridina-monosaliciloil hidrazona.

DDTC: Dietiliditiocarbamato.

DLLME (Dispersive Liquid Liquid Microextraction): Microextracción Dispersiva Líquido Líquido.

EDL (Electrodeless Discharge Lamp): Lámpara de Descarga sin Electrodo.

ELC: Extended Life Cuvettes.

ETAAS (Electrothermal Absorption Atomic Spectrometry): Espectrometría de Absorción Atómica Electrotérmica.

EX: Etixantato.

FAAS (Flame Absorption Atomic Spectrometry): Espectrometría de Absorción Atómica de Llama.

FE: Factor de Enriquecimiento.

FIA (Flow Injection Analysis): Análisis por Inyección en Flujo.

FTIR (Fourier Transform Infrared): Espectrometría Infrarroja de Transformada de Fourier.

HLLME-FA (Homogeneous Liquid-Liquid Microextraction Via Flotation Assistance): Microextracción Homogénea Líquido Líquido Asistida por Flotación.

[Hmim][Tf2N]: 1-hexil-3-metilimidazolio bis (trifluormetilsulfonil) imida.

HPLC (High Resolution Liquid Chromatography): Cromatografía Líquida de Alta Resolución.

HySS: Hyperquad Simulation and Speciation.

ICP (Inductively Coupled Plasma): Plasma de Acoplamiento Inductivo.

ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry): Espectrometría de Emisión Mediante Plasma de Acoplamiento Inductivo.

ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry): Espectrometría de Masa con Fuente de Plasma.

IL-DLLME (Ionic Liquid – Dispersive Liquid Liquid Microextraction): Microextracción Dispersiva Líquido Líquido con Líquido Iónico.

IR (Infrared): Espectrometría Infrarroja.

ISO (International Standardization Organisation): Organización Internacional de Estandarización.

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry): Unión Internacional de Química Pura y Aplicada.

LLE (Liquid Liquid Extraction): Extracción Líquido Líquido.

LOC: Lab on a Chip.

LOD (Limit of Detection): Límite de Detección.

LOQ (Limit of Quantification): Límite de Cuantificación.

LOV: Lab on Valve.

MCFA (Multicommutated Flow Analysis): Análisis en Flujo Multiconmutado.

MIBK: Metilisobutil cetona.

Moco: Cofactor de Mo.

NAD⁺: Nicotinamida Adenina Dinucleótido.

NET: Negro de Eriocromo T.

PEX: Etilxantato de potasio.

PFO⁻: Ion perfluorooctanoato.

RMN: Resonancia Magnética Nuclear.

RBPG: Rojo bromopirogalol.

RPG: Rojo pirogalol.

SDDTC: Dietilditiocarbamato de sodio.

SDME (Single Drop Microextraction): Microextracción por Gota Simple.

SFODME (Solidified floating organic drop microextraction): Microextracción por Gota Orgánica Solidificada.

SIA (Sequeuencial Injection Analysis): Análisis por Inyección Secuencial.

SIT (Specific Interaction Theory): Teoría de Interacción Específica.

SP (Spectrometry): Espectrometría.

SPE (Solid Phase Extraction): Extracción en Fase Sólida.

TTC: Cloruro de trifenil tetrazolio.

Tyr-CNTs: L-tirosina inmovilizada en nanotubos de carbono.

VPB: Victoria Pure Blue.

4-HC: 4-hidroxycumarina.

8-HQ: 8-hidroxiquinolina.

μ-TAS: Micro Total Analytical Systems.

RESUMEN

La concentración y las formas químicas de los elementos en el ambiente están en continuo cambio y las aguas naturales son el principal agente de movilización y transporte. Los cambios generados por las actividades humanas son más bruscos que los provocados por los ciclos naturales y en el caso de los elementos traza, su baja abundancia los hace especialmente sensibles a estas variaciones. En las aguas naturales del Uruguay en el correr de los años se ha dado un aumento de la concentración de elementos traza debido a factores antropogénicos. Para realizar un análisis completo del comportamiento de los elementos, a los efectos de su gestión, debe sumarse al monitoreo de las concentraciones totales, el conocimiento de las especies químicas predominantes del o los elementos de interés en las condiciones fisicoquímicas de la matriz en estudio. Por ello, no alcanza con conocer los valores de las concentraciones totales de estos elementos en cada muestra, sino también qué especies forman y con qué elementos o compuestos interaccionan para determinar su movilidad, en la medida que ambos factores son decisivos para determinar su biodisponibilidad y para detectar en forma temprana situaciones de desbalance, y aplicar técnicas de gestión apropiadas.

Entre los elementos traza se seleccionó al Mo como elemento de estudio para esta tesis. Es de relevancia biológica y ambiental y su movilidad en la corteza terrestre depende en gran parte del ciclo hidrológico. Forma parte de diversos procesos bioquímicos, pero también es potencialmente tóxico. En las aguas superficiales y subterráneas poco profundas forma predominantemente aniones que podrían interaccionar con los cationes más abundantes. Estas reacciones de Mo han sido poco estudiadas en las condiciones de las aguas naturales.

Este elemento se encuentra en niveles muy bajos de concentración, por lo que se requiere para su determinación analítica de una técnica muy sensible como ICP-MS. Al no estar fácilmente disponible en nuestro medio, el presente trabajo representó un desafío analítico importante que involucró el desarrollo de una metodología con preconcentración para la determinación de la concentración de Mo en muestras de aguas naturales por espectrometría de absorción atómica electrotrémica (ETAAS). Luego de evaluar las diferentes técnicas de preconcentración se optó por la microextracción dispersiva líquido líquido (DLLME). Se desarrolló y validó una metodología de determinación de Mo en agua con preconcentración por DLLME utilizando etilxantato (EX) como ligando para Mo, tetracloruro de carbono como solvente de extracción, acetonitrilo como solvente dispersivo y detección mediante ETAAS. Esta metodología demostró ser muy sensible, rápida, sencilla y amigable con el ambiente al usar volúmenes muy reducidos de solventes. Fue aplicada con éxito en el análisis de diferentes muestras de aguas naturales de diferentes regiones del país, permitiendo

realizar un relevamiento del contenido de este elemento así como también establecer las regiones en las que es posible encontrarlo.

Para realizar el análisis de especiación del elemento de interés en las condiciones de las aguas naturales se realizaron las medidas de todas las constantes de equilibrio que determinan la formación de las especies en solución: equilibrios de protonación de los aniones, equilibrios de asociación con cationes y equilibrios de hidrólisis de los cationes si corresponde. Las medidas de las constantes fueron realizadas por medio de titulaciones potenciométricas en condiciones experimentales simuladas de las aguas naturales (20 °C y baja fuerza iónica). Asimismo se realizó el estudio de la variación de las constantes de protonación con la concentración de fuerza iónica según la teoría de interacción específica (SIT), mostrando que existe dependencia de los valores de las constantes de equilibrio con la concentración de la fuerza iónica del medio.

Fueron identificados los sistemas y las condiciones en las que se detecta la formación de especies poco solubles (Cu y Cd principalmente) y se realizaron estudios de solubilidad de los molibdatos. Se sintetizaron y caracterizaron dichos sólidos, se determinaron los valores de las constantes de producto de solubilidad (K_s) y se demostró la validez del modelo químico establecido para los sistemas Mo(VI)-Cd y Mo(VI)-Cu que permite predecir la formación de fases sólidas.

También se realizó un estudio comparativo de la química en solución acuosa de Mo con otros elementos formadores de aniones como W, As, Se y S.

Los resultados de las muestras analizadas por la metodología desarrollada y los datos termodinámicos obtenidos fueron utilizados para evaluar la distribución de especies de Mo en los diferentes sistemas acuáticos de nuestro país. Se realizaron medidas de dureza de todas las muestras con el objetivo de caracterizarlas desde el punto de vista de la fuerza iónica y para evaluar como influye este parámetro en la especiación de Mo.

A modo de reflexión final se desea destacar la importancia y el valor del trabajo interdisciplinario, que permitió integrar conocimientos de química analítica y de química en solución acuosa, para realizar el relevamiento del contenido de Mo en aguas de nuestro país así como también un estudio completo de la química de este elemento en las condiciones de las aguas naturales.

Palabras clave

Molibdeno, aguas naturales, preconcentración, especiación.

ABSTRACT

The concentration and chemical forms of the elements in the environment are constantly changing. Natural waters are their main way of mobilization and transport. The changes generated by human activities are usually more marked than those caused by natural cycles and in the case of trace elements, their low abundance makes them especially sensitive to these variations. In Uruguayan natural waters, an increase in the concentration of trace elements due to anthropogenic factors has been observed. In order to adequately manage elements environmental situation, a complete analysis of their behavior should be carried out. Apart from total concentration monitoring, the knowledge of the predominant chemical species of each element in the physicochemical conditions of the matrix under study is of the utmost importance. Therefore, the formed species as well as the interaction with other elements or compounds has to be investigated to determine the mobility, and thus the bioavailability, of each element. This information is essential to early detect imbalance situations in order to apply appropriate management techniques.

Among the trace elements, Mo was selected due to its biological and environmental relevance. It is part of several biochemical processes, but it is also potentially toxic. Besides, its mobility in the earth's crust depends to a great extent on the hydrological cycle. In shallow surface and groundwaters, it predominantly forms anions that could interact with the most abundant cations, but these equilibria had not been studied so far.

This element is present in very low levels of concentration. So, a very sensitive technique such as ICP-MS is required for its analytical determination. Determining Mo in the very low concentration found in natural water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS) represents a huge analytical challenge that involves the development of a preconcentration method. After evaluating the possible preconcentration techniques, dispersive liquid liquid microextraction (DLLME) was chosen. A method for the determination of Mo with preconcentration by DLLME using ethylxanthate (EX) as ligand, carbon tetrachloride as extraction solvent, acetonitrile as dispersant solvent and detection by ETAAS was developed and validated. This methodology proved to be very sensitive, fast, simple and environmentally friendly since it uses very small volumes of solvents. It was successfully applied to the analysis of different samples of natural waters from different regions of the country, allowing a survey of the content of Mo as well as establishing the regions in which it is normally found.

In order to perform the speciation analysis of the element of interest in the conditions of the natural waters, all the equilibrium constants that determine the formation of the

species in solution were measured: anion protonation equilibria, association equilibria with various metal cations and hydrolysis of the metal cations equilibria. The measurements of all equilibrium constants were performed by potentiometric titrations under simulated experimental conditions of natural waters (20 °C and low ionic strength). The study of the variation of the protonation of molybdate as well as the interaction with Ca(II) at different ionic strength values was also carried out. The Specific Interaction Theory (SIT) was used to fit the dependence of the equilibrium constants values with the concentration of supporting electrolyte.

Hardness measurements of all samples were carried out as an indicator of ionic strength value with the aim of evaluating how this parameter influences Mo speciation.

Some chemical systems in which the formation of insoluble species (Cu and Cd mainly) was observed, were studied in more detail. Solubility studies of Cu and Cd molybdates were carried out. The solids were synthesized and characterized, and the solubility product constants (K_s) values were measured. This allowed the generation of a complete chemical model for Mo (VI)-Cd and Mo (VI)-Cu systems that can precisely predict the formation of solid phases.

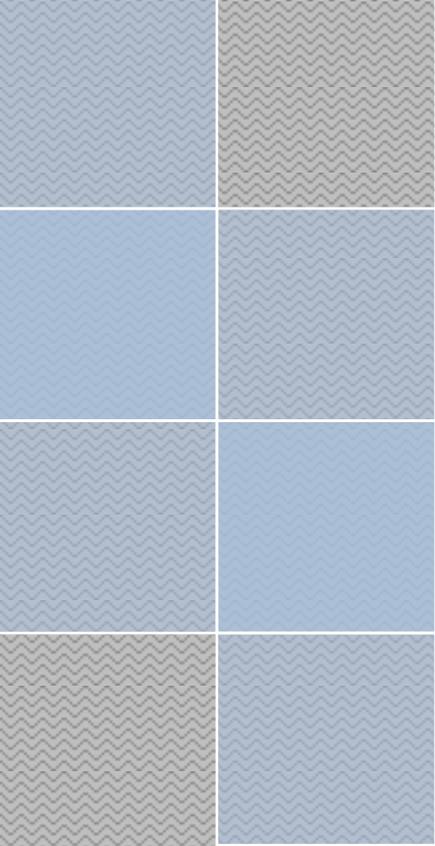
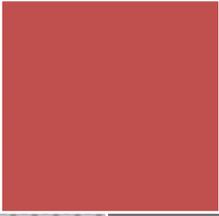
A comparative study of the aqueous solution chemistry of Mo with other elements that also form predominantly anions such as W, As, Se and S was carried out.

The results of the analytical determination of Mo by the validated method together with the thermodynamic data obtained were used to evaluate the distribution of Mo species in the different aquatic systems of our country.

As a final reflection, it is worth emphasizing the importance and value of interdisciplinary work. By integrating aqueous solution inorganic and analytical chemistry, a successful complete study of the Mo content and behavior was carried out in natural waters.

Keywords

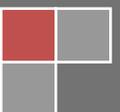
Molybdenum, natural water, preconcentration, speciation.



Capítulo 1

Introducción general

En este capítulo se presenta el marco teórico general, así como también una justificación de la temática seleccionada en la presente tesis.



1.1 Elementos químicos en la biósfera

La biósfera es el ambiente natural en el que se desarrollan los organismos vivos, abarcando los diferentes ecosistemas: la parte inferior de la atmósfera, la geósfera y la hidrósfera.

La atmósfera es la capa de gases que cubre la superficie terrestre y tiene entre sus funciones ser reservorio de gases, moderar la temperatura, proteger del daño de la radiación solar ultravioleta y también funcionar como vía para el movimiento del vapor de agua en el ciclo hidrológico. La geósfera es el suelo que soporta la vida en la Tierra. La parte que está directamente relacionada con el ambiente a partir de procesos de intercambio con la atmósfera, la hidrósfera y los seres vivos es la corteza terrestre. La hidrósfera nuclea al agua de nuestro planeta. Algo más del 97 % del agua se encuentra en los océanos y la mayoría del agua dulce se encuentra retenida en los casquetes de hielo, por lo que solamente una parte muy pequeña se encuentra relacionada con los procesos terrestres, atmosféricos y biológicos [1].

Cada ecosistema se define como una unidad funcional del ambiente que presenta ciclos en los que participan elementos químicos, materia orgánica y energía. Entre los principales recursos que dispone el hombre, se encuentran los ecosistemas formados por el agua y el suelo, además de la vida animal y vegetal asociada. Los organismos, durante el curso de la evolución se han adaptado a la química de su ambiente y han desarrollado su bioquímica según la composición de su ambiente natural [2].

La abundancia, la dispersión y el estado químico natural de los elementos en la corteza terrestre son muy variables [3]. La situación de los elementos dependerá de los procesos de envejecimiento de la corteza terrestre debido a la acción natural de distintos agentes físicos y químicos, así como también de la presencia de los seres vivos en la biósfera.

Se estableció así para cada elemento un ciclo biogeoquímico propio en función de sus características químicas. El motor fundamental de este ciclo, y por lo tanto de los cambios consiguientes es la circulación de agua, a través del ciclo hidrológico [4].

Dicho ciclo, que se esquematiza en la **Figura 1.1**, está regulado por la radiación solar, en él se da la evaporación de las aguas superficiales (principalmente de los océanos por ser más abundante) y la evapotranspiración proveniente de la biósfera (plantas, animales). El vapor de agua va a la atmósfera y mediante las lluvias el agua vuelve a los ríos y océanos y filtra a través del suelo formando y recargando las corrientes subterráneas.



Figura 1. 1 Ciclo hidrológico. (Extraída de <http://es.slideshare.net/18412437V/los-ciclos-del-agua-31632710>)

El agua es fundamental en el proceso de desgaste de la corteza por ser una sustancia químicamente activa y también actúa como transporte de otros agentes químicos importantes como CO_2 , O_2 , SO_2 y ácidos orgánicos [1]. El O_2 de la atmósfera proviene principalmente de la biósfera. Las aguas naturales que están en contacto con la atmósfera tienen oxígeno disuelto que actúa como el principal agente oxidante. La solubilidad en agua del oxígeno disminuye al aumentar la temperatura. La presencia del oxígeno define las características redox del agua y según éstas puede cambiar la situación de los elementos disueltos en ella.

En la **Figura 1.2** se ilustra a modo de ejemplo la influencia del oxígeno disuelto en la situación del Fe en aguas naturales de profundidad variable como lagos profundos. La zona más cercana a la superficie es oxidante debido a la presencia de oxígeno disuelto, a medida que aumenta la profundidad disminuye la cantidad de oxígeno y las condiciones son cada vez más reductoras. En la zona oxidante el hierro tiende a encontrarse como Fe(III) , a su vez éste precipita como Fe(OH)_3 y sedimenta. A medida que va llegando al fondo, donde las condiciones son reductoras, se da la reducción a Fe(II) . Éste último puede formar el hidróxido, complejos solubles con ligandos disponibles o asociarse a

azufre. En particular los sulfuros de hierro difunden hacia la superficie donde se vuelve a dar la oxidación a Fe(III) [1].

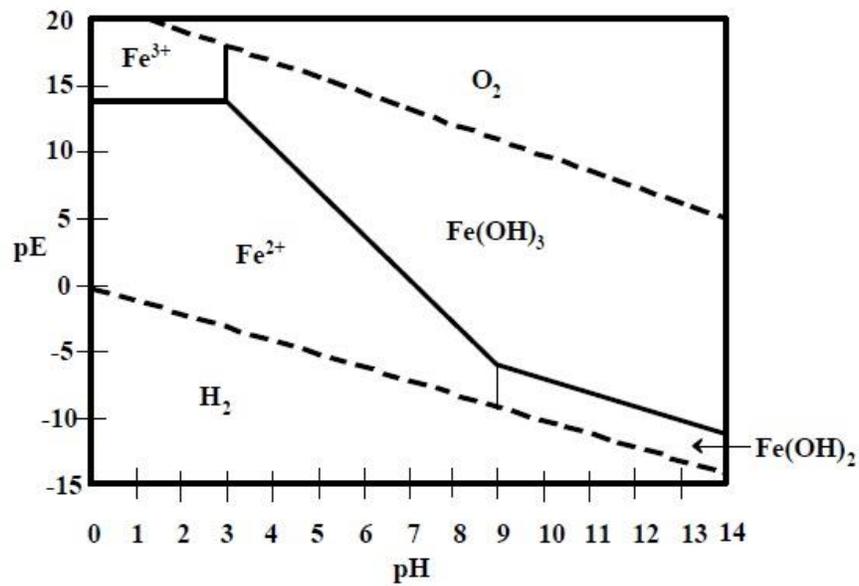
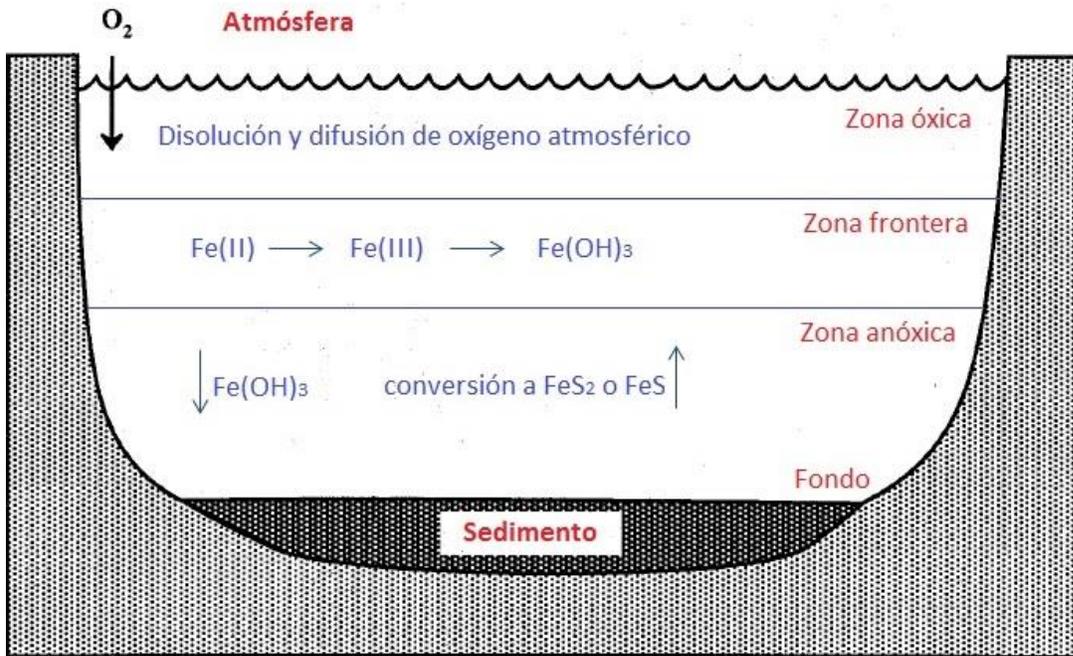


Figura 1. 2 Fe en aguas naturales. (Figura adaptada de [1])

El CO_2 naturalmente se origina por las emisiones volcánicas y la actividad biológica de la biósfera. Es soluble y por lo tanto se encuentra presente en el agua de lluvia y en el agua de evaporación. También se produce debido a actividades antropogénicas como la quema de combustibles fósiles y de biomasa, deforestación, entre otras. El CO_2 disuelto interviene en equilibrios ácido base de gran importancia en el establecimiento del pH de las aguas naturales, formando las especies H_2CO_3 , HCO_3^- y CO_3^{2-} . El pH de las aguas naturales se encuentra entre 4 y 9, donde los valores más bajos suelen darse en aguas que están en contacto con suelos con alto contenido de CO_2 proveniente fundamentalmente de la descomposición aeróbica de materia orgánica y presencia de ácidos húmicos, y los más altos por presencia de carbonatos minerales poco solubles (por ejemplo CaCO_3). El pH del agua es un parámetro de gran influencia en las reacciones químicas que se producen en los procesos de desgaste de la corteza terrestre [1].

En este ciclo biogeoquímico, la concentración y especies químicas presentes en las aguas naturales (subterráneas o superficiales) de un ecosistema definido tienen para cada elemento valores que varían para cada escenario natural individual. Estos son dependientes en primera instancia (en ausencia de fuentes antropogénicas) de las características fisicoquímicas del agua, la abundancia y la movilidad del elemento en la misma, y de sus interacciones químicas con los otros elementos o sus compuestos (precipitación-disolución, oxidación-reducción, complejación-disociación, etc.). La concentración de cada elemento en las aguas del ecosistema definido, resulta de un balance entre lo que ingresa y lo que egresa del sistema. En un sistema natural, en ausencia de contaminación, se produce una lenta acumulación de elementos, tanto en aguas superficiales como subterráneas [5].

Las actividades humanas en el ecosistema influyen sobre la situación de cada elemento, alterando su balance. El impacto surge fundamentalmente de la aparición de poblaciones urbanas y actividades productivas industriales o agropecuarias, como fuentes puntuales o difusas de ingresos o egresos de elementos. Comparados con los procesos naturales, las fuentes antropogénicas de elementos producen cambios rápidos en los balances y por lo tanto en sus valores basales de concentración en las aguas. A esto, se agregan cambios en las especies químicas presentes, las que determinan la movilidad y biodisponibilidad del elemento. Ocasionalmente, las fuentes antropogénicas tienen como consecuencia el aumento de los egresos de un determinado elemento conduciendo a deficiencias, y en otros casos al crecimiento de los ingresos, resultando en contaminación. La situación descrita lleva a que se deban regular las concentraciones máximas de la mayoría de los elementos en las aguas naturales, según su tipo de uso. Están regulados en Uruguay los niveles del agua para consumo humano, la de riego y los vertidos industriales hacia las mismas [6, 7]. A nivel nacional, y esto es

extensible a la mayoría de los países de la región, los llamados elementos mayoritarios, son los mejor monitoreados y por lo tanto su gestión en referencia a problemas sanitarios, ambientales o productivos es posible, corrigiendo los desbalances por acciones de suplementación, remediación, tratamiento de aguas servidas o industriales.

1.2 Elementos traza en aguas naturales

Los elementos traza, son definidos arbitrariamente como aquellos de abundancia natural baja (concentraciones del orden de 1 mg kg^{-1} o menores) en las distintas matrices ambientales [2, 8]. Esto significa que los elementos traza no son considerados en el cálculo de los sólidos totales disueltos en ríos, lagos o aguas subterráneas porque sus masas combinadas no son significativas comparadas con la suma de los elementos mayoritarios Na, K, Ca y Mg. Por lo tanto, la mayoría de los elementos en las aguas naturales se encuentran en niveles de traza. Es importante considerar, que ser un elemento traza en aguas naturales no necesariamente significa que lo sea en la corteza terrestre. A modo de ejemplo, Fe, Al y Ti son elementos mayoritarios en rocas, pero son traza en agua debido a que presentan una baja movilidad desde la corteza terrestre. De modo inverso, elementos traza en rocas como Cl y C son elementos mayoritarios en agua [9].

La cuantificación y el conocimiento del comportamiento químico de estos elementos fueron posibles en las últimas tres o cuatro décadas a partir de los avances instrumentales que permitieron el desarrollo de técnicas analíticas más sensibles, como por ejemplo ICP-MS. Es por ello que el monitoreo y estudio de formas químicas de los elementos traza es mucho más reciente, y como consecuencia la posibilidad de gestionar sus desbalances se retrasó.

En la **Figura 1.3** se muestra un gráfico de los elementos traza según el orden de magnitud de concentración en agua de río [5]. Puede observarse que los elementos traza se presentan en un rango de 10 órdenes de magnitud de concentración, desde el Ra que se encuentra en valores extremadamente bajos (10 fg L^{-1}) hasta elementos como B, Fe, Al y Ba que pueden superar los $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

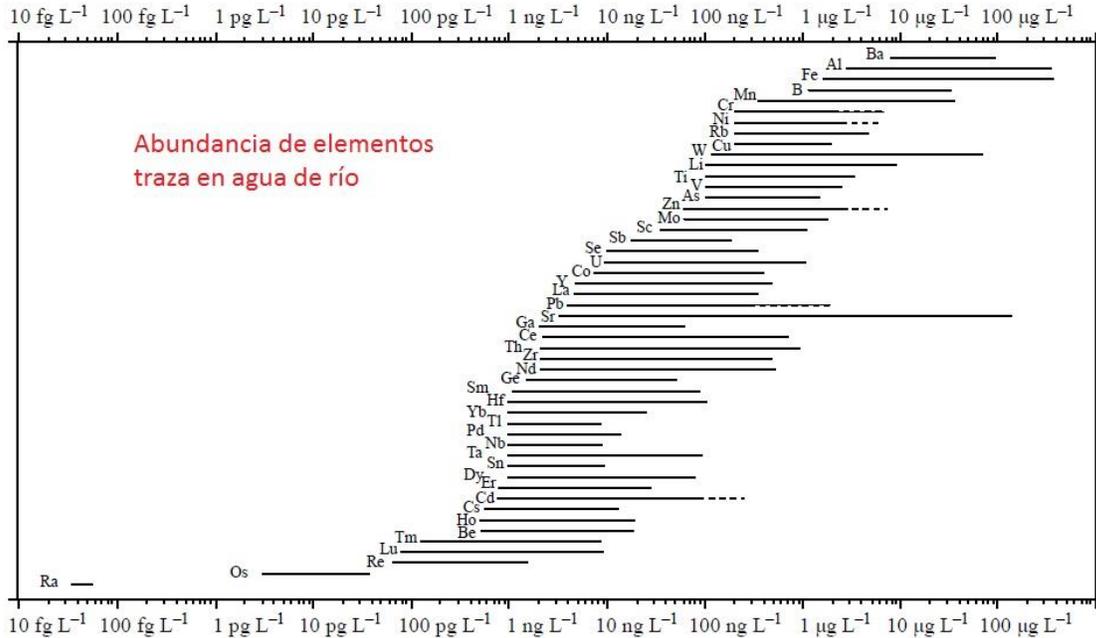


Figura 1. 3 Abundancia de elementos traza en agua de río [5].

La abundancia natural de los elementos traza en las aguas naturales, en particular en agua de río, depende de su abundancia en la corteza terrestre y de su movilidad durante los procesos de desgaste o erosión de la corteza. El transporte de los elementos se da bajo forma de sólidos disueltos y también asociados a material en suspensión. La movilidad de los elementos está relacionada con su potencial iónico, o sea con la relación carga/radio. Los elementos que forman sales solubles, por ejemplo los cationes alcalinos, son aquellos que forman cationes de menor carga. Los elementos que se presentan en altos estados de oxidación forman generalmente oxoaniones que son también muy solubles [10].

Con el fin de representar una tendencia global de movilidad de elementos traza, las concentraciones disueltas (C_w) se pueden analizar en forma relativa a las de la corteza terrestre (C_c) [5]. En la **Figura 1.4** se muestra la movilidad de todos los elementos (mayoritarios y traza) en relación al sodio. Puede apreciarse un incremento de la movilidad de los elementos de izquierda a derecha. Entre los elementos de mayor movilidad se encuentran los que forman cationes de baja carga como Na, Mg, Ca, Sr, los que forman aniones u oxoaniones solubles como Cl, C, S, Se, As, Sb, Mo, Re, entre otros. Es de destacar que esta clasificación puede variar, ya que según las condiciones del agua, suelo y la erosión la movilidad de los elementos puede cambiar.

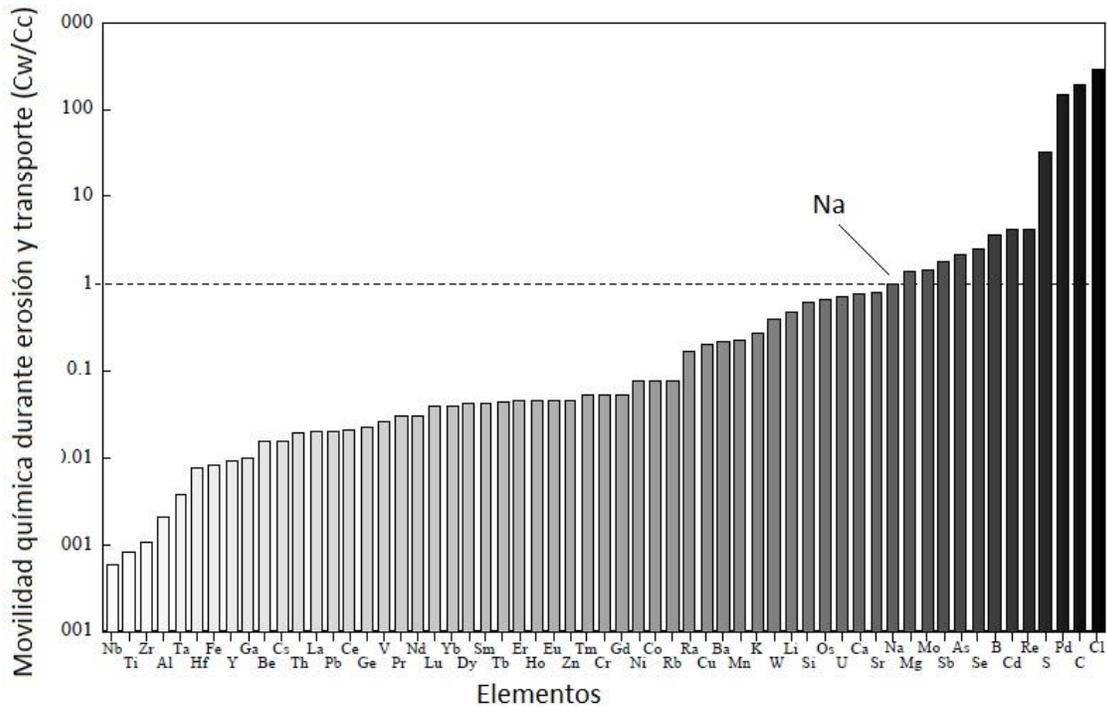


Figura 1. 4 Diagrama normalizado de concentración de elementos traza disueltos en agua de río a concentración en corteza terrestre [5].

Generalmente, las variaciones observadas en la concentración de los elementos traza no son independientes, y se ha reportado que existe correlación entre éstos y los elementos mayoritarios. Estas correlaciones llevan a aislar grupos de elementos que presentan comportamiento similar durante la erosión y transporte en las aguas. Se han realizado estudios en ríos de diferentes regiones del planeta y se han encontrado diversas correlaciones. A modo de ejemplo, en el río Amazonas se ha reportado que las concentraciones de V, Cu, As, Ba y U están correlacionadas positivamente con la concentración de los elementos mayoritarios y el pH [11].

En el caso del agua subterránea la movilidad depende fuertemente del tipo de suelo que la rodea. Los elementos presentes, así como también su especie, dependen de las formaciones rocosas y de la profundidad, considerando que las condiciones se hacen cada vez más reductoras al aumentar la profundidad [1].

En la **Figura 1.5** se muestran las diferentes vías de ingreso de los elementos a los cursos de agua.

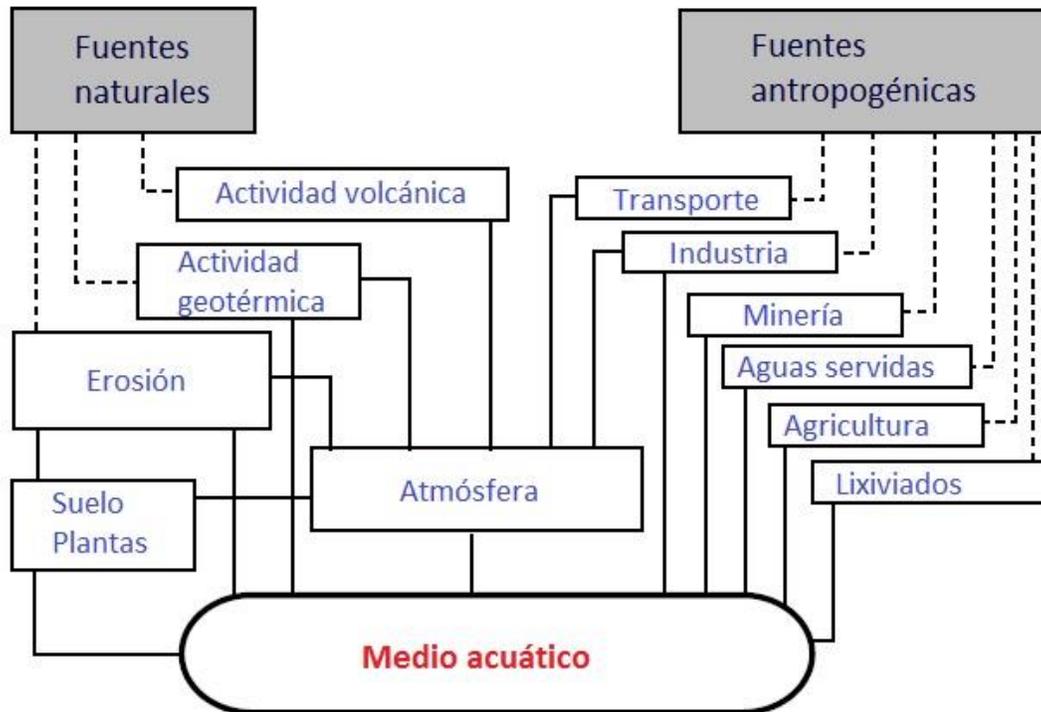


Figura 1. 5 Vías de ingreso de los elementos a las aguas naturales. (Figura adaptada de [1])

Los elementos traza se introducen en las corrientes de agua por erosión de la roca, deposición atmosférica seca y húmeda y por actividades antropogénicas. En los últimos cincuenta años, el ingreso de elementos traza al ambiente se disparó aceleradamente. La explotación mineral de elementos mayoritarios moviliza elementos traza presentes como impurezas que pueden quedar en el suelo y/o incorporarse a los cuerpos de agua generando contaminación. Además, la suplementación para corregir la deficiencia de ingesta de determinados elementos esenciales para el ganado (Cu, Se, Mo, Zn, Fe, etc) es una fuente difusa de ingreso. También lo es su utilización en los fertilizantes, como suplemento (Cu, Zn, Fe, Mn, B, Mo) o incluidos como impurezas (Cd, Pb). También ingresan a través de fungicidas, herbicidas y pesticidas. Por ejemplo, los preservantes de madera del tipo CCA, basados en proporciones variables de Cu, Cr y As. Los estudios de impacto de la contaminación por elementos traza requieren el conocimiento de las concentraciones y del comportamiento del elemento en el agua [12-14].

Una de las principales fuentes naturales de ingreso de elementos traza a las aguas naturales es la erosión o desgaste químico de las rocas. Como fenómeno químico, puede describirse como la tendencia al equilibrio del sistema formado por roca, agua y minerales. Esto ocurre a través de reacciones que involucran procesos de disolución y

precipitación, reacciones ácido base, de complejación y de hidrólisis [1]. El resultado es la liberación de los elementos más solubles mientras que las rocas que contienen mayormente silicatos, son enriquecidas en los elementos menos solubles. Es fundamental conocer el comportamiento de los elementos traza en los procesos geológicos, en particular durante el desgaste químico de las rocas y el transporte a través del agua. Los elementos traza son más afectados por los procesos de desgaste y transporte que los mayoritarios, y esa es la clave para entender la naturaleza e intensidad de estos procesos [5].

La situación de las aguas naturales en nuestro país no escapa a la situación mencionada anteriormente, y es por ello que se deben desarrollar métodos adecuados para el monitoreo de las concentraciones y la determinación de las especies químicas de estos elementos, para detectar en forma temprana situaciones de desbalance, y aplicar técnicas de gestión apropiadas que prevengan situaciones de riesgo para la salud humana o perjuicios a la producción agropecuaria.

1.3 Especies químicas y análisis de especiación

Los elementos traza cumplen funciones muy importantes en el funcionamiento de la vida en el planeta. Algunos de ellos pueden ser extremadamente tóxicos para varias formas de vida, mientras otros son considerados esenciales, pero pueden volverse tóxicos en altas concentraciones. Muchos de esos efectos dependen fuertemente de la forma en particular en la que se encuentre ese elemento en el sistema. Un caso que se puede mencionar es el del cromo, mientras que Cr(III) es esencial en mamíferos al estar relacionado con el metabolismo de lípidos y carbohidratos, Cr(VI) es carcinogénico. Otro ejemplo es el del arsénico, donde las especies inorgánicas de As son mucho más tóxicas que las orgánicas. Además, las especies inorgánicas de As(III) son más tóxicas que las de As(V) [13].

Según IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) se establecen las siguientes definiciones [15]:

- ✓ Especie química: forma específica de un elemento definida como composición isotópica, estado electrónico o de oxidación y / o estructura compleja o molecular.
- ✓ Análisis de especiación: actividades analíticas de identificación y / o medición de las cantidades de una o más especies químicas individuales en una muestra.
- ✓ Especiación: distribución de un elemento entre especies químicas definidas en un sistema.

Estrictamente hablando, un elemento presente en un sistema siempre se encuentra formando diferentes especies. En la práctica, sin embargo, la comprensión del sistema en estudio dependerá de si se pueden determinar las especies existentes y si pueden

separarse o no para la determinación analítica. La metodología analítica y las consideraciones prácticas determinan si el análisis de especiación de un sistema proporciona un perfil de especies suficientemente diferentes y medibles en forma independiente para el nivel deseado de comprensión del comportamiento del sistema. Este tipo de análisis es muy importante en áreas como la química ambiental, geoquímica, bioquímica y toxicología.

Si se consideran los elementos traza, las diferentes especies que éstos pueden formar en las aguas naturales afectarán propiedades importantes como su movilidad, solubilidad y biodisponibilidad. La especiación química de elementos en aguas naturales juega un papel fundamental en sus ciclos biogeoquímicos. El transporte por el ciclo hidrológico está fuertemente influenciado por su comportamiento químico en solución acuosa, y la movilidad de sus especies iónicas termodinámicamente estables es un factor determinante del destino ambiental del elemento.

Las reacciones de asociación con ligandos orgánicos o inorgánicos (oxoaniones metálicos por ejemplo) producen especies con estabilidades variadas. La distribución de las especies en un sistema que contenga por ejemplo un catión metálico y un ligando dependerá de factores como concentraciones, relaciones molares, temperatura, pH y fuerza iónica. La determinación analítica de especies que coexisten en equilibrio en un sistema es muy difícil, ya que la mayor parte de los métodos implican el desplazamiento rápido de las situaciones de equilibrio durante la medida. La labilidad de las diferentes asociaciones varía dentro de límites muy amplios, desde especies que se forman y se disocian rápidamente, hasta sistemas de intercambio lento, o especies que, para la mayoría de los propósitos analíticos prácticos, pueden ser considerados inertes [15]. En este último escenario, la determinación analítica de diferentes especies que coexisten en solución es posible. Sin embargo, la mayor parte de las asociaciones y disociaciones ácido base y de formación de complejos son muy rápidas por lo que la especiación analítica no es posible.

Una alternativa muy útil para la visualización de las especies de un determinado sistema son los diagramas de distribución de especies, donde la especiación surge del conocimiento completo del sistema desde el punto de vista termodinámico. Estos consisten en representaciones gráficas de la fracción o porcentaje del elemento en función del pH. Para su construcción es necesario conocer las constantes de todos los equilibrios involucrados (hidrólisis, protonación, asociación) y las concentraciones totales de los elementos correspondientes [16].

1.4 Constantes de equilibrio: definición y determinación

La constante de equilibrio (**Figura 1.6**) se define como el cociente del producto de las actividades de los productos de la reacción entre el de actividades de los reactivos elevados a una potencia igual a los coeficientes estequiométricos correspondientes [16].

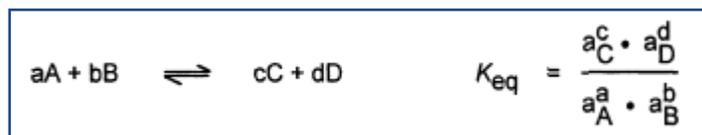


Figura 1. 6 Definición de constante de equilibrio de una reacción [16].

Estrictamente, la actividad de una especie A, a_A , se define como el producto de su concentración molal m_A (mol Kg^{-1}) y el coeficiente de actividad γ_A : $a_A = m_A \gamma_A$. En los análisis de equilibrios en solución que se realizan extrapolando a dilución infinita, asumiendo que no hay diferencia significativa entre molaridad y molalidad, la constante de equilibrio puede expresarse considerando la actividad como $a_A = [A] \gamma_A$ con la concentración de A en mol L^{-1} [17].

En otras condiciones, es posible calcular el coeficiente de actividad γ a partir de la teoría de Debye-Hückel como

$$\log \gamma = \frac{-A z^2 \sqrt{I}}{1 + \alpha B \sqrt{I}}$$

donde A y B son constantes que dependen del disolvente y la temperatura, I es la fuerza iónica de la solución, z es la carga del ion y α el diámetro efectivo del ion hidratado [18].

A su vez I se determina como $I = \sum C_i z_i^2$, siendo C_i la concentración del ion y z la carga [18].

La actividad está definida por el producto de la concentración de la especie química y su coeficiente de actividad, y éste a su vez depende de la fuerza iónica, la temperatura y propiedades particulares del disolvente y la especie. Si la fuerza iónica y la temperatura se mantienen constantes, el coeficiente de actividad se mantiene constante y en consecuencia la constante de equilibrio podrá ser expresada en términos de concentración especificando siempre las condiciones de medida.

Para la elección del electrolito soporte para fijar la fuerza iónica hay que considerar que éste no interfiera apreciablemente con la reacción en estudio. Como electrolito soporte pueden usarse sales de tetraalquilamonio, NaCl, KNO_3 , entre otros [19]. Hay que tener en cuenta que el electrolito elegido debe estar en un franco exceso respecto a las especies que intervienen en el equilibrio en estudio para asegurar que los coeficientes

de actividad de las especies involucradas permanezcan relativamente constantes durante la medida.

Existe una gran variedad de técnicas experimentales para medida de las constantes de equilibrio. En general, cualquiera de ellas puede ser utilizada, siempre y cuando pueda medir la concentración de al menos una de las especies en equilibrio. Las concentraciones de las otras especies pueden ser determinadas utilizando los balances de masa según las reacciones que ocurran. Entre las técnicas estándar se encuentran la potenciometría (H^+ o electrodo selectivo de iones), espectrofotometría, intercambio iónico, RMN, polarografía, entre otras. También hay otros métodos basados en la competición por el metal o por el ligando [16].

La técnica más utilizada es la potenciometría, que es la medida en el cambio del potencial eléctrico entre un electrodo de referencia y un electrodo de trabajo sensible a determinado ion presente en el sistema en estudio. La más común es la potenciometría de H^+ , en la que mediante un electrodo de pH se determina la concentración de equilibrio de H^+ . El uso de electrodos selectivos de iones es otra metodología potenciométrica para la determinación de constantes de equilibrio. Se ha usado, por ejemplo, el electrodo de mercurio para la determinación de la constante del complejo $Hg(II)$ -EDTA. En este caso, la concentración de Hg^{2+} se determina en presencia de un exceso conocido de ligando [16].

Las técnicas espectrofotométricas dependen del hecho de que cuando se forma una nueva especie (complejo o par iónico) la absorción de ésta difiera significativamente de la absorción de las especies de partida (catión metálico y ligando). En estos casos, es posible determinar la concentración de la nueva especie a partir de las medidas de absorbancia en la región UV-visible del espectro. Cuando solamente hay dos especies presentes, como en la ionización de un ácido monoprótico, la medida de la absorbancia a una determinada longitud de onda a varios valores de pH es suficiente para determinar la constante de equilibrio. Puede llegar a ser bastante complicado si hay más de una especie absorbente, como generalmente ocurre. También hay que considerar que si el catión metálico o el ligando (molécula orgánica, oxoanión metálico u otra base de Lewis) absorben a la longitud de onda seleccionada deben ser realizadas las correcciones correspondientes [16].

Cuando la estabilidad de la especie formada es muy alta y no es posible disociarla apreciablemente aún a valores de pH muy bajos, los métodos competitivos son una alternativa utilizada para determinar las constantes de estabilidad involucradas. Puede emplearse a dos ligandos compitiendo por el mismo catión metálico, o a dos cationes metálicos compitiendo por el mismo ligando. Los equilibrios establecidos son seguidos por potenciometría o espectrofotometría, entre otras técnicas [16].

Con el objetivo de desarrollar una sistematización en la determinación e información de las nuevas constantes de estabilidad, deben tenerse en cuenta los siguientes criterios [16]:

- ✓ Deben informarse claramente las reacciones químicas de todos los equilibrios involucrados, de forma de definir claramente las especies formadas y la expresión de las constantes.
- ✓ Es necesario indicar la pureza de los ligandos y especificar como se realizó la estandarización de la soluciones de cationes metálicos.
- ✓ Es importante informar la identidad y concentración del electrolito soporte y otros datos relevantes como rango de concentraciones del catión metálico y del ligando. En caso de utilizar un sistema de solventes mixtos, la composición del sistema debe ser proporcionada.
- ✓ Debe especificarse el rango de pH en el que se realizaron las medidas y el titulante utilizado.
- ✓ También hay que describir los equipos utilizados (pHmetro, electrodo, espectrofotómetro, etc) en los estudios experimentales y explicitar como se realizó la calibración.
- ✓ Es fundamental informar las condiciones de temperatura y rango de temperatura en las que se realizaron las medidas.
- ✓ También deben ser reportados el número de determinaciones experimentales realizadas en cada determinación y el número de réplicas que se llevaron a cabo.
- ✓ Hay que especificar el programa utilizado para el procesamiento de los datos experimentales y cálculo de las constantes de equilibrio.
- ✓ Debe proporcionarse información de las fuentes de error de la metodología, así como también desviación estándar de los resultados finales.
- ✓ Cualquier consideración realizada debe ser informada, incluso cualquier problema surgido durante la determinación de las constantes.

1.5 *Química analítica y agua*

El agua es una sustancia con propiedades únicas que la hacen muy importante en el ambiente y para los seres vivos. Juega un rol esencial en la vida humana así como también en las actividades desarrolladas. Es utilizada para abastecimiento personal e industrial, riego, generación de energía, transporte, recreación y como fuente de alimento, por lo que el interés y el estudio científico de la calidad del agua existe desde épocas remotas.

Por ejemplo, fue Hipócrates (460 – 377 AC) quien introdujo el concepto de aguas duras y blandas, y a lo largo de la historia se han encontrado diferentes citas que hacen referencia de una manera u otra a la calidad del agua. Durante la primera mitad del siglo XX las propiedades físicas y químicas de las aguas naturales se consideraban a menudo por separado y la calidad del agua era el dominio solamente del químico. La mayor parte de la razón de ser de los estudios de calidad del agua en ese tiempo fue fijar estándares de agua potable y para la agricultura. Más adelante en el tiempo, el estudio de los elementos traza en las aguas fue potenciado por el avance en las técnicas analíticas de detección como el surgimiento de la espectrometría de masas y el advenimiento de otras técnicas como la espectrometría atómica. Hoy en día los temas de estudio de calidad del agua abarcan principalmente los problemas de contaminación de los sistemas acuáticos por actividades agropecuarias como fuente difusa de contaminación, por residuos industriales y domésticos y por tratamiento de residuos [12].

El análisis de agua es un desafío importante desde el punto de vista analítico. La variedad de muestras es muy grande, considerando los distintos tipos de agua a analizar, por ejemplo aguas naturales o residuales. Respecto a las aguas naturales, las características son muy diferentes si se trata de agua dulce o agua de océano. A su vez, la variabilidad en las aguas residuales también es muy grande. Los volúmenes de muestra para los análisis también varían en un amplio rango según la metodología de análisis a utilizar. Es necesario tener conocimiento de la muestra y de los niveles de concentración del analito para definir la técnica de detección. A partir de ello se desarrolla y/o implementa una metodología de análisis que debe ser sensible y selectiva.

Como se mencionó anteriormente la química analítica ha jugado un papel clave en lo que tiene que ver con el desarrollo de técnicas sensibles para la detección de elementos traza en los diferentes sistemas acuáticos. Pero no solamente se ha restringido a los elementos traza, sino que también ha ayudado a identificar y determinar niveles de otro tipo de contaminantes importantes como plaguicidas, nutrientes (nitrato y fosfato), disruptores endócrinos, contaminantes emergentes, etc. En el caso de contaminantes

orgánicos, como los plaguicidas, en los que la variabilidad es muy grande, ha sido muy importante el desarrollo de métodos analíticos de screening [20-22].

El desarrollo de nuevos métodos analíticos ha sido, y sigue siendo, en gran parte impulsado por la necesidad de disminución de los límites de detección para conducir a una regulación más estricta en base a la toxicidad de los elementos o sustancias para el ambiente y el ser humano. Idealmente, los desarrollos presentes y futuros de la química analítica en el campo del análisis de las aguas naturales deberían situarse en el contexto de una reflexión más amplia sobre el agua como recurso necesario. El agua se considera a menudo un recurso renovable, pero esto no es del todo cierto. Las aguas subterráneas son un claro ejemplo de que el agua no es un recurso ilimitado en el sentido literal del término, ya que están sobre explotadas en todo el mundo y las tasas de recarga no son suficientes para rellenar los acuíferos [12]. Tampoco el agua es un recurso renovable en sentido amplio porque el término renovable significa la restauración de un recurso en su estado anterior y la contaminación actual del agua, vinculada a actividades antropogénicas (extracción de aguas subterráneas, pesca excesiva, contaminación, etc), resulta en un estado actual muy lejano al inicial.

Como tópico de interés actual de la química analítica puede mencionarse el desarrollo de nuevos métodos para análisis de elementos traza que sean económicos, rápidos, confiables y amigables con el ambiente. Esto es de importancia en países en vías de desarrollo, como el nuestro, que no siempre cuentan con los medios económicos necesarios para adquirir y mantener equipamiento analítico de última generación.

Como reflexión final, el análisis de elementos traza en aguas naturales no debería limitarse a desarrollar métodos de análisis de rutina con una investigación dedicada a la carrera hacia la reducción de los límites de detección. Por el contrario, el mantenimiento de las aguas como recurso necesario requiere esfuerzos significativos de investigación que se desplieguen en muchos aspectos, desde el desarrollo de nuevos métodos baratos, robustos y fáciles de usar hasta el progreso en campos clave como la especiación de elementos traza.

1.6 Selección de molibdeno

Elementos traza como plomo, cadmio, cobre, mercurio, cromo, níquel, cinc o arsénico acaparan desde hace mucho tiempo la atención de los estudios referidos a salud y ambiente. En los años más recientes, se han estudiado otros elementos, como por ejemplo, bismuto, molibdeno, paladio, platino, plata, selenio y cromo. Todos tienen en común la posibilidad de presentar efectos adversos para la salud o el ambiente. Esto es consecuencia de que además de ser tóxicos cuando sus concentraciones superan ciertos niveles, algunos de ellos son también elementos esenciales para los organismos, tanto

animales como vegetales. Por lo tanto, sus niveles de concentración en las distintas matrices ambientales deben mantenerse dentro un rango de valores, entre los máximos requeridos para evitar efectos perjudiciales y los mínimos requeridos por los distintos organismos [23-25]. Además, es importante conocer no solo las concentraciones de estos elementos en las aguas naturales, sino también las especies que forman y su movilidad, en la medida que estos factores son decisivos para determinar su biodisponibilidad.

Entre los elementos mencionados, aquellos que forman aniones como los metales Mo y W, y los no metales As y Se, han sido comparativamente menos estudiados que los que forman cationes. De los formadores de aniones, Se y As han sido más estudiados y actualmente se dispone de la metodología y los datos termodinámicos necesarios para determinar las especies químicas que forman en las aguas ambientales [26].

La importancia que tiene un elemento como molibdeno en el ambiente en general, y en las aguas naturales en particular, se ha traducido en los últimos años en su inclusión como parámetro a ser regulado, en los distintos reglamentos de aguas de países como Estados Unidos, Canadá, Japón y varios de la Unión Europea. Por otra parte, su carácter de elemento esencial ha determinado la necesidad de mantener niveles mínimos de concentración y biodisponibilidad en suelos utilizados en explotaciones agrícolas y ganaderas. Por supuesto que también en los reglamentos referidos al agua potable para consumo humano se establecen valores máximos permitidos para su concentración. En el Uruguay el control de la calidad de las aguas naturales está regulado por un Decreto del año 1979 (Nº 235/79 y sus modificaciones posteriores) [6], fijándose valores máximos totales para distintos elementos, variables según el tipo de uso de las aguas (riego, recreativo, bebida de ganado, etc.). Están regulados los elementos más tradicionales como plomo, cadmio, arsénico, entre otros, lo que es lógico para un reglamento que tiene más de treinta años. El hecho de que no esté regulado ha retrasado el estudio de la concentración y especiación del molibdeno en aguas naturales uruguayas. En el decreto 375/011, que incorpora a la Norma UNIT 833:2008 reimpresión 2010, el Mo fue incluido entre los parámetros con valor máximo requerido exigible para agua potable de consumo humano en Uruguay, con un límite de $0,07 \text{ mg L}^{-1}$ [7]. Sin duda será necesaria la inclusión de este elemento en futuras reglamentaciones generales de aguas naturales. Como consecuencia, es necesario disponer de mayor información sobre las características de distribución y especiación de molibdeno en las aguas naturales de Uruguay.

1.7 Molibdeno

1.7.1 Propiedades generales y usos

Este elemento es un metal que pertenece a la segunda serie de transición, de número atómico 42 y peso atómico 95,94. Pertenece al grupo 6, al igual que Cr y W, por lo que comparte algunas características químicas con ambos, siendo su comportamiento más similar al de W. La temperatura de fusión de molibdeno, 2623 °C, es una de las más altas entre los metales de transición. Se trata de un metal resistente al ataque de ácidos como HCl, H₂SO₄, H₃PO₄ y HF. En presencia de HNO₃ inicialmente se produce ataque, pero luego la superficie del metal se pasiva. El ataque puede producirse rápidamente por fusión alcalina utilizando la mezcla KNO₃-NaOH o Na₂O₂. Presenta una gran variedad de estados de oxidación, desde +2 a +6, lo que hace que su química sea compleja [10, 27].

Está presente en la corteza terrestre en una abundancia de aproximadamente 1 mg kg⁻¹ y se encuentra preferentemente como *molibdenita* (MoS₂), pero también bajo forma de molibdatos, por ejemplo, *wulfenita* (PbMoO₄) y *ferrimolibdita* ([Fe₂(MoO₄)₃]). En su mayor parte está en concentraciones de nivel de trazas, asociado con sulfuros de metales mayoritarios (Fe, Pb, Cu).

Las principales reservas mundiales de molibdeno se encuentran en China y Estados Unidos. Puede obtenerse como producto primario de las minas o como subproducto, principalmente en las minas de cobre. En la **Figura 1.7** se muestran los principales compuestos de Mo y las diferentes formas en que son obtenidos. El compuesto más conocido es MoO₃, que se obtiene a partir de la molibdenita. A partir del trióxido pueden obtenerse los distintos compuestos.

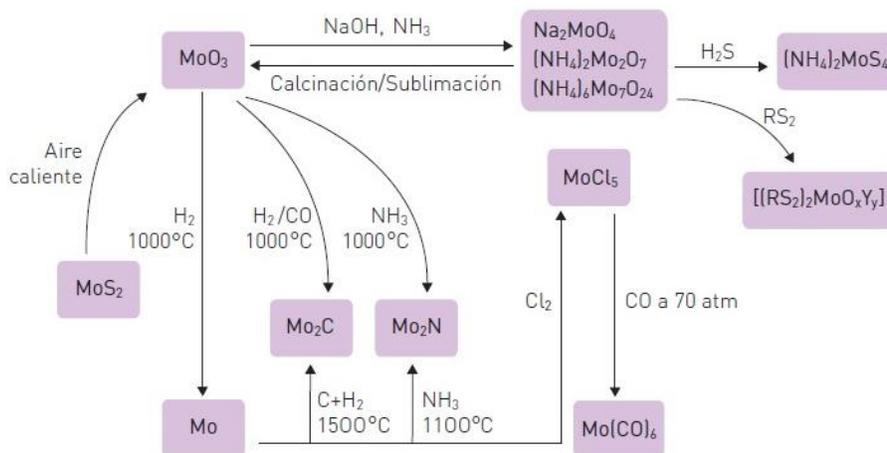


Figura 1. 7 Principales compuestos de molibdeno.

Una de las principales aplicaciones de este metal es la industria metalúrgica, para la producción de acero inoxidable y otras aleaciones, para mejorar las propiedades

anticorrosivas. Tiene aplicaciones en la construcción, en la industria automotriz, de herramientas y en aviación. También es muy utilizado en la industria química como catalizador o en la producción de pigmentos. La molibdenita es muy utilizada por sus propiedades lubricantes. Esta propiedad está relacionada con su estructura cristalina en capas, similar a la del grafito, donde entre las capas existen interacciones débiles del tipo Van der Waals que permiten el deslizamiento de una capa respecto a la otra [27].

1.7.2 Esencialidad y toxicidad

Aunque es un constituyente minoritario de la corteza terrestre, molibdeno es un elemento que está fácilmente disponible para los sistemas biológicos debido a la solubilidad de sus sales en agua. De hecho, es el metal de transición más abundante en agua de mar, por lo que no es sorprendente que se haya incorporado ampliamente en organismos vivos. La posibilidad de cambios entre los diferentes estados de oxidación es la base de su carácter esencial, formando parte de sitios activos de diversas enzimas que catalizan reacciones redox en microorganismos, plantas y animales. Una característica importante de las enzimas que contienen molibdeno es el cofactor de molibdeno (Moco) que es capaz de asociarse con diferentes apoenzimas para formar holoenzimas donde, dependiendo del tipo de apoenzimas, participa en el metabolismo de C, N y S. La excepción es la nitrogenasa bacteriana que tiene como cofactor FeMo, que no está relacionado con el cofactor de molibdeno. Ha sido reportado que en Moco, el molibdeno se encuentra complejado por una pterina con una cadena lateral de alquilo de cuatro carbonos que contiene un grupo ditioleno de coordinación para Mo(VI) y un éster de fosfato terminal, denominada molibdopterina (ver **Figura 1.8**) [13, 28].

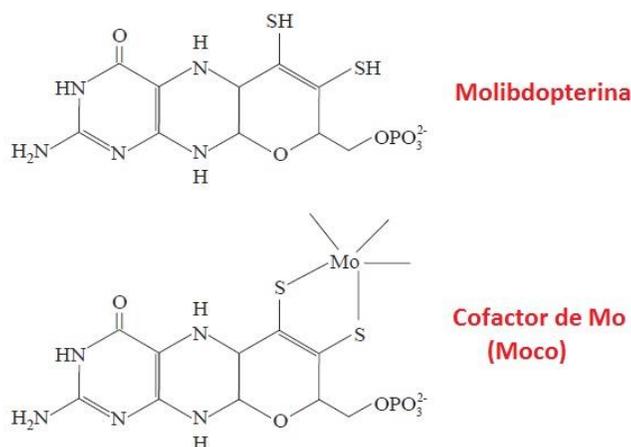


Figura 1. 8 Molibdopterina y cofactor de Mo. (Figura adaptada de [13]).

En las plantas, este elemento es fundamental en el metabolismo de nitrógeno, formando parte de diferentes enzimas. La nitrato reductasa tiene la función de reducir

el nitrato captado del suelo para que pueda ser asimilado para realizar la síntesis de proteínas. A su vez, el molibdeno es parte de la enzima bacteriana nitrogenasa, involucrada en la fijación de nitrógeno por parte de las raíces de las legumbres. También forma parte de la aldehído oxidasa involucrada en la síntesis de hormonas de crecimiento [29]. Uno de los síntomas característicos de la deficiencia de molibdeno es la coloración amarilla de las hojas, lo que está relacionado con la reducción de los niveles de ácido ascórbico. Por lo tanto, en vegetales este elemento además de ser parte fundamental del metabolismo de nitrógeno, está relacionado con la síntesis de ácido ascórbico que a su vez permite la captación de hierro por parte de la planta. Los cultivos más sensibles son brócoli, coliflor, lechuga y tomate, por lo que son utilizadas como indicadores de los niveles de molibdeno en el suelo [29].

En la **Figura 1.9** se muestra el efecto de la deficiencia de Mo en una planta de tomate. Se observa coloración amarilla, zonas necrosadas y bordes de las hojas curvados hacia arriba.



Figura 1.9 Efecto de la deficiencia de Mo en hojas de tomate. (Extraída de <http://blog.agrologica.es>)

En animales, este elemento es requerido por diferentes enzimas que son parte de las transformaciones de carbono, nitrógeno y azufre. Funciona como centro activo de tres enzimas que catalizan hidroxilaciones oxidativas. La enzima sulfito oxidasa participa en el último paso de la degradación de los aminoácidos que contienen azufre. Xantina dehidrogenasa y aldehído oxidasa transfieren electrones desde otros cofactores redox hasta citocromo c, oxígeno molecular o NAD^+ . El molibdeno parece ser absorbido en todos los niveles de ingesta por un proceso pasivo. Es transportado en la sangre por los eritrocitos unido a proteínas. Los niveles dependen directamente de la ingesta y se distribuye ampliamente en el cuerpo, con elevados niveles en hígado, riñón, glándula adrenal y huesos. En seres humanos se han reportado como síntomas de deficiencia de molibdeno: taquicardia, severos dolores de cabeza, náuseas, vómitos y ceguera nocturna. Cabe aclarar que todos los síntomas se revierten con un suplemento dietario.

Una ingesta adecuada y segura para la población adulta sería de 0,075 a 0,25 mg día⁻¹ y las principales fuentes son las legumbres y las nueces [13].

Aunque Mo es un elemento esencial, en altas concentraciones puede ser tóxico. En el ganado, Mo, Cu y S están relacionados en una enfermedad llamada molibdenosis en la que un exceso de Mo induce deficiencia de Cu causando desórdenes digestivos graves que afectan el crecimiento así como también desórdenes reproductivos y decoloración del pelo, entre otros síntomas. Esto se corrige fácilmente administrando un suplemento de cobre a los animales. Por lo general, la molibdenosis en el ganado está asociada al consumo de pasturas con alto contenido de Mo, lo que está relacionado directamente con los niveles y disponibilidad del elemento en el suelo. Se ha reportado que en Chile, el ganado que se encuentra cerca de las minas de Mo y de Cu sufre de molibdenosis severa. En estos casos no sólo se contamina el suelo, sino también las corrientes de agua, tanto superficiales como subterráneas. En la **Figura 1.10** se muestra la decoloración de la lana de una oveja debida al exceso de Mo.



Figura 1. 10 Decoloración de lana de una oveja debida a molibdenosis severa [13].

En seres humanos, la exposición a altas concentraciones de Mo produce un incremento en la sangre de la xantina oxidasa, incrementando los niveles de ácido úrico en sangre y orina, aumentando así la incidencia de enfermedades como la gota [27].

1.7.3 Formas químicas de molibdeno en ambiente

Los procesos naturales de envejecimiento de la corteza terrestre, provocan la movilización de Mo, transportándose mayoritariamente a través del ciclo hidrológico luego de oxidarse a Mo(VI). Además, hay factores antropogénicos que movilizan y transportan este elemento y producen crecimientos locales de las concentraciones en las diferentes matrices ambientales. Entre ellos, los principales son [13, 30]:

- ✓ utilización de combustibles fósiles
- ✓ suplementación con sales de molibdeno en la agricultura y en la ganadería (el molibdeno es micronutriente esencial para la mayoría de las plantas y animales)
- ✓ disposición de desechos urbanos, cuyo contenido de molibdeno ha crecido históricamente a partir de un mayor uso industrial del metal y sus compuestos (aleaciones, lubricantes, catalizadores, pigmentos)

Dado que se moviliza y transporta fundamentalmente por el ciclo hidrológico, su comportamiento en solución acuosa adquiere especial relevancia para el ambiente. En sus distintos estados de oxidación forma variadas especies químicas oxo/hidroxo y tiene fuerte tendencia a la formación de polímeros. Además, la especiación es fuertemente influida por el pH y la concentración total de molibdeno [2, 19, 31-34].

En ausencia de condiciones reductoras, +6 es el estado de oxidación termodinámicamente estable en solución acuosa, en todas las condiciones de pH y concentraciones de Mo que son características de las aguas naturales. La especie predominante es habitualmente el anión molibdato (MoO_4^{2-}) pero coexiste con otras, cuando el pH es menor de 6. Para valores de pH más ácidos el anión molibdato se protona para dar molibdato ácido (HMoO_4^-) y a valores de pH aún menores se forma la especie neutra ácido molíbdico (H_2MoO_4) [3, 33, 35, 36]. En el intervalo de pH entre 4 y 6 pueden presentarse especies de Mo(VI) tales como $\text{Mo}_7\text{O}_{24}^{6-}$, $\text{HMo}_7\text{O}_{24}^{5-}$, $\text{H}_2\text{Mo}_7\text{O}_{24}^{4-}$ ó $\text{Mo}_8\text{O}_{26}^{4-}$ dependiendo de la concentración de Mo [33-36].

Se han aislado las especies sólidas correspondientes a los aniones $\text{Mo}_7\text{O}_{24}^{6-}$ y $\text{Mo}_8\text{O}_{26}^{4-}$. Presentan estructuras formadas por condensación de octaedros MoO_6 , que comparten vértices o aristas (**Figura 1.11**).

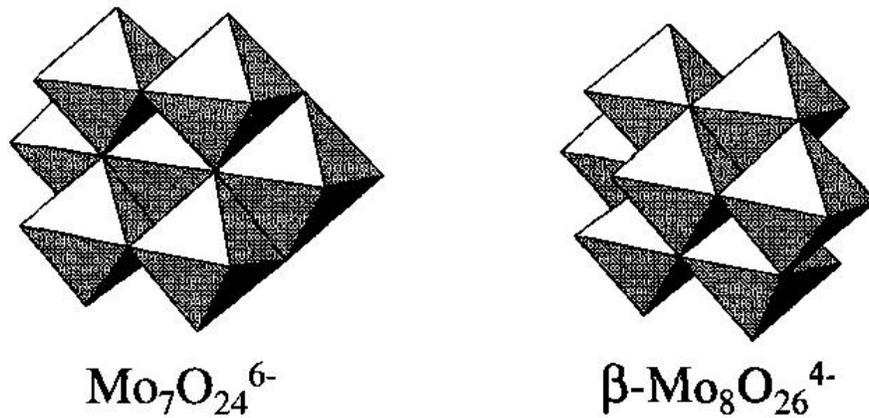


Figura 1. 11 Estructuras de aniones de Mo(VI) al estado sólido [10].

Como Mo(VI) es lábil, intercambia rápidamente sus oxígenos y las velocidades de polimerización son muy altas. Esto implica que el sistema se pone en equilibrio en forma casi inmediata al bajar el pH o al aumentar la concentración de Mo. Eventualmente, los ligandos oxo o hidroxilo pueden ser sustituidos por otros ligandos presentes en solución. La distribución de especies de Mo(VI) puede verse afectada por la interacción de molibdato con cationes metálicos que están presentes en el medio acuático. Para cationes +2 se han reportado algunos trabajos de estudio de solubilidad [19], y un estudio de la interacción del anión molibdato con calcio [37]. Para el caso de cationes +3, han sido reportadas asociaciones de ion molibdato con Fe, Al, Cr y Ga [19].

Para poder estudiar y describir el transporte, movilidad y biodisponibilidad del elemento en las aguas naturales hay que tener en cuenta los datos termodinámicos de todas estas posibles interacciones, que a su vez dependen del pH y las concentraciones totales de Mo y los cationes metálicos. Los reportes acerca de la química en solución acuosa de molibdeno son escasos y además se realizaron en condiciones experimentales no siempre aplicables al agua natural [19]. Por lo tanto se hace necesario determinar todos los parámetros termodinámicos que regulan la especiación de molibdeno en condiciones adecuadas para estudiar las muestras ambientales.

El molibdeno puede presentarse en aguas naturales en formas solubles así como adsorbido por materia orgánica. En suelo, la especie soluble en agua disponible es molibdato (MoO_4^{2-}), que predomina fundamentalmente en medio básico (a niveles de pH mayores a 4,5). A valores de pH menores se da la protonación de molibdato. El pH de la mayoría de los suelos está por encima de 5, por lo que el elemento disponible está bajo forma de molibdato. Las formas disueltas de Mo en suelos alcalinos comprenden fundamentalmente a los molibdatos de calcio y magnesio [27]. La biodisponibilidad se puede ver dificultada por la interacción del anión molibdato con cationes como hierro, con el que forma precipitados insolubles ($\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$). En suelos relativamente

ácidos, aún cuando tengan concentraciones promedio de molibdeno, su biodisponibilidad disminuye marcadamente, y esto afecta la capacidad de los vegetales de absorberlo [27]. Además del perjuicio al crecimiento de los mismos, se produce una deficiencia de molibdeno también en el ganado que dependa de ellos como pastura. Por ello es necesario eventualmente tomar acciones correctivas. Una de ellas es remediar el suelo con carbonato de calcio, para alcalinizarlo y aumentar la concentración de molibdato disponible. O simplemente agregar molibdatos solubles, aditivando los fertilizantes usados.

1.7.4 Relación de molibdeno con otros elementos traza

A diferencia de muchos metales, las principales formas químicas de molibdeno en solución acuosa son aniónicas, tal como sucede con arsénico, tungsteno, azufre o selenio [3, 10, 13]. Esto le da características químicas que hacen interesante estudiar el posible destino similar de estos elementos a través del ciclo hidrológico. Además, al formar aniones podrían interactuar con los mismos cationes compitiendo entre sí.

Estos elementos tienen desde el punto de vista ambiental ciertas características comunes como estados de oxidación variables, carácter predominantemente aniónico, movilidad y biodisponibilidad, impacto, que se ven frecuentemente asociados en los estudios de aguas naturales ya reportados [38-40].

1.8 Determinación de la concentración de molibdeno

Los niveles de concentración de Mo en aguas naturales se encuentran entre 0,03 y 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, reportándose los mayores valores en aguas oceánicas (entre 4 y 10 $\mu\text{g L}^{-1}$) [3]. La determinación de la concentración total de molibdeno a estos niveles exige el uso de técnicas analíticas muy sensibles que sean capaces de proporcionar bajos límites de detección, o la asociación de metodologías de preconcentración o separación con técnicas analíticas menos sensibles.

Las técnicas espectrométricas son ampliamente utilizadas para la determinación de Mo en diversos tipos de muestras. En este sentido se ha reportado el uso de la espectrometría de absorción molecular UV-visible, así como también la utilización de técnicas de espectrometría atómica tanto óptica como de masa. Éstas últimas resultan ideales porque proveen además de la sensibilidad una remarcable selectividad. Se ha reportado el uso de espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS) y electrotérmica (ETAAS) [41], espectrometría de emisión mediante plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) [42] y la espectrometría de masa con fuente de plasma (ICP-MS) [43].

Las técnicas electroquímicas como la voltamperometría también son utilizadas para el análisis de Mo en diferentes matrices. Se basa en la medida de la corriente que circula por la celda electroquímica bajo la aplicación de una señal de excitación que es un potencial variable con el tiempo. Generalmente se trabaja con microelectrodos que tienen áreas superficiales como máximo de unos pocos milímetros cuadrados o incluso menos. Esta señal de excitación provoca una respuesta de intensidad de corriente característica en la que se basa el método. Este tipo de técnica es relativamente económica y de elevada sensibilidad y selectividad [44].

El análisis de activación por neutrones (AAN) también ha sido utilizado para la determinación de la concentración de Mo. Es una técnica analítica muy sensible y se basa en bombardear una muestra con neutrones obteniéndose un isótopo radiactivo del elemento de interés. Los rayos gamma emitidos por el isótopo radiactivo son analizados. La energía asociada con la radiación es característica del isótopo radiactivo, y esto se usa para la identificación del elemento y el número de rayos gamma emitidos se correlaciona con el número de átomos presentes en la muestra [44].

1.8.1 Espectrometría de absorción molecular UV-visible

Los métodos espectrofotométricos son muy utilizados debido a su simplicidad y costo instrumental accesible con una sensibilidad razonable. Se ha informado del uso de diversos reactivos que dan lugar a diferentes complejos coloreados (**Tabla 1.1**). El método convencional es el que utiliza SCN^- para formar una especie de color naranja en medio ácido y en presencia de agentes reductores. En esta reacción Mo(VI) es reducido a Mo(V) y forma con tiocianato un heteropoliácido coloreado con un máximo de absorción entre 460-470 nm [45].

La sensibilidad de este tipo de metodología puede aumentarse mediante la extracción del complejo formado en un solvente orgánico (considerando complejos neutros) o sin extracción mediante la utilización de sistemas que incorporan tensoactivos para desarrollar la reacción en un medio micelar [45, 46]. Por ejemplo, para la determinación de Mo con SCN^- y Rodamina G utilizando Tritón X-100 como tensoactivo, el límite de detección es de $12 \mu\text{g L}^{-1}$ [45].

Reactivos	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	Rango lineal (mg L ⁻¹)	Referencia
SCN ⁻ + Rodamina G+ Tritón X-100	570	1,1 x 10 ⁵	0,09 – 10,5	[45]
C18mimBr + RPG	612	---	1,9 x 10 ³ – 479,8 x 10 ³	[46]
SCN ⁻ + SnCl ₂	462	2,0 x 10 ⁴	0,09 – 7,2	[47]
Rojo Alizarina	500	2,1 x 10 ⁴	0,05 – 5,5	[48]
TTC	250	1,0 x 10 ⁶	0,5 – 10	[49]

Tabla 1. 1 Reactivos para la determinación espectrofotométrica de Mo(VI). C18mimBr: bromuro de 1-metil-3-octadecil-imidazolio; RPG: rojo pirogalol; TTC: cloruro de trifeniltetrazolio.

Los métodos cinéticos que utilizan la propiedad de Mo(VI) de catalizar reacciones redox son simples y rápidos y las reacciones pueden seguirse mediante medidas espectrofotométricas. Por ejemplo, puede citarse el efecto catalítico de Mo(VI) en la oxidación con peróxido de hidrógeno del rojo pirogalol [50], del ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfónico (ANSA) [51], del ácido 4-amino-3-hidroxi-naftaleno sulfónico (AHNA) [52] así como también el efecto inhibitor en la oxidación de la 4-hidroxicumarina por KMnO₄ [53]. Para desarrollar estos métodos es necesario el riguroso control de condiciones experimentales como pH, tiempo de medida y temperatura.

En la **Tabla 1.2** se resumen las características más importantes de los métodos citados anteriormente.

Reactivos	λ (nm)	Límite de detección ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referencias
RPG + H ₂ O ₂	545	8	[50]
ANSA + H ₂ O ₂	465	0,027	[51]
AHNA + H ₂ O ₂	475	0,040	[52]
4HC + KMnO ₄	525	---	[53]

Tabla 1. 2 Características de métodos catalíticos para la determinación de la concentración de Mo(VI). RPG: rojo pirogalol; ANSA: ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfónico; AHNA: ácido 4-amino-3-hidroxi-naftaleno sulfónico; 4HC: 4-hidroxicumarina.

Es importante mencionar que los métodos catalíticos también pueden desarrollarse mediante análisis en flujo obteniéndose muy buenos resultados en cuanto a sensibilidad y frecuencia analítica [54, 55].

1.8.2 Espectrometría atómica

Las técnicas de espectrometría atómica, tanto óptica como de masa resultan ideales porque proveen además de la sensibilidad una remarcable selectividad. Los elementos presentes en una muestra son convertidos en átomos en estado gaseoso por medio de un proceso denominado atomización. La energía necesaria para el proceso de atomización puede ser generada por una llama, electrotérmicamente o por un plasma de acoplamiento inductivo. Una vez que la muestra se encuentra atomizada, se mide la absorción ultravioleta/visible, la emisión o la fluorescencia de las especies atómicas en el vapor [44].

1.8.2.1 Espectrometría de emisión mediante plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES)

La espectrometría de emisión mediante plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) presenta mayor detectabilidad para Mo, si se compara con FAAS, y tiene como ventaja la posibilidad de determinación multielemental. Sin embargo, la sensibilidad no es suficiente para niveles de concentración de Mo del orden de $\mu\text{g L}^{-1}$ y se presentan problemas debido a interferencias espectrales de otros elementos de la matriz [57]. Se ha informado de interferencias espectrales producidas por Al, Mg y Fe [58]. Para utilizar esta técnica sería necesario implementar una metodología para preconcentrar el analito y/o separarlo de los posibles interferentes.

1.8.2.2 Espectrometría de absorción atómica

Estas técnicas son ampliamente usadas para la cuantificación de metales. La espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS) presenta características deseables como bajo costo, facilidad de operación, alta frecuencia analítica y buena selectividad. Presenta limitaciones relacionadas con la sensibilidad, debido a una limitada eficiencia en la introducción de la muestra y un tiempo de residencia muy corto del analito en la llama y por lo tanto una permanencia corta en el camino óptico. La baja eficiencia de muestreo ocurre porque solamente una pequeña parte de la solución nebulizada (aproximadamente un 10 %) llega a la llama [56]. En particular para Mo, la sensibilidad es muy baja incluso utilizando la llama de óxido nitroso/acetileno [57]. Adicionalmente, la determinación de Mo por FAAS puede ser afectada por la presencia de Ca, Sr, Fe y sulfato [58]. Para utilizar esta técnica de detección para la determinación de la concentración de Mo es necesario implementar un paso previo de preconcentración o separación.

La espectrometría de absorción atómica electrotérmica (ETAAS) presenta mayor sensibilidad si se compara con FAAS. Lo anterior está relacionado con un mayor tiempo de residencia de las especies atomizadas en el camino óptico, así como también una

mayor eficiencia en la introducción de la muestra, ya que todo el analito que se introduce en el tubo de grafito es atomizado. Es una técnica más costosa y presenta una baja frecuencia analítica, ya que cada medida se completa en un tiempo de 2-3 minutos [56]. Es una buena alternativa para Mo ya que la sensibilidad que presenta permitiría las medidas directas en algunos casos, pero presenta algunos problemas principalmente relacionados con la formación de carburos no volátiles en la superficie del tubo de grafito que pueden generar un efecto memoria no deseado. Para solucionar este problema ha sido reportada la adición de peróxido de hidrógeno así como también el aumento de la temperatura y el tiempo de la etapa de limpieza [57]. La determinación directa de Mo en agua de mar por ETAAS presenta inconvenientes debido al alto contenido de sales, particularmente cloruros, por lo que es necesario el uso de modificadores químicos o la separación del analito de la matriz [59, 60].

1.8.2.3 Espectrometría de masa con fuente de plasma (ICP-MS)

En la espectrometría de masa con fuente de plasma, luego de la atomización se da la ionización y los iones producidos son separados en un espectrómetro de masas según su relación masa/carga. Se cuenta el número de iones de cada tipo o se mide la corriente iónica producida cuando los iones formados a partir de la muestra inciden en un detector adecuado. Presenta numerosas ventajas frente a las otras técnicas espectrométricas mencionadas, como mayor detectabilidad, capacidad para medir relaciones isotópicas atómicas, posibilidad de análisis multielemental, pero también desventajas como alto costo de adquisición y mantenimiento, necesidad de personal altamente calificado, baja tolerancia a las sales disueltas e interferencias espectrales [44].

Para cuantificar Mo se utilizan principalmente los isótopos ^{95}Mo y ^{98}Mo , que son pasibles de algunas interferencias por iones poliatómicos. Para ^{95}Mo pueden interferir $^{79}\text{Br}^{16}\text{O}^+$ y $^{40}\text{Ar}^{39}\text{K}^{16}\text{O}^+$, mientras que para ^{98}Mo interfiere $^{81}\text{Br}^{17}\text{O}^+$. La mejor solución para estas interferencias isobáricas es utilizar un espectrómetro de masas de alta resolución [57]. Para Mo han sido reportados límites de detección entre 0,03-0,09 $\mu\text{g L}^{-1}$ en diversas matrices [61-64]. Para el análisis de muestras con matrices que presentan alto contenido de sales como agua de océano, aguas residuales u orina, se han desarrollado metodologías que involucran solamente dilución de la muestra y metodologías con separación del analito de la matriz [65, 66].

1.8.3 Voltamperometría

Las técnicas más utilizadas son voltamperometría de redisolución, tanto anódica como catódica, voltamperometría de redisolución adsortiva y voltamperometría de pulso diferencial.

En los métodos de redisolución primero se electrodeposita el analito sobre un microelectrodo desde una solución agitada mediante la aplicación de un potencial que permita la reducción de los iones de interés. Luego de un tiempo determinado con exactitud se detiene la electrólisis y la agitación y se mantiene el potencial y se espera a que la solución quede en reposo. La determinación de la concentración del analito depositado por lo general se realiza por un barrido anódico lineal, en el cual el potencial del electrodo se hace variar linealmente hacia potenciales menos negativos registrando la intensidad de la corriente. Al alcanzarse el potencial correspondiente tiene lugar la oxidación del analito originándose picos de redisolución, cuya intensidad es proporcional a la concentración del analito. Cuando se trata de redisolución anódica el microelectrodo se comporta como un cátodo durante la etapa de deposición y como un ánodo durante la redisolución en la que el analito se oxida volviendo a su estado original. Por otro lado, en la redisolución catódica, el microelectrodo se comporta como ánodo durante la deposición y como cátodo en la redisolución. En los métodos descritos anteriormente la etapa de deposición equivale a una preconcentración electroquímica del analito, ya que la concentración en la superficie del electrodo es mucho mayor que en el seno de la solución, lo que se traduce en una elevada sensibilidad [44, 67].

Los métodos de redisolución adsortivos son muy similares a los métodos de redisolución anódica y catódica considerados en el párrafo anterior. Un microelectrodo (por lo general un electrodo de gota colgante de mercurio) se sumerge durante varios minutos en una solución agitada que contiene el analito. La deposición de éste tiene lugar por adsorción física sobre la superficie del electrodo en lugar de por deposición electrolítica. Una vez que se ha acumulado suficiente analito, se para la agitación y el material depositado se determina por medidas voltamperométricas de barrido lineal. La información cuantitativa se obtiene mediante la calibración con soluciones patrón que se tratan de la misma forma que las muestras. La voltamperometría de redisolución adsortiva se ha aplicado a la determinación de cationes inorgánicos a concentraciones muy bajas. Los cationes son generalmente complejados por un ligando con actividad superficial, tal como la dimetilglioxima, el catecol o la biperidina [44].

En la voltamperometría de pulso diferencial la señal de excitación consiste en una serie de pulsos a manera de escalera, donde el potencial base aumenta gradualmente en pequeños intervalos entre 10 y 100 mV. La corriente resultante del proceso electroquímico

se mide justo antes de la aplicación del pulso y al final de la aplicación del mismo y se grafica la diferencia de corrientes obtenidas en función del potencial aplicado. De esta manera se obtiene un voltagrama en el que la altura de los picos de intensidad de corriente medidos es proporcional a la concentración del analito [67].

En la **Tabla 1.3** se muestran las características más relevantes de diferentes metodologías voltamperométricas, desarrolladas en los últimos 15 años, para la determinación de la concentración de Mo.

Matriz	Reactivos	Técnica voltamperométrica	Electrodo de trabajo	Límite de detección ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Ref.
Agua y cenizas	Ácido cloroanílico/ KClO_3	Redisolución adsortiva catalítica	Gota de Hg	0,015	[68]
Alimentos vegetales	---	Pulso diferencial	Pasta de C modificado con $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$	3,0	[69]
Material particulado	Ácido mandélico	Pulso diferencial	Gota de Hg	0,8	[70]
Aguas naturales	Quercetin	Redisolución adsortiva anódica	Gota de Hg	0,048	[71]
Agua y sedimentos	Ácido cloroanílico	Pulso diferencial	Hg con base de film de Ag	0,008	[72]
Agua, alimentos vegetales, aleaciones	Tiron	Redisolución adsortiva catalítica	Gota de Hg	0,006	[73]
Agua, aleaciones	Cupferron	Pulso diferencial	Gota de Hg	0,06	[74]

Tabla 1. 3 Metodologías voltamperométricas para la determinación de la concentración de Mo.

Como puede observarse, las diferentes metodologías utilizan diferentes reactivos complejantes para Mo. En lo que se refiere a los electrodos de trabajo, el más utilizado es el electrodo de gota de mercurio.

1.8.4 Análisis por activación de neutrones

Se han reportado algunos trabajos con análisis por activación de neutrones para la determinación de Mo en aguas naturales. En la **Tabla 1.4** se muestran las principales características de las metodologías desarrolladas.

A pesar de ser una técnica sensible, es necesario separar al analito de la matriz debido a las interferencias que pueden ocurrir en el análisis. Por ejemplo, cuando se analiza agua de océano interfieren colruro, bromuro y uranio si está presente [75]. Las técnicas de preconcentración y/o separación utilizadas en estos ejemplos son coprecipitación [75, 76], precipitación [77] y extracción líquido líquido [78] y se describen con detalle en la siguiente sección.

Matriz	Reactivos	Límite de detección ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Ref.
Aguas naturales	Tionalida/APDC	0,001	[75]
Agua de océano y de estuario	Beta-naftoin oxima	0,32	[76]
Agua de océano	Fe(III)/dodecil sulfato de sodio	0,8	[77]
Agua de océno	APDC/DDTC/ CHCl_3	0,35	[78]

Tabla 1. 4 Métodos de determinación de Mo por análisis de activación de neutrones. APDC: pirrolidinditiocarbamato de amonio; DDTC: dietilditiocarbamato de sodio.

1.9 Técnicas de preconcentración y separación

La preconcentración o separación puede ser desarrollada en sistemas en batch o por análisis en flujo, constituyendo un sistema en línea. En el análisis en flujo se inyecta o inserta una porción definida de muestra y de reactivos en una corriente de una solución portadora en movimiento donde tienen lugar las reacciones y el producto es transportado a un detector adecuado. Este tipo de análisis puede llevarse a cabo de diferentes formas: análisis por inyección en flujo (FIA), análisis por inyección secuencial (SIA), análisis en flujo multiconmutado (MCFA). Cuando se considera un sistema en línea, la principal ventaja es la posibilidad de automatización así como también mejor exactitud y precisión, disminución de volúmenes de muestra y reactivos y mejora en la frecuencia analítica. Además, los sistemas de preconcentración en línea reducen los riesgos de contaminación de muestra (muy importante en el análisis de trazas), debido a que se trabaja en sistemas cerrados [79, 80]. Actualmente hay una tendencia hacia la integración y miniaturización de los sistemas de tratamiento de muestra y han sido desarrollados los sistemas LOV (lab on valve) [81], LOC (lab on a chip) [82, 83] y μ TAS (micro total analytic system) [84].

Las metodologías en batch son ventajosas cuando se requieren altos factores de preconcentración. Sin embargo, se requieren volúmenes mucho mayores de muestra y reactivos, incrementándose el riesgo de contaminación [56].

La determinación del contenido de Mo en muestras ambientales, geológicas o biológicas requiere un paso de preconcentración o separación previo al análisis, debido al bajo contenido de este elemento y/o a la presencia de potenciales interferentes en la matriz. En este sentido, los métodos más utilizados involucran extracción en fase sólida o extracción líquido líquido. Además se han desarrollado otros métodos utilizando extracción punto nube, coprecipitación, cromatografía, entre otros [57, 85].

1.9.1 Extracción en fase sólida

La extracción en fase sólida consiste en la sorción del elemento a determinar en un sorbente sólido, con la posterior elución utilizando un solvente apropiado [85]. La naturaleza y las propiedades del sorbente son factores determinantes en la retención del elemento. Algunos requerimientos son: posibilidad de retener especies en un amplio rango de pH, mecanismos de sorción y desorción rápidos, alta capacidad de retención, posibilidad de regeneración y resistencia química y mecánica. La distribución del analito entre la solución acuosa y el sorbente está basada en mecanismos como adsorción, intercambio iónico, formación de complejos, entre otros [57]. Si bien tanto la extracción en fase sólida como la extracción líquido líquido pueden incorporarse en sistemas de análisis en flujo, la primera presenta características ventajosas que favorecen su aplicación, como gran variedad de sorbentes con diferentes propiedades y estabilidad física y química. De este modo es posible seleccionar un sorbente apropiado para la extracción del analito minimizando la retención de otras sustancias presentes en la matriz y potencialmente interferentes. Al igual que otras formas de separación o preconcentración, la extracción en fase sólida no está exenta de dificultades, como la competencia por los sitios activos de otras especies distintas del analito y que se hallen en mayor concentración o que presenten mayor afinidad por dichos sitios. La selección tanto del material a usar como sorbente como de las condiciones de trabajo, permiten minimizar esas interferencias, por lo que estas actividades son parte fundamental del diseño de una metodología eficaz [86, 87]. Numerosos materiales han sido usados como sorbentes para la preconcentración de distintos metales. A modo de ejemplo se pueden mencionar sílicagel (modificada o no), alúmina, carbón activado, resinas de intercambio iónico comunes y quelantes, polímeros (polietileno, teflón, espumas de poliuretano), quitosanos, y polímeros impresos molecularmente (MIPs), los cuales según el caso se han empleado directamente como sorbentes o bien modificados con diversas sustancias empleadas como aditivos, tales como agentes quelantes, etc. La selección entre esta variedad de materiales dependerá las características del metal, principalmente su

estado de oxidación y forma química en la que se encuentre. Para la determinación del metal total, en general será necesario pasar previamente el metal a una única forma química, ya que de lo contrario las distintas especies presentes serán retenidas en forma diferencial o incluso alguna de ellas podría no ser retenida [56].

En la **Tabla 1.5** se muestran distintos métodos con extracción en fase sólida, desarrollados para la determinación de Mo en diversas matrices. Entre las características más importantes para la comparación se consideran: tipo de sorbente, complejante, eluyente, técnica de detección y límite de detección. Entre ellos se encuentran tanto sistemas en batch como en línea, que utilizan técnicas de detección espectrométricas.

Matriz	Sorbente	Solvente de elución	Límite de detección ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Técnica de detección	Volumen de solución de muestra (mL)	Ref.
Agua	Polímero impreso molecularmente con grupos SCN^- para iones Mo(VI)	Agua	8,66	ICP-OES ^a	20	[88]
Frijoles	Nanopartículas magnéticas recubiertas con agarosa funcionalizada con fenilefrina	$\text{HCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$	0,049	ETAAS ^b	5	[89]
Aguas naturales y residuales	L-tyr-CNTs	HNO_3 20 %	0,049	ICP-OES ^b	2	[90]
Gasolina	Resina Dowex-1x8	HNO_3 2 mol L^{-1}	0,14	ICP-OES ^b	20	[91]
Agua, vegetales	DAPSH (ligando quelante)/sílica	HCl/HNO_3	0,5	FAAS ^a	2000	[92]
Agua	Limaduras de etilvinil acetato	---	0,04	ICP-OES ^b	20	[93]
Agua	Trifenilmetano cristalino funcionalizado con salicil fluorona	$\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$	0,0135	SP-UV-visible ^a	1000	[94]
Agua	Levaduras inmovilizadas en vidrio poroso (biosorción)	$\text{HCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$	0,021	ICP-OES ^b	5	[95]
Agua, muestras biológicas	SCN^- /espuma de poliuretano	HNO_3 3 mol L^{-1}	0,08	ETAAS ^b	10-30	[96]
Agua de océano	Resina Chelex 100	HNO_3 2 mol L^{-1}	---	ICP-MS ^b	10	[97]
Muestras geológicas	APDC/carbón activado	HNO_3 20 %	---	FAAS ^a	50	[98]

Tabla 1. 5 Métodos de determinación de Mo con extracción en fase solida. tyr-CNTs: L-tirosina inmovilizada en nanotubos de C; DAPSH: 2,6-diacetilpiridina-monosaliciloidhidrazona; SP: espectrofotometría; APDC: pirrolidinditiocarbamato de amonio. a: métodos en línea, b: métodos en batch.

Para la extracción de Mo se ha reportado el uso de una gran variedad de materiales como sorbentes, por ejemplo resinas quelantes [91, 97], levaduras inmovilizadas en vidrio poroso (biosorción) [95], espuma de poliuretano [96], carbón activado [98-100]. Éste último es muy utilizado debido a sus buenas características como sorbente ya que posee una elevada porosidad y gran área de superficie para interactuar con el analito. Otro material con propiedades interesantes es la espuma de poliuretano. Si se utiliza sin ningún tratamiento, la sorción del metal debe darse bajo forma de complejo. Pueden realizarse modificaciones en la superficie mediante el agregado de grupos o ligandos característicos de forma de aumentar la selectividad [96].

La selectividad de la retención también puede ser aumentada utilizando un agente complejante en el proceso de sorción. Se ha informado del uso de tiocianato [96], 8-hidroxiquinoleína [99], pirrolidinditiocarbamato [98], violeta de pirocatecol [100], entre otros.

En cuanto a los eluyentes, no tienen por qué ser solventes orgánicos, lo que constituye una ventaja si se compara con la extracción líquido líquido. Pueden utilizarse soluciones diluidas de HCl, HNO₃, NaOH y agua, entre otros.

En la **Figura 1.12** se esquematiza la metodología para determinación en batch de Mo en frijoles mediante extracción en fase sólida utilizando como sorbente nanopartículas magnéticas de agarosa funcionalizadas con fenilefrina, eluyente HCl y detección por ETAAS [89].

La **Figura 1.13** describe esquemáticamente el sistema SIA (análisis por inyección secuencial) para la determinación de Mo en agua de océno por ICP-MS, que incluye una minicolumna empacada con la resina quelante Chelex 100 [97]. En este caso, el objetivo de la extracción en fase sólida además de preconcentrar Mo es separarlo de la matriz salina que afecta las medidas en ICP-MS.

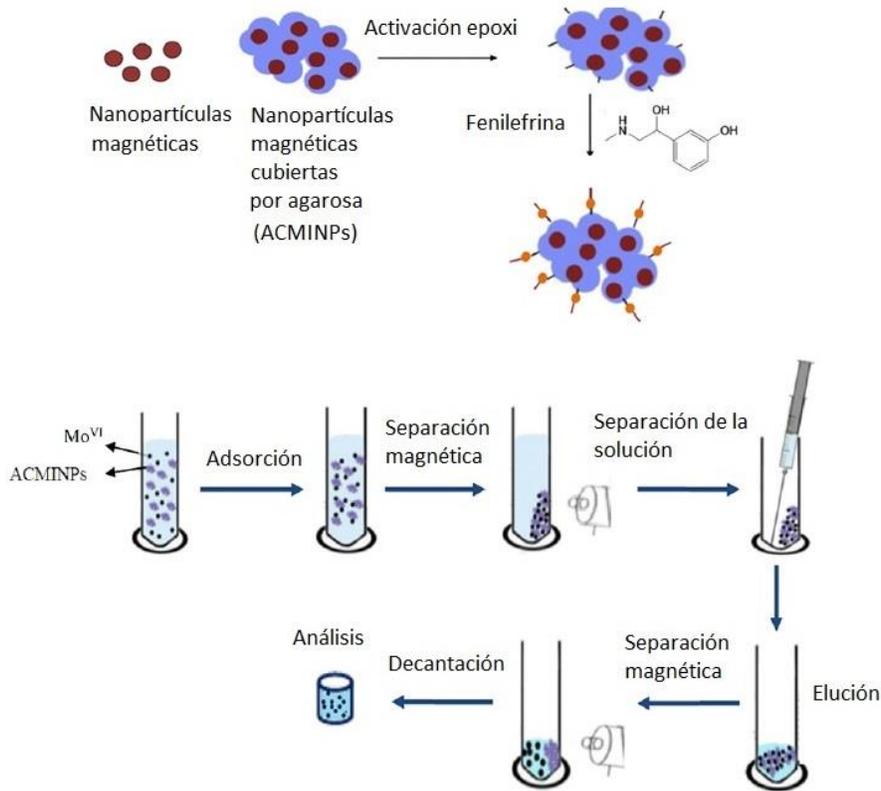


Figura 1. 12 Esquema de metodología para la determinación de Mo en frijoles por extracción en fase sólida y detección por ETAAS. (Figura adaptada de [89]).

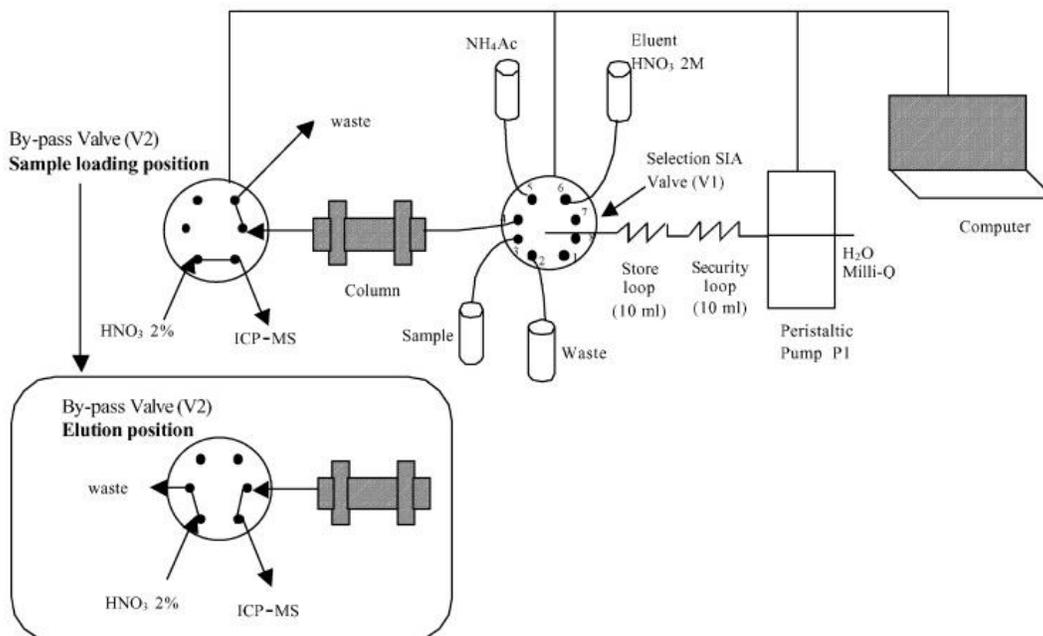


Figura 1. 13 Sistema SIA para la determinación de Mo en agua de océano por ICP-MS [97].

1.9.2 Extracción líquido líquido

La extracción líquido líquido consiste en la distribución del metal entre dos fases líquidas inmiscibles (fase orgánica y fase acuosa). La transferencia del ion metálico desde la solución acuosa hacia la fase orgánica ocurre luego de la formación de un complejo neutro del metal [56].

Esta técnica de separación ha sido muy utilizada para la preconcentración previa a la determinación de la concentración de Mo en variadas matrices. La principal ventaja es la posibilidad de altos factores de preconcentración en el análisis de muestras de agua, ya que es posible utilizar un volumen de muestra mucho mayor al de solvente de extracción. Las desventajas son: desde el punto de vista de la salud y el ambiente, por el uso de grandes volúmenes de solventes orgánicos potencialmente tóxicos; y también se requiere una manipulación más laboriosa.

La **Tabla 1.6** muestra algunos métodos de determinación de Mo que utilizan preconcentración por extracción líquido líquido convencional.

Matriz	Extractante	Solvente	Límite de detección ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Técnica de detección	Ref.
Aguas naturales, espinaca	α -benzoin oxina	Acetona/PFO ⁻ en medio ácido	---	SP-UV-visible con SCN ⁻ como cromógeno	[101]
Material vegetal	SCN ⁻	Alcohol isoamílico	4,6	SP-UV-visible	[102]
Muestras biológicas y ambientales	Ácido calix[6]corona hidroxámico	Cloroformo	3	ICP-OES	[103]
Material vegetal	Tolueno-3,4-ditiol	MIBK	45	FAAS	[104]
Acero, suelo, vegetales y agua	Ácido N- <i>p</i> -clorofenil- α -fenilestiril-crilhidroxámico	Cloroformo	---	ETAAS	[105]

Tabla 1. 6 Métodos de determinación de Mo con extracción líquido líquido convencional. PFO⁻: ion perfluorooctanoato; SP: espectrofotometría; MIBK: metilisobutilcetona.

Este tipo de extracción se adecúa muy bien a la determinación espectrofotométrica. En el caso de utilizar detectores ICP es necesario considerar que los solventes con alta presión de vapor pueden llegar a apagar el plasma [57].

Existen alternativas a la extracción líquido líquido convencional, en la que la extracción comienza cuando las fases inmiscibles se ponen en contacto. Una de ellas es la extracción por punto nube, donde la separación de las fases líquidas inmiscibles se da al variar la temperatura de un sistema monofásico [56]. Pueden emplearse diferentes tensoactivos que exhiben tanto propiedades hidrofílicas como hidrofóbicas. Las moléculas del tensoactivo, dependiendo de su concentración, pueden agregarse formando estructuras micelares. Cuando en una solución acuosa de tensoactivos no iónicos se aumenta la temperatura por encima de la temperatura de punto nube se forman dos fases en el sistema: una acuosa con algunas micelas solubilizadas y otra fase de volumen reducido rica en tensoactivo. Cualquier especie hidrofóbica presente en solución acuosa puede reaccionar o unirse a las micelas y concentrarse en un volumen reducido en la fase rica en tensoactivo. Los iones metálicos pueden interaccionar electrostáticamente con la parte polar del tensoactivo o estar formando parte de un complejo hidrofóbico e interaccionar con el dominio hidrofóbico de las micelas. El grado de reparto del ion metálico entre la solución acuosa y el tensoactivo dependerá de la constante de formación del complejo con el ligando seleccionado, concentración de ligando, pH y temperatura [57]. Esta extracción presenta algunas ventajas frente a la extracción líquido líquido convencional: uso de reactivos menos tóxicos que los solventes orgánicos, menos costo y muy buena sensibilidad.

Para la determinación de la concentración de Mo en variadas matrices utilizando extracción por punto nube se han desarrollado los métodos que se presentan en la **Tabla 1.7**. Como puede verse es una metodología muy sensible que puede combinarse fácilmente con las técnicas de detección espectrométricas.

Matriz	Complejante	Tensoactivo	Límite de detección ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Técnica de detección	Ref.
Material vegetal	8-HQ	Triton X-100	0,8	ICP-MS	[66]
Acero y agua	RBPG	CTAB	0,1	SP-UV-visible	[106]
Agua de océano	Quinalizarina	Triton X-114	0,007	ETAAS	[107]
Alimentos y bebidas	SCN-/VPB	CPC/Triton X-114	2,18	FAAS	[108]

Tabla 1. 7 Métodos para determinación de Mo con extracción por punto nube. 8-HQ: 8-hidroxiquinolina; RBPG: rojo bromopirrolol; CTAB: bromuro de cetiltrimetilamonio; VPB: victoria pure blue; CPC: cloruro de cetilpiridinio.

En los últimos años se ha trabajado intensamente en una drástica disminución de los volúmenes de solventes utilizados en la extracción líquido líquido hasta el orden de los μL , desarrollándose la microextracción líquido líquido. Basándose en esta premisa se han desarrollado metodologías como la microextracción en una gota (SDME) y la microextracción dispersiva líquido líquido (DLLME). SDME es una técnica de preconcentración basada en la exposición de una microgota de un solvente de extracción inmiscible a la solución que contiene al analito, mientras que DLLME se basa en la formación de una nubosidad en la solución cuando una mezcla apropiada de solvente de extracción y solvente dispersante es rápidamente inyectada en la solución acuosa. El solvente de extracción se dispersa en finas gotas aumentando la superficie de contacto con la solución acuosa de manera de extraer eficientemente al analito [109, 110]. En estos casos, al utilizarse un volumen tan pequeño de solvente de extracción en comparación con el volumen de la solución acuosa, la eficiencia de la preconcentración es muy grande. Estas extracciones miniaturizadas pueden utilizarse para la preconcentración de analitos orgánicos e inorgánicos. En el caso de los metales, deben encontrarse formando un complejo neutro para ser extraídos en el solvente orgánico.

También se han desarrollado metodologías de microextracción que utilizan líquidos iónicos en lugar de solventes orgánicos. Éstos son sales formadas por cationes y/o aniones orgánicos con puntos de fusión muy bajos y son considerados como el reemplazo verde de los solventes orgánicos volátiles [109, 110].

En la **Tabla 1.8** se muestran las principales características de algunas metodologías de análisis para Mo en diversas matrices derivadas de las metodologías de microextracción líquido líquido mencionadas anteriormente.

Matriz	Reactivos	Solventes	Técnica de microextracción	Límite de detección ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Técnica de detección	Ref.
Agua	Rojo alizarina S/CTAB	Tolueno/metanol	HLLME-FA	0,1	ETAAS	[111]
Material vegetal	8-HQ	1-undecanol	SFODME	4,9	FAAS	[112]
Agua y hojas de vegetales	Rojo pirogalol/CTAC	[Hmim][Tf2N]	IL-DLLME	1,43	FO-LADS	[113]
Agua	SDDTC	CCl_4 /acetona	DLLME	0,007	ETAAS	[114]
Agua	APDC	Tricloroetileno/etanol	DLLME	0,013	ETAAS	[115]
Agua	Quinalizarin	CCl_4 /etanol	DLLME	0,020	ETAAS	[116]

Tabla 1. 8 Métodos para determinación de Mo con microextracción líquido líquido. CTAB: bromuro de cetil trimetilamonio; HLLME-FA: microextracción homogénea líquido líquido vía asistencia por flotación; 8-HQ: 8-hidroxiquinolina; SFODME: microextracción por gota orgánica solidificada flotante; [Hmim][Tf2N]: 1-hexil-3-metilimidazolio bis (trifluorometilsulfonil) imida; IL-DLLME: microextracción dispersiva líquido líquido con líquidos iónicos; FO-LADS: detección por espectrofotometría de fibra óptica de arreglo lineal; CTAC: cloruro de N-cetil-N,N,N-trimetil amonio; APDC: pirrolidinditiocarbamato de amonio.

Como ejemplo en la **Figura 1.14** se muestra un esquema del proceso para la determinación de Mo en agua por HLLME-FA.

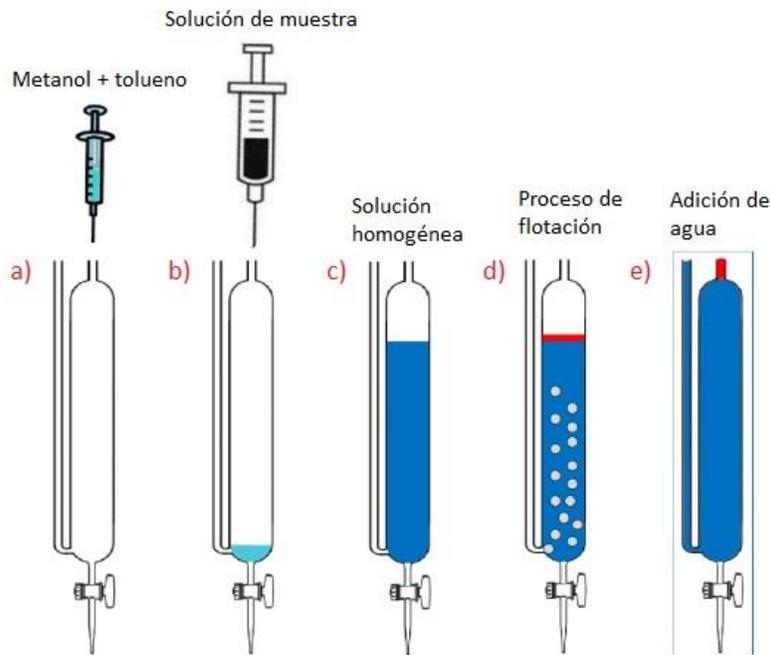


Figura 1. 14 Esquema del proceso de HLLME-FA. (Figura adaptada de [111])

En la celda de reacción se agrega en primer lugar la mezcla de solventes (a), luego se adiciona mediante inyección rápida la solución de muestra conteniendo los reactivos para formar el complejo y separar las fases (b). En un principio se observa una solución homogénea, pero a medida que se sigue inyectando se observa la formación de una emulsión del solvente de extracción en la solución acuosa. Por último mediante la introducción de aire (d) el solvente es llevado hacia arriba y mediante el agregado de agua (e) es sacado de la celda de extracción para ser analizado por ETAAS [111].

La microextracción por gota orgánica solidificada flotante (SFODME) está basada en la microextracción dispersiva líquido líquido (DLLME). Una pequeña cantidad de un solvente orgánico con punto de fusión cercano a la temperatura ambiente es adicionado a una solución acuosa que contiene al analito. Se agita y luego se lleva a un baño de hielo. Cuando el solvente orgánico solidifica se separa y se transfiere a un tubo pequeño de fondo cónico y luego de que vuelve al estado líquido puede ser determinado el analito. Es una metodología de preconcentración muy eficiente, sencilla, rápida y económica [112].

1.9.3 Coprecipitación

Esta técnica de preconcentración se caracteriza por la formación de compuestos muy poco solubles y se utiliza cuando la precipitación directa no es posible debido a la baja concentración del analito en solución. En la coprecipitación el analito puede adsorberse a la superficie del precipitado o incorporarse a la estructura del mismo [56]. Para la determinación de Mo esta técnica de preconcentración ha sido utilizada mayormente para el análisis de agua. Es una técnica tediosa, con muchos pasos y lleva mucho tiempo, sin embargo pueden obtenerse muy buenos resultados en cuanto a selectividad y sensibilidad. Como agentes de coprecipitación pueden utilizarse tanto sustancias orgánicas como inorgánicas.

Para el análisis de Mo han sido reportadas variadas metodologías basadas en la preconcentración por coprecipitación (ver **Tabla 1.9**). La preconcentración se lleva a cabo mayormente en línea, para luego medir la concentración de Mo utilizando diferentes técnicas de detección. En estas metodologías suelen utilizarse reactores anudados o tejidos donde se da la sorción del precipitado en las paredes internas de los mismos y luego se utiliza un solvente adecuado para disolver el precipitado y eluir el analito para su posterior determinación [117, 118].

Matriz	Agente de coprecipitación	Solvente	Límite de detección ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Técnica de detección	Ref.
Agua	Tionalida/APDC	---	0,001	NAA	[75]
Agua	APDC	HNO ₃ 2 %	---	ICP-MS	[117]
Agua y cabello	Fe(II)/APDC	MIBK	0,04	ETAAS	[118]
Agua y muestras biológicas	APDC	EtOH	0,001	ICP-MS	[119]
Agua y nieve	Óxido de Mn(IV)	HNO ₃ /H ₂ O ₂	0,009	ETAAS	[120]

Tabla 1. 9 Métodos para determinación de Mo por preconcentración por coprecipitación. APDC: pirrolidinditiocarbamato de amonio; NAA: análisis por activación de neutrones; MIBK: metil isobutil cetona.

1.9.4 Cromatografía

Una metodología alternativa para Mo es el acoplamiento de la cromatografía líquida con la espectrometría para la preconcentración y detección respectivamente. En la **Tabla 1.10** se resumen algunos ejemplos.

Matriz	Técnica cromatográfica	Columna	Eluyente	Límite de detección ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Técnica de detección	Ref.
Leche y fórmulas infantiles	Intercambio iónico	Amberlite IRA-743 (intercambio aniónico)	NaOH 5 %	0,04	ETAAS	[121]
Agua	Intercambio iónico	Dionex AS-11 (intercambio aniónico)	NaOH 20 mmol L ⁻¹	0,5	ICP-MS	[122]
Aleaciones	Par iónico/fase reversa	C18	MeOH/H ₂ O	---	SP-UV-visible	[123]

Tabla 1. 10 Métodos de determinación de Mo con preconcentración cromatográfica.

1.10 Justificación y relevancia de la investigación

En las aguas naturales del Uruguay, al igual que en el resto del mundo, se ha evidenciado un aumento de la concentración de los elementos traza, debido sobre todo a factores antropogénicos en relación a las actividades agropecuarias. Los cambios generados por las actividades humanas son en general mucho más bruscos que los provocados por los ciclos naturales. En el caso de los elementos traza, su baja abundancia los hace especialmente sensibles a estas variaciones. En nuestro país, los monitoreos existentes de elementos traza en aguas naturales son en su conjunto muy escasos, y se han limitado a la determinación de la concentración total del elemento, sin abordar lo relativo a su estado químico. Por otra parte, el costo analítico de realizar dicho relevamiento es muy elevado, si se basa exclusivamente en determinaciones de concentración total del elemento, dado el número de muestras que sería necesario extraer para conseguir una base de datos representativa.

Para realizar un análisis completo del comportamiento de estos elementos, a los efectos de su gestión, debe sumarse al monitoreo de las concentraciones totales, el conocimiento de las especies químicas predominantes en las condiciones fisicoquímicas de la matriz estudiada. No alcanza con conocer los valores de las concentraciones totales, sino también qué especies forman y con qué elementos o compuestos interaccionan para determinar su movilidad, ya que ambos factores son decisivos para determinar su biodisponibilidad y para detectar en forma temprana desbalances y aplicar técnicas de gestión apropiadas que prevengan situaciones de riesgo para la salud humana o perjuicios a la producción agropecuaria.

Para esta tesis se seleccionó al Mo como elemento de estudio. Es un elemento traza de relevancia biológica y ambiental cuya movilidad en la corteza terrestre depende en gran parte del ciclo hidrológico. Forma parte de diversos procesos bioquímicos, pero también es potencialmente tóxico. En las aguas superficiales y subterráneas poco profundas forma predominantemente aniones que podrían interaccionar con los cationes más abundantes.

Para conocer las especies químicas de Mo presentes en las aguas naturales se necesita disponer de los datos termodinámicos completos de interacción del elemento con los cationes más abundantes en los medios acuáticos. Existen pocos datos bibliográficos de las interacciones de Mo con los cationes presentes en las aguas naturales. Los pocos datos disponibles han sido determinados en condiciones muy alejadas de las requeridas para estudios en aguas naturales, especialmente a baja fuerza iónica. Además es necesario determinar la concentración total de Mo en todos los sistemas acuáticos estudiados. Este elemento se encuentra en niveles de concentración muy bajos, por lo que para determinar su concentración es necesario utilizar técnicas analíticas muy

sensibles. La técnica idónea para estas determinaciones es ICP-MS, pero no siempre está disponible debido a los altos costos de adquisición y mantenimiento del equipo.

1.11 Objetivos generales y específicos

Se plantean como objetivos generales de la tesis el desarrollo y validación de una metodología para la determinación de la concentración de Mo total en agua y el estudio termodinámico de las especies químicas predominantes de Mo y las interacciones con otros elementos relevantes en las condiciones de las aguas naturales.

El cumplimiento de lo anterior implica el desarrollo de una metodología para la determinación de Mo que incluya un paso de preconcentración previo a la detección, debido a los muy bajos niveles de concentración reportados para este elemento en aguas naturales. En el desarrollo de la metodología, la etapa de preconcentración resulta clave para cumplir con lo planteado y constituye un desafío analítico importante. Se propone desarrollar una preconcentración rápida, económica y amigable con el ambiente de forma de poder detectar al elemento de interés con técnicas de espectrometría de absorción atómica, que son aquellas que están disponibles.

El estudio de especiación química e interacción con elementos de interés implica la determinación de todas las constantes de equilibrio involucradas (constantes de protonación y polimerización de Mo(VI) y constantes de asociación de las especies de Mo(VI) con los cationes de interés) en condiciones experimentales simuladas de las aguas naturales (20 °C y baja fuerza iónica). Se propone el estudio de las interacciones con elementos que forman cationes relevantes por su abundancia, esencialidad y/o toxicidad, como por ejemplo Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Cd.

Asimismo, se plantea realizar la caracterización de las muestras desde el punto de vista de la fuerza iónica mediante la medida de la dureza e investigar la influencia de este parámetro en la especiación de Mo.

Los datos de especiación química de Mo y las concentraciones determinadas en las aguas naturales de nuestro país utilizando la metodología desarrollada, permitirán la realización de un relevamiento de los niveles de concentración de este elemento y también realizar el modelado completo de la especiación química de Mo(VI). Además se propone realizar un estudio comparativo de la química en solución acuosa de Mo y otros elementos formadores de aniones como W, As, Se y S.



Capítulo 2

Estudio preliminar de la concentración de Mo y dureza en aguas naturales.

Se describe en este capítulo la optimización y validación de la determinación directa de Mo en aguas naturales por espectrometría de absorción atómica electrotérmica. Asimismo, como forma de caracterizar las muestras desde el punto de vista del contenido iónico, se utilizaron las determinaciones de dureza.



2.1 Descripción y fundamento de la metodología de trabajo

2.1.1 Desarrollo y validación de métodos analíticos

Luego de considerar las posibles alternativas se selecciona la técnica a utilizar según las características del analito y la muestra, las capacidades del laboratorio y los requerimientos del análisis en cuanto a tiempo, sensibilidad, exactitud y precisión, número de muestras, costos y cantidad de muestra disponible para el análisis. En base a lo anterior, una vez elegida la técnica, se debe realizar la optimización y validación de la metodología desarrollada para demostrar objetivamente que cumple con los requisitos para los que fue desarrollada. Los criterios de validación son definidos previamente en base al criterio de adecuación al uso, teniendo en cuenta el objetivo del análisis. Una vez cumplida esta etapa se aplica a las muestras objetivo y se recopilan y analizan los resultados obtenidos. Ocasionalmente se realizan ajustes luego de la implementación y se revalida [18].

La validación de un método analítico se debe realizar para demostrar que éste es apto para el propósito para el cual se va a utilizar, es decir, la validación asegura que los resultados analíticos arrojados por el método son confiables. La validación del método es una exigencia de los organismos de acreditación nacionales e internacionales y debe ser apoyada y extendida mediante la verificación del desempeño de dicho método durante los análisis de rutina. Todos los pasos involucrados en un método deben validarse. A nivel internacional, organismos tales como la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), International Standardization Organisation (ISO) y AOAC International han establecido guías para la validación de métodos analíticos.

Las normas ISO definen a la validación de un método como la confirmación mediante examen y provisión de evidencia objetiva de que las necesidades particulares para un uso específico previsto se cumplan. La metodología de validación consiste en evaluar las características de rendimiento y compararlas con requisitos analíticos fijados previamente, independientemente de los datos de rendimiento existentes que puedan estar disponibles [124].

En la práctica, la validación de un método se realiza mediante la evaluación de una serie de características o parámetros de su desempeño tales como: precisión, veracidad, selectividad/especificidad, linealidad, límite de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ) y robustez [125].

La precisión es el grado de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos en condiciones establecidas. Es una medida de cuan cerca está un resultado del otro. Usualmente se expresa como desviación estándar (s) o desviación estándar relativa. La precisión se estudia a tres niveles diferentes: repetibilidad (s_r),

reproducibilidad (s_R) y precisión intermedia (s_I). La repetibilidad se define como la precisión de medición de un analito utilizando el mismo método, en la misma muestra en un solo laboratorio en un corto período de tiempo durante el cual no existen diferencias en los métodos, analistas, materiales y/o equipos involucrados. La reproducibilidad es la precisión de medición de un analito utilizando el mismo método, en diferentes laboratorios, con diferentes analistas, o durante un período de tiempo en el cual existan variaciones en los materiales y equipos. La precisión intermedia es la precisión en condiciones donde los resultados de un ensayo se obtienen con el mismo método, en pruebas idénticas, en el mismo laboratorio, realizado por diferentes analistas utilizando diferentes equipos durante un período de tiempo prolongado. Hay que tener en cuenta que la precisión depende de la concentración del analito, por lo que debe evaluarse a lo largo del rango de interés. Además se requiere un número suficiente de réplicas independientes (entre 6 y 15) para poder realizar el tratamiento estadístico. Es importante que se repitan todos los pasos del método, incluidos los tratamientos de muestra [124].

La veracidad es una característica de desempeño que indica lo cerca que está el promedio de la medida de un número infinito de resultados producidos por el método respecto a un valor de referencia. Dado que no es posible realizar un número infinito de mediciones, la veracidad así como está definida no puede medirse. Sin embargo, puede realizarse una evaluación práctica, que se expresa cuantitativamente en términos de sesgo (en inglés *bias*). El sesgo se determina comparando la media de los resultados del método a validar con un valor de referencia o "valor verdadero". Puede determinarse mediante el análisis de material de referencia (CRM), ensayos de recuperación, comparación de resultados obtenidos con un método de referencia y mediante el análisis de muestras sintéticas o artificiales. En caso de utilizar CRM se expresa como z-score, de lo contrario como porcentaje de recuperación [124].

Según IUPAC, la selectividad analítica se refiere a "la medida en que el método puede usarse para determinar analitos particulares en mezclas o matrices sin interferencias de otros componentes de comportamiento similar" [126]. La selectividad de un método puede evaluarse estudiando su capacidad de medir el analito de interés en muestras en las que deliberadamente se han introducido interferentes específicos.

Las interferencias pueden causar sesgo aumentando o disminuyendo la señal atribuida al mensurando (analito). El tamaño del efecto para una matriz dada suele ser proporcional a la señal y, por lo tanto, a veces se denomina efecto proporcional o rotacional (interferencia multiplicativa). Cambia la pendiente de la función de calibración, pero no su ordenada en el origen. Un efecto translacional o fijo (interferencia aditiva) surge de una señal producida por interferencias presentes en la

disolución de muestra. Por lo tanto, es independiente de la concentración del analito. Afecta a la ordenada en el origen de una función de calibración, pero no a su pendiente [124].

Según Eurachem [124], la especificidad y la selectividad reflejan el mismo concepto y se relacionan muy estrechamente entre sí, de manera que la especificidad significa 100 % de selectividad. Dicho de otra forma, un método solo puede ser específico si es 100 % selectivo.

La linealidad se define como la habilidad del método de obtener respuestas (en un determinado rango) proporcionales a la concentración del analito [125]. Para realizar la evaluación en primer lugar se grafica la respuesta analítica (eje y) en función de la concentración de los patrones (eje x) y se realiza inspección visual de los datos en busca de tendencias o puntos anormales. Luego mediante análisis de regresión se obtienen los parámetros de la recta de mejor ajuste. Como criterios de evaluación pueden utilizarse el análisis de residuales o la estimación del coeficiente de determinación R^2 , entre otros. El análisis de residuales consiste en calcular los residuos como la diferencia entre los valores de y observados y los calculados mediante la regresión para cada valor de x y graficarlos en función de x. Una distribución al azar de los residuales en torno a cero confirma la linealidad, mientras que tendencias sistemáticas indican que no es el mejor ajuste para los datos considerados [124].

El coeficiente de determinación se define como $R^2 = \frac{\sum(\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum(y_i - \bar{y})^2}$, donde \hat{y}_i son los valores predichos por el modelo para cada valor de x, \bar{y} es el valor promedio e y_i es el valor observado de y. Expresa la proporción de la variación total de los datos que es explicada por el modelo y varía entre 0 y 1, siendo éste último indicador de un ajuste perfecto [127].

El límite de detección (LOD) es la concentración mínima de analito que puede ser detectada por el método con un nivel de confianza determinado. El límite de cuantificación (LOQ) se define como la mínima concentración de analito que puede ser cuantificada por el método con una veracidad y precisión adecuada [124]. Existen diversas maneras de estimar los límites de detección y cuantificación y para ello se utilizan disoluciones blanco o con concentraciones muy bajas de analito.

En general, el LOD se expresa como la concentración derivada de la señal más baja (x_L), que puede ser detectada por el método con un nivel de confianza determinado. La señal más baja x_L corresponde a k veces la desviación estándar de la señal del blanco o de la disolución que se utilice. El factor k depende del nivel de confianza. Para estimar el LOD, para un nivel de confianza $\alpha = 0,05$ k es 3. El LOQ se estima de forma análoga con k = 10 [125].

La robustez es la medida de la capacidad de un método analítico de permanecer inalterado por pequeñas y deliberadas variaciones en los parámetros operacionales del método. Provee la seguridad de obtención de resultados confiables durante su normal ejecución [125].

2.1.2 Espectrometría de absorción atómica

Dentro de las técnicas espectrométricas de análisis para identificar y cuantificar elementos presentes en distintas matrices, se encuentra la espectrometría atómica óptica. En ésta, los elementos presentes en una muestra son convertidos en átomos en estado gaseoso por medio de un proceso denominado atomización. Una vez que la muestra se encuentra atomizada, se mide la absorción, emisión o fluorescencia en la región ultravioleta-visible de la nube atómica [44].

Cuando la radiación atraviesa la nube de átomos de la muestra, ésta puede absorber en forma selectiva ciertas frecuencias, en un proceso en el cual la energía electromagnética se transfiere a los átomos. La absorción impulsa a estas partículas desde su estado normal a temperatura ambiente, o estado fundamental, a uno o más estados excitados de energía superior. Para que haya absorción de radiación, la energía del fotón incidente debe corresponder exactamente con la diferencia de energía entre el estado fundamental y uno de los estados excitados de la especie absorbente. Como estas diferencias de energía son únicas para cada especie, el estudio de las frecuencias de radiación absorbida proporciona un medio para caracterizar los constituyentes de una muestra. Esta técnica espectrométrica es muy selectiva, ya que el uso de fuentes de radiación específicas para cada elemento y la selección de la longitud de onda adecuada permiten la determinación cuantitativa de un elemento en presencia de otros [128]. Se mide entonces la atenuación de la intensidad de la luz como resultado de la absorción, siendo la cantidad de radiación absorbida proporcional a la cantidad de átomos del elemento presente.

Las fuentes más utilizadas en espectrometría de absorción atómica son las lámparas de cátodo hueco y las lámparas de descarga sin electrodos [128].

En una lámpara de cátodo hueco (**Figura 2.1**), el ánodo por lo general está constituido por una varilla de tungsteno y el cátodo es un cilindro hueco del elemento cuyo espectro se desea obtener. El ánodo y el cátodo están sellados en un cilindro de vidrio normalmente con neón o argón a baja presión (133,32 – 666,61 Pa). El extremo del cilindro de vidrio es una ventana de un material transparente a la radiación emitida.

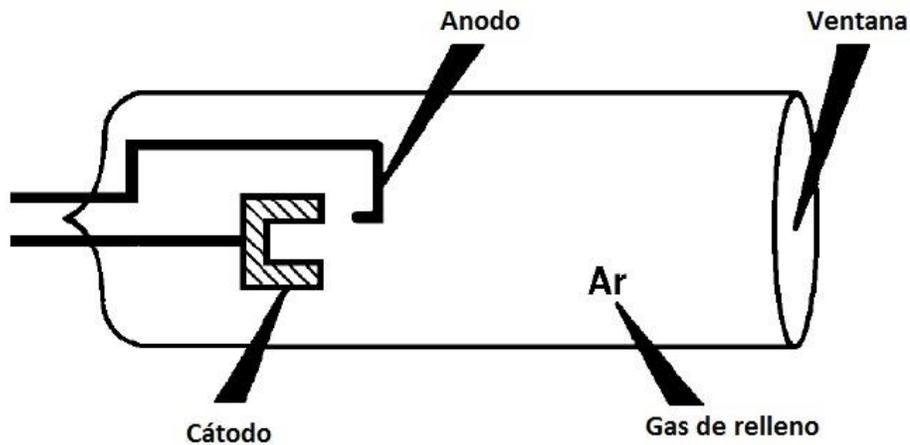


Figura 2. 1 Lámpara de cátodo hueco. (Figura adaptada de [128])

En la **Figura 2.2** se esquematiza el proceso de emisión de radiación. En el paso 1, cuando se aplica un potencial eléctrico entre el ánodo y el cátodo, se da la ionización del gas de relleno. Los iones formados (por ejemplo Ar^+) son acelerados por el campo eléctrico existente y colisionan con el cátodo (cargado negativamente) provocando el desprendimiento de átomos del metal (M^0). En el paso 2, esos átomos, a su vez son excitados a un estado de energía superior por el impacto con el gas ionizado y vuelven al estado fundamental (paso 3) emitiendo radiación a la longitud de onda característica de ese elemento [44, 128].

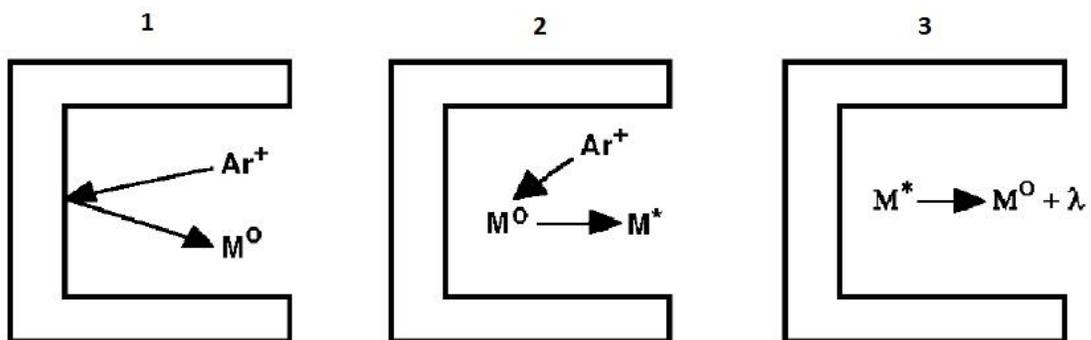


Figura 2. 2 Proceso de emisión en una lámpara de cátodo hueco. (Figura adaptada de [128])

Para los elementos más volátiles (Cd, As, Se, Sb) las lámparas de cátodo hueco pueden presentar problemas de detectabilidad debido a una menor intensidad de radiación y menor vida útil. Una alternativa para este tipo de elementos es la lámpara de descarga sin electrodos (EDL) [44].

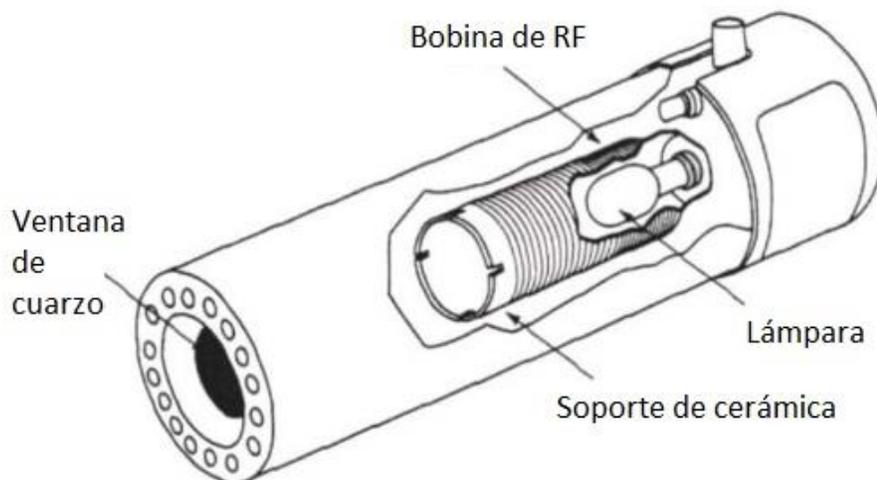


Figura 2. 3 Lámpara de descarga sin electrodo. (Figura adaptada de [44])

Las lámparas de descarga sin electrodos (**Figura 2.3**) consisten en un tubo cerrado de cuarzo relleno con gas inerte que contiene una pequeña cantidad del elemento de interés (o una sal del mismo). La lámpara es energizada a través de un potente campo de radiofrecuencia o radiación microondas. De esta forma ocurre la ionización del gas inerte y los iones son acelerados y ganan suficiente energía para excitar a los átomos del elemento [44]. Es de destacar que la radiación emitida por este tipo de lámparas es más intensa que la emitida por las lámparas de cátodo hueco y las líneas son de mayor pureza espectral, resultando en una ventaja analítica desde el punto de vista de la sensibilidad y también tienen un tiempo de vida útil más largo [128]. Como desventaja se puede decir que requieren de un tiempo de calentamiento previo a su uso y una fuente de radiofrecuencia.

En espectrometría atómica existen diversos métodos para lograr la atomización del elemento de interés. Los más relevantes son la atomización por llama (FAAS), atomización electrotérmica (ETAAS) y atomización por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES, ICP-MS) [44].

En el presente trabajo de tesis se utilizó como técnica de detección de Mo la espectrometría de absorción electrotérmica, por lo que se describe en particular esta metodología de atomización.

2.1.3 Atomización electrotrémica

En ETAAS, para lograr la atomización del elemento de interés en la muestra (analito) se utiliza energía eléctrica. En esta técnica, la atomización se da en el interior de un tubo de grafito (compartimiento de muestra) por el que pasa la radiación emitida por la fuente. Una cantidad exactamente conocida de muestra (5 – 100 μL) es inyectada en el interior del tubo (por lo general los equipos tienen un dispositivo de muestreo automático) a través de un pequeño orificio en el centro del mismo. El tubo es calentado electrotrémicamente siguiendo una secuencia programada de temperatura hasta que el elemento de interés se atomiza generando una nube atómica dentro del tubo que absorbe parte de la radiación emitida por la fuente. La señal característica es transitoria: al principio se observa un aumento de la absorbancia, que refleja la rápida atomización, y luego de un máximo, la señal decrece debido a la difusión de la nube atómica fuera del tubo de grafito [44].

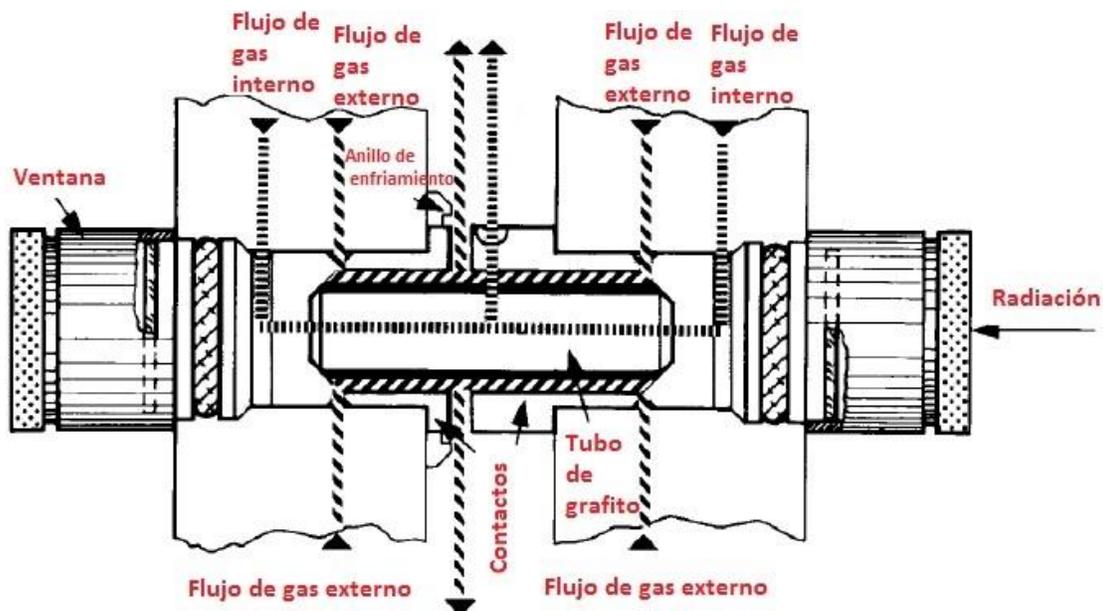


Figura 2. 4 Tubo de grafito calefaccionado longitudinalmente. (Figura adaptada de [128])

En la **Figura 2.4** se muestra, a modo de ejemplo, un tubo de grafito calefaccionado longitudinalmente (también hay con calefacción transversal). El tubo se mantiene en su lugar entre dos contactos de grafito por los que se da la conexión a la corriente eléctrica. El grafito es un material mal conductor de la electricidad, lo que causa que la diferencia de potencial eléctrico aplicada a los contactos haga que la corriente fluya a través del tubo provocando el calentamiento de éste y de la muestra. Este dispositivo está montado dentro de un compartimiento cerrado refrigerado con agua. Las ventanas de cuarzo a ambos lados permiten el pasaje del haz de radiación a través del tubo. El

tubo es protegido de la oxidación por el oxígeno del aire por las ventanas y por una corriente externa de argón. A su vez, hay una corriente interna de argón que tiene como función purgar los gases producidos dentro del tubo durante las etapas de calentamiento. Es habitual que esta corriente interna sea interrumpida durante la atomización de forma de maximizar el tiempo de residencia de los átomos del analito en el tubo e incrementar la señal [128].

Para la realización de los análisis deben ajustarse condiciones como programa de temperaturas, flujo de gases (Ar) y control de espectrómetro (longitud de onda y corriente de la lámpara).

El calentamiento del tubo se realiza siguiendo un programa de temperatura que consta de las siguientes etapas [41, 128]:

- ✓ **Secado:** Esta etapa tiene como objetivo la evaporación del solvente y de los componentes más volátiles de la matriz. Luego que la muestra ha sido inyectada en el tubo de grafito, se calienta a una temperatura que dependerá del punto de ebullición del solvente utilizado. Para soluciones acuosas son comunes temperaturas de 100 - 120 °C. El calentamiento se realiza en general empleando una rampa de temperatura de forma que la evaporación sea lenta y se eviten proyecciones que resultarían en una baja precisión de los análisis realizados.
- ✓ **Pirólisis:** El calentamiento a una mayor temperatura en esta etapa tiene como propósito volatilizar los componentes orgánicos e inorgánicos de la matriz, evitando en lo posible la pérdida del analito. La temperatura seleccionada, depende tanto de las características del analito (punto de fusión y ebullición) como de la matriz. A veces, durante esta etapa, puede incorporarse un gas auxiliar para ayudar en la descomposición de la matriz. Si bien la mayor parte de la matriz puede ser eliminada, materiales refractarios como óxidos de metales pueden permanecer inalterados.
- ✓ **Atomización:** En esta etapa el horno es calentado rápidamente a altas temperaturas (1800 – 2800 °C) para terminar de volatilizar los residuos de la pirólisis y producir la nube atómica del analito. En este paso se mide la absorción de radiación emitida por la fuente por los átomos del analito. La temperatura de atomización es propia de cada elemento. Cuanto mayor sea la separación de los elementos concomitantes del analito, mejor será la atomización y la determinación estará más libre de interferencias. Hay que tomar la precaución de no usar temperaturas excesivamente elevadas para no tener pérdidas de analito y para prolongar la vida útil de los tubos de grafito.

- ✓ **Limpieza:** Luego de la atomización el tubo de grafito debe ser calentado a una temperatura algo superior de forma de eliminar cualquier residuo de muestra antes de comenzar el próximo análisis.

Las condiciones de temperatura dependen del elemento y de la matriz en que se encuentre. Si se tiene que analizar el mismo elemento en matrices diferentes debe realizarse nuevamente la optimización. Para la pirolisis usualmente es deseable utilizar la mayor temperatura que sea posible sin que ocurra la vaporización del analito. Durante este proceso generalmente se usa una velocidad de calentamiento moderada, entre 50-200 °C s⁻¹. La optimización de la temperatura de pirolisis se realiza mediante la medida de la absorbancia de un patrón o muestra a una temperatura fija de atomización variando la temperatura de pirolisis. Por lo general se trata de utilizar temperaturas de al menos 1000 °C para minimizar interferencias. Para optimizar la temperatura de atomización se procede de forma análoga a la pirolisis, fijando su temperatura y variando la temperatura de atomización. Las temperaturas óptimas serán aquellas en las que se obtiene la mayor señal. Para una correcta visualización de los datos se construyen las curvas de pirolisis y atomización con los datos de absorbancias integradas (área de pico) en función de las temperaturas correspondientes [129].

En las técnicas de espectrometría de absorción atómica pueden presentarse dos tipos de interferencias: espectrales y no espectrales. Las interferencias no espectrales, también llamadas interferencias químicas, son aquellas que afectan la etapa de atomización por formación de compuestos refractarios, ionización entre otras [41, 44, 128].

Las interferencias espectrales son aquellas en las que hay más especies absorbentes además del analito. La más común es la absorción de fondo, que surge de la eliminación incompleta de la matriz. Particularmente en ETAAS, la absorción de fondo puede darse frecuentemente, y han surgido diferentes alternativas para corregirla. Una de las correcciones más utilizadas es la corrección basada en el efecto Zeeman.

El efecto Zeeman es el cambio de los niveles electrónicos de energía de un átomo cuando éste se expone a la acción de un campo magnético. El campo magnético interacciona con el analito desdoblado sus niveles de energía y produciendo un cambio en el espectro atómico del elemento: la señal de absorción única se desdobra en dos o más componentes simétricamente dispuestos en torno a la posición normal de absorción. Ahora bien, el espectro de absorción de fondo no es usualmente afectado por campos magnéticos. En la **Figura 2.5** se presenta un esquema de un espectrómetro de absorción electrotérmica con corrección de fondo por efecto Zeeman.

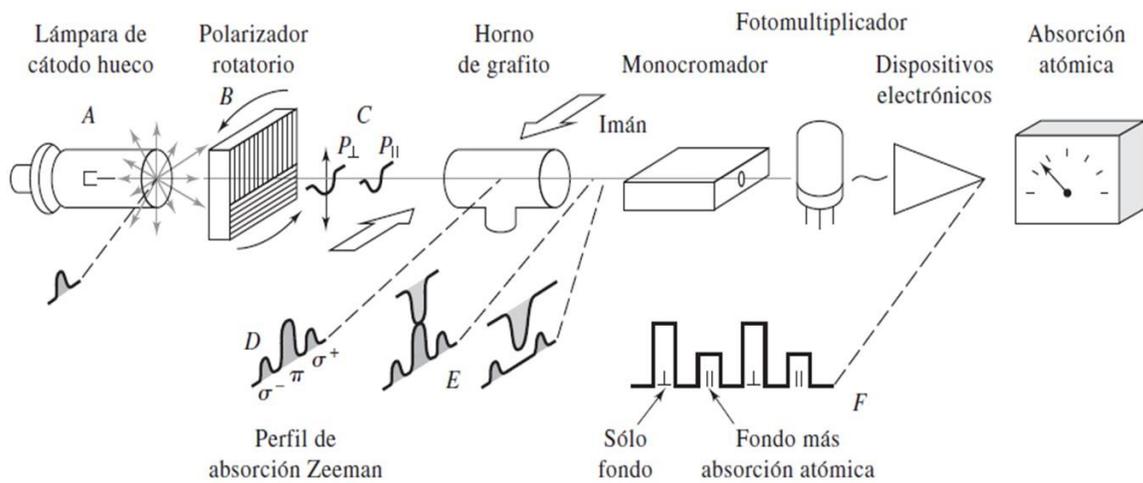


Figura 2. 5 Esquema de espectrómetro de absorción atómica electrotrémica con corrección de fondo por efecto Zeeman [44].

El sistema de corrección consiste en colocar un electroimán alrededor del tubo de grafito y hacer las medidas de absorción alternadas con el imán apagado (absorbancia total no corregida) y con el imán prendido (sólo fondo).

2.1.4 Dureza

La dureza total se define como la suma de concentración de iones calcio y magnesio expresada como mg L^{-1} de CaCO_3 . Se determina mediante titulaciones complejométricas a pH 10 con ácido etilendiaminetetraacético (EDTA) como valorante y Negro de Eriocromo T (NET) como indicador [130].

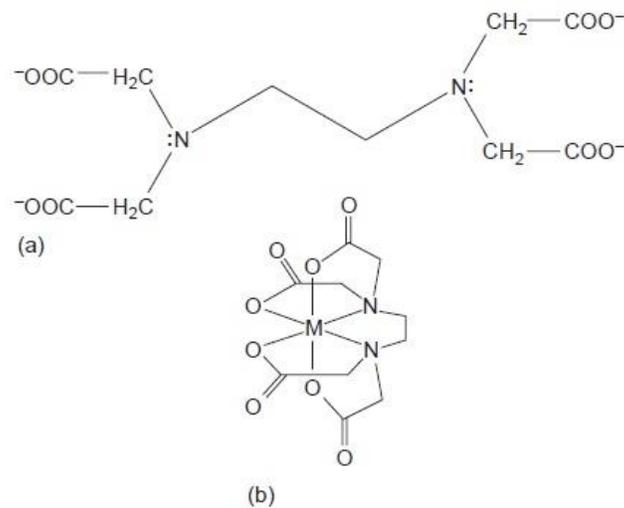


Figura 2. 6 Estructura del EDTA y de un complejo Metal-EDTA. Figura adaptada de [18]

El EDTA es un ácido aminocarboxílico tetraprótico (H_4Y) que tiene la capacidad de formar complejos muy estables con cationes metálicos (**Figura 2.7**). En la determinación de Ca y Mg al trabajar a pH suficientemente básico, éste se desprotona quedando la forma Y^{4-} libre en solución para la complejación. El NET es un indicador metalocrómico, de color rojo cuando está unido al catión metálico y de color azul cuando está libre. A medida que transcurre la valoración el EDTA va desplazando al NET de su unión con el metal, por lo que el punto final de la valoración se evidencia por el cambio a color azul que indica que el metal fue desplazado totalmente de su unión con el indicador. La reacción de valoración puede describirse como: $M^{n+} + Y^{4-} \rightleftharpoons MY^{n-4}$ [18].

2.2 Desarrollo de la metodología

2.2.1 Equipos

Todas las determinaciones analíticas se realizaron en un espectrómetro de absorción atómica con atomización electrotrémica Thermo Scientific iCE-3500 (**Figura 2.7**) (Cambridge, Reino Unido) equipado con un atomizador de horno de grafito calefaccionado longitudinalmente (GFS35Z), módulo auto-sampler (GFS33) y con corrección de fondo basada en efecto Zeeman. Como fuente de radiación se utilizó una lámpara de cátodo hueco de Mo Photron (Victoria, Australia). Todas las medidas se llevaron a cabo en tubos de grafito de vida extendida ELC (Thermo Scientific). El espectrómetro fue controlado mediante el software SOLAAR (Thermo Scientific, Cambridge, Reino Unido). Se empleó gas argón 99,998% (Linde, Montevideo, Uruguay), el cual fue usado como gas de purga y protector. La evaluación de las señales y cuantificación fue realizada utilizando la absorbancia integrada (área de pico).



Figura 2. 7 Espectrómetro de absorción atómica con atomización electrotrémica Thermo iCE 3500.

2.2.2 Muestras

Las aguas superficiales presentan valores de fuerza iónica variables que dependen del lugar del que proviene la muestra, en particular del suelo o sedimentos que están en contacto con ellas. En las aguas subterráneas, la variabilidad de la fuerza iónica es mucho mayor y en general aumenta con la profundidad debido a la mayor concentración total de iones. En este trabajo se utilizaron muestras de aguas subterráneas poco profundas, que son aquellas que presentan en general baja fuerza iónica ($0 - 0,3 \text{ mol L}^{-1}$). Para establecer el intervalo real de los valores de fuerza iónica de las muestras se realizó la determinación de la dureza de las mismas según el método de referencia APHA 2340 C [130].

En relación a los elementos traza, los niveles de concentración son generalmente mayores en aguas subterráneas que en aguas superficiales. En las aguas poco profundas analizadas se espera que el Mo esté mayoritariamente como Mo(VI) (en zonas más profundas las condiciones son más reductoras y el Mo se une al S) [5, 131].



Figura 2. 8 Puntos de muestreo. (Extraída de <https://www.google.com.uy/maps>)

Se analizaron muestras de agua subterránea, proveniente de pozos y perforaciones de diferentes zonas del país con el objetivo de realizar una georreferenciación del contenido de Mo de las aguas e identificar aquellos puntos donde se encuentra este

elemento. Los diferentes puntos de muestreo pueden apreciarse en la **Figura 2.8**. Las muestras fueron colectadas en botellas de polietileno de 500 mL pre dosificadas con 1,5 mL de HNO_3 50 % (v/v) preparado a partir de HNO_3 concentrado (Merck, Alemania) y refrigeradas a 4°C hasta la realización del análisis por un período de tiempo no mayor a 30 días. El agregado de HNO_3 fue realizado con el objetivo de preservar los metales en solución hasta el momento del análisis.

Para todas las muestras se determinó la dureza y el contenido de Mo. En este capítulo se discuten solamente las muestras recogidas en el muestreo 1 realizado en 2014, en las que se analizó el contenido de Mo por medida directa en ETAAS. Las muestras recogidas en el muestreo 2, realizado en 2016, se analizaron por DLLME-ETAAS y los resultados se discuten más adelante.

2.2.3 Reactivos

Se utilizaron reactivos de calidad para análisis. Las disoluciones fueron preparadas usando agua de alta pureza obtenida a partir de un sistema de purificación Millipore Direct Q5 Merck (Sao Paulo, Brasil).

Las disoluciones de los estándares para la curva de calibración se prepararon a partir de la dilución apropiada del stock de 1000 mg L^{-1} de Mo preparado a partir de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Baker, EUA). Para las diluciones se utilizó HNO_3 0.1% (v/v) preparado a partir de HNO_3 concentrado (Merck, Alemania).

Para la determinación de la dureza de las muestras se utilizó una disolución de EDTA 0,01 mol L^{-1} preparada a partir de $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Vetec, Brasil), NH_3 (Merck, Alemania), NH_4Cl (Synth, Brasil), CaCO_3 (Sigma-Aldrich, Alemania) y NET (Negro de eriocromo T) 1% (solución sólida preparada en NaCl) (Merck, Alemania).

2.2.4 Optimización y validación de la metodología

Para la determinación directa de Mo en agua, si bien está reportado el uso de diferentes modificadores químicos como $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ y mezclas de ambos, ácido ascórbico, entre otros [57, 132], se realizaron las medidas sin modificador. Esta decisión se fundamentó en que se trata de un elemento muy refractario, por lo que no es factible que ocurran pérdidas por volatilización a las temperaturas de trabajo. También se consideró que como la matriz era relativamente sencilla, no ocasionaría problemas en la pirolisis.

A los efectos de optimizar el programa de temperatura, se realizaron las curvas de pirolisis y atomización que se muestran a continuación en la **Figura 2.9**. La temperatura de pirolisis se evaluó en un rango entre 1200-2100 °C incrementándose en intervalos de 100 °C y para ello la temperatura de atomización utilizada fue 2700 °C. Para optimizar la atomización se evaluaron temperaturas entre 2200-2800 °C, incrementándose en 100 °C hasta 2700 °C y en 50 °C hasta 2800 °C. Para estas medidas se utilizó una temperatura de pirolisis de 1600 °C. En ambos casos se utilizó un volumen de inyección de 20 µL y se realizó el secado a 100 °C durante 30 segundos.

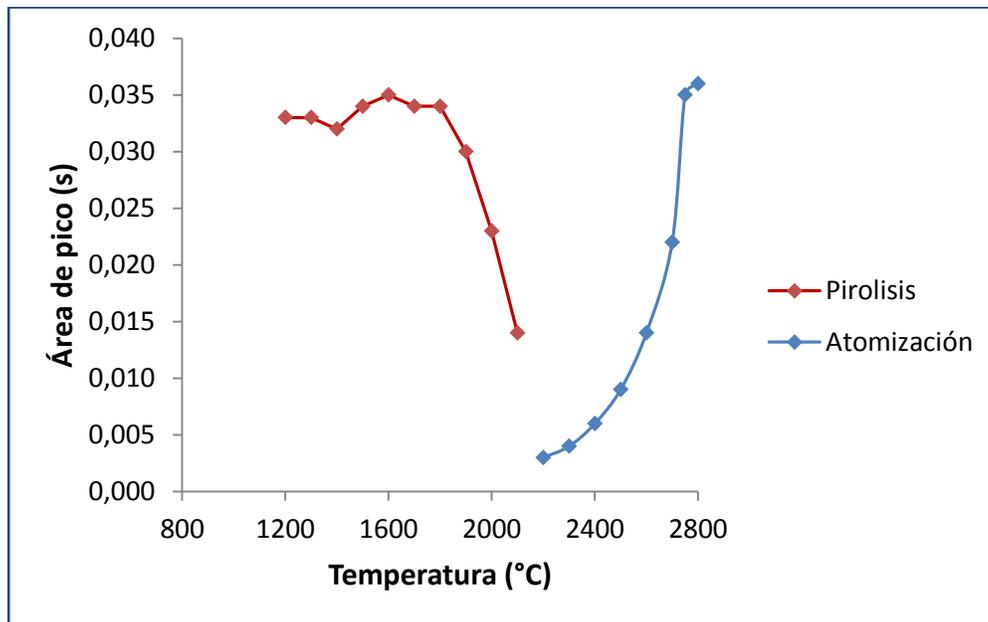


Figura 2. 9 Curva de pirolisis y atomización de Mo.

De las curvas se desprende que la temperatura óptima de pirolisis es 1600 °C y la de atomización se fijó en 2750 °C, considerando que la diferencia con la señal obtenida a 2800 °C no era significativa. Para la etapa de secado, al tratarse de agua, se estableció una rampa de temperatura de hasta 100 °C y para la limpieza 2850 °C. La temperatura de la etapa de limpieza debe ser lo suficientemente elevada, ya que este elemento puede formar carburos no volátiles en la superficie del grafito ocasionando efecto memoria que puede afectar a las medidas posteriores [57].

La validación de la metodología para la determinación directa de Mo en aguas naturales se realizó mediante la estimación de las siguientes cifras de mérito: precisión, linealidad, veracidad y límites de detección y cuantificación. Se estableció como criterio de aceptación para la precisión una repetibilidad evaluada como s_r (%) menor a 10 (considerando niveles de concentración muy bajos) y para la veracidad que la recuperación de las muestras fortificadas en dos niveles de concentración debía encontrarse entre 90 y 110 %.

El límite de detección fue calculado como $3s_b/b$, siendo s_b la desviación estándar correspondiente a la señal de 10 soluciones blanco y b la pendiente de la curva de calibración. Análogamente el límite de cuantificación fue determinado como $10s_b/b$.

La precisión fue estimada como la desviación estándar relativa de 10 medidas de disolución estándar en tres niveles de concentración: 5, 20 y 35 $\mu\text{g L}^{-1}$. La linealidad fue estudiada mediante la medida de 10 disoluciones estándar de Mo entre 0 y 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ y evaluada por inspección visual y el coeficiente de determinación R^2 .

2.2.5 Condiciones de trabajo

A partir de la optimización de la metodología se establecieron las condiciones operativas de trabajo que se resumen en la **Tabla 2.1**.

Longitud de onda (nm)	313,3			
Corriente de la lámpara (mA)	7,0			
Volumen de inyección (μL)	20			
Programa de temperatura				
Etapa	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C s}^{-1}$)	Tiempo de espera (s)	Flujo Ar (L min^{-1})
Secado	100	10	30	0,2
Pirolisis	1600	150	20	0,2
Atomización	2750	0	3	0,0
Limpieza	2850	0	3	0,2

Tabla 2. 1 Condiciones operativas de ETAAS para determinación directa de Mo en agua.

Las determinaciones analíticas se realizaron por adiciones estándar en dos niveles de concentración.

2.3 Resultados y discusión

En primera instancia se intentó realizar el análisis de las muestras utilizando calibración externa, pero las recuperaciones luego de las fortificaciones, en algunos casos, eran muy bajas, evidenciando alguna interferencia por parte de la matriz (**Tabla 2.2**).

Muestra	Dureza (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	[Mo] adicionada (µg L ⁻¹)	[Mo] encontrada (µg L ⁻¹)	Recuperación (%)
1-7	219,1	0,00	<0,30	49,5
		3,50	1,73	
		6,45	3,19	
1-10	329,0	0,00	<0,30	33,1
		3,75	1,14	
		7,21	2,58	
1-16	199,1	0,00	<0,30	32,7
		3,22	0,98	
		7,03	2,46	

Tabla 2. 2 Ensayos de recuperación en determinación de Mo por calibración externa.

El relevamiento de dureza de las muestras dio resultados muy dispares, entre 14 y 310 mg CaCO₃ L⁻¹, por lo que se trata de muestras con contenido de iones (especialmente Ca) muy distintos entre sí, lo que podría influenciar sobre todo la etapa de atomización. En el mecanismo de atomización del Mo hay pasos que involucran la formación de carburos como MoC (s) y Mo₂C (s) [133], un alto contenido de Ca podría interferir debido a que también forma carburos a la temperatura de atomización [134]. De acuerdo con la hipótesis planteada, las muestras que presentaron recuperaciones bajas presentaban durezas altas.

Las cifras de mérito estimadas en la validación de la determinación de Mo en agua por medidas directas en ETAAS se resumen en la **Tabla 2.3**.

Límite de detección (µg L ⁻¹)	0,30
Límite de cuantificación (µg L ⁻¹)	0,96
Rango lineal (µg L ⁻¹)	0,96 - 40
Repetibilidad s _r (%) (n =10)	<10
Recuperación de muestras fortificadas (%)	90-105

Tabla 2. 3 Cifras de mérito de la determinación directa de Mo por ETAAS.

En la **Tabla 2.4** se presentan los resultados de las determinaciones de la concentración de Mo y dureza correspondientes al muestreo 1.

Si bien en algunas muestras fue posible cuantificar Mo, la mayoría presentaron niveles de concentración menores a los límites de detección de la técnica utilizada para la determinación directa.

Muestra	Departamento	Ciudad	[Mo] ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Dureza ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$)
1-1	Rocha	Lascano	ND	---
1-2	Rivera	Vichadero	ND	51,8
1-3	Rivera	Moirones	ND	64,6
1-4	Rivera	Rivera	ND	14,0
1-5	Canelones	B. Horizonte	ND	149,1
1-6	Canelones	C. Alta	1,01	161,5
1-7	Paysandú	Barrio Baccino	<LOQ	219,1
1-8	Paysandú	Constancia	2,18	194,6
1-9	Paysandú	Quebracho	ND	194,0
1-10	Canelones	Totoral del Sauce	1,04	329,0
1-11	Salto	Estancia 1	ND	306,2
1-12	Salto	Estancia 2	<LOQ	305,8
1-13	Salto	Estancia 3	ND	---
1-14	Salto	Estancia 4	ND	287,3
1-15	Salto	Estancia 5	ND	304,1
1-16	Salto	Estancia 6	ND	199,1
1-17	Salto	Estancia 7	ND	305,2
1-18	Salto	Estancia 8	ND	25,0
1-19	Rivera	Rivera	ND	52,8
1-20	Rivera	Rivera	ND	25,3
1-21	Rivera	Rivera	ND	17,0
1-22	Soriano	Palmitas	2,41	---
1-23	Soriano	S. Catalina	ND	245,3
1-24	Canelones	S. Antonio	ND	301,0
1-25	Canelones	Sauce	1,14	310,9

Tabla 2. 4 Concentraciones de Mo determinadas por medida directa en ETAAS y dureza.

2.4 Conclusiones

En función de los resultados obtenidos, se hizo evidente la necesidad de desarrollar una metodología que incluya un paso de preconcentración previo a la detección por ETAAS para determinar exactamente el nivel de concentración de Mo en todas las muestras de aguas naturales.

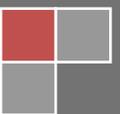
El amplio rango de valores de dureza de las diferentes muestras analizadas refleja la variedad de fuerza iónica de los sistemas acuáticos. Esto demuestra que en los diferentes escenarios naturales considerados, la presencia de iones puede ser de influencia en la determinación analítica del contenido total de Mo y también en las formas químicas presentes en cada muestra a analizar.



Capítulo 3

Desarrollo analítico de una metodología con preconcentración para la determinación de Mo en aguas naturales por ETAAS

En el presente capítulo se describe el desarrollo, optimización y validación de una nueva metodología para la determinación de Mo basada en una combinación de microextracción dispersiva líquido líquido y espectrometría de absorción atómica electrotérmica.



3.1 Descripción y fundamento de la metodología de trabajo

3.1.1 Optimización de metodologías analíticas

Durante la etapa de optimización es frecuente recurrir a los diseños experimentales de manera de recabar información útil a partir de un número lo más pequeño posible de experimentos, ahorrando tiempo e insumos de análisis. Cualquier aspecto de las condiciones experimentales que influya en el resultado final se define como factor y puede ser cualitativo o cuantitativo. Los diferentes valores que puede tomar un factor se definen como niveles. Para que la información proporcionada sea de utilidad y las conclusiones extraídas de los experimentos sean las correctas es necesario identificar de antemano los factores que influyen en el resultado, y si es posible controlarlos. En muchas técnicas analíticas la respuesta del sistema de medida depende de determinados factores experimentales que son controlados por el analista, por ejemplo pH, temperatura, concentración, entre otros. La búsqueda de los valores óptimos de esos factores se conoce como optimización [135]

La elección del diseño experimental depende de los objetivos del experimento y del número de factores a ser investigado. Independientemente del diseño seleccionado deben tenerse en cuenta los pasos que se indican en la **Figura 3.1** [136].

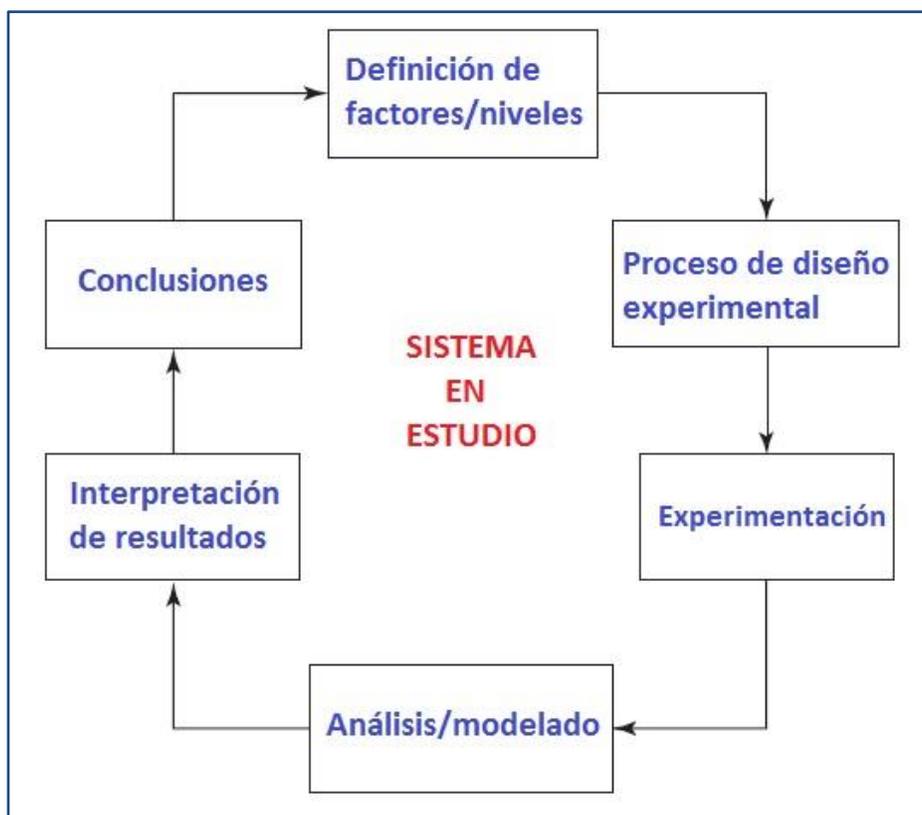


Figura 3. 1 Pasos del diseño experimental. (Figura adaptada de [136])

El método tradicional de experimentación, el que quizás surge de forma más intuitiva, es el univariado, que consiste en variar un factor cada vez. A partir de las condiciones iniciales se realizan experimentos en los cuales todos los factores se mantienen constantes excepto el que se está estudiando. De esta manera, la variación de la respuesta se atribuye a ese factor. Luego el procedimiento se repite para los otros factores. Con esta forma de diseño experimental, si se varían dos o más factores entre experimentos consecutivos, no es posible discernir a quién atribuir el cambio en la respuesta. Además, si son muchos los factores a evaluar, se requiere un número elevado de experimentos, por lo que no siempre es la elección más adecuada.

El diseño factorial es un tipo de diseño experimental generalmente muy económico, ya que ofrece gran cantidad de información útil a partir de pocos experimentos. Permite estudiar los efectos que pueden tener varios factores sobre una respuesta. Al realizar un experimento, el hecho de variar los niveles de todos los factores al mismo tiempo en lugar de uno a la vez permite estudiar las interacciones entre los factores. Involucra un cierto número de niveles de cada uno de los factores de interés. Un diseño factorial completo es un diseño en el cual se miden las respuestas con todas las combinaciones de los niveles de los factores. El número de corridas necesarias para un diseño factorial completo de 2 niveles, por ejemplo, es 2^k , donde k es el número de factores. A medida que aumenta el número de factores en un diseño factorial de 2 niveles, el número de corridas necesarias para ejecutar un diseño factorial completo aumenta rápidamente.

Un diseño fraccionado es un diseño en el cual sólo se realizan un subconjunto seleccionado o "fracción" de los experimentos del diseño factorial completo. Los diseños factoriales fraccionados son una opción adecuada cuando los recursos son limitados o el número de factores incluidos en el diseño es grande [137].

Cuando la respuesta de un sistema analítico depende de dos factores que son variables continuas, la relación entre la respuesta y los niveles de los dos factores puede ser representada por una superficie en tres dimensiones como se muestra en la **Figura 3.2**.

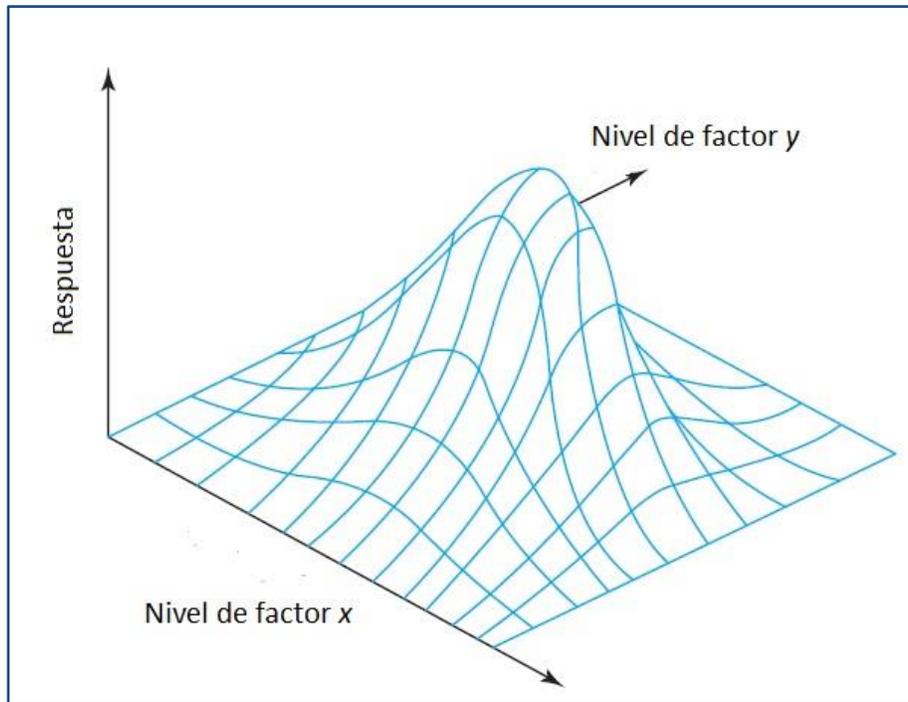


Figura 3. 2 Superficie de respuesta de dos factores. (Figura adaptada de [135])

Esta superficie es conocida como la superficie de respuesta, siendo el objetivo óptimo la parte superior de la "montaña" [135].

En particular, el diseño central compuesto, surge de la yuxtaposición de un diseño *estrella* con $2k + 1$ combinaciones de factores y un diseño factorial de dos niveles y k factores con 2^k combinaciones de factores, para dar un total de $2^k + 2k + 1$ combinaciones. El diseño estrella consta de un punto central alrededor del cual se disponen los otros puntos a una determinada distancia.

Cuando el centro de la estrella y del diseño factorial coinciden, el diseño se denomina "central". Este tipo de diseño se utiliza para modelar una variable de respuesta con curvatura al agregar puntos centrales y axiales (estrella) a un diseño factorial previamente ejecutado. Los niveles pueden representarse de varias formas. Generalmente el nivel + (o +1) indica el nivel más alto, el nivel - (o -1) indica el nivel más bajo y el 0 indica el nivel central.

A modo de ejemplo, la **Figura 3.3** muestra un diseño central compuesto de dos factores a dos niveles con $2 \times 2 + (2 \times 2) + 1 = 9$ condiciones experimentales [138].

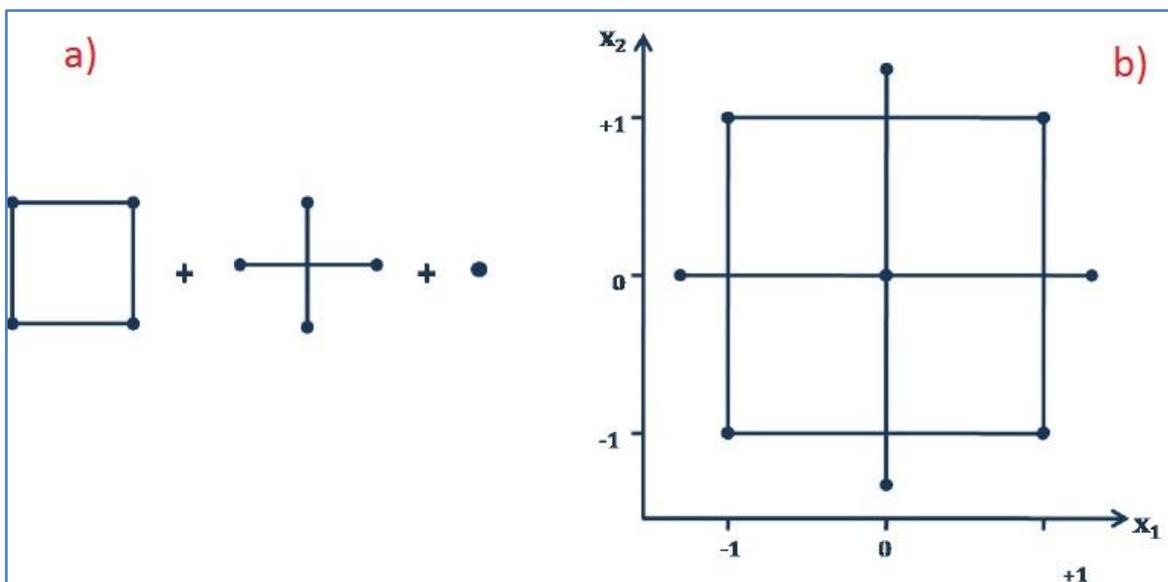


Figura 3. 3 Diseño central compuesto de dos factores: a) El diseño consiste de un diseño factorial 22 combinaciones, más un diseño estrella y el punto central. b) El diseño compuesto. (Figura adaptada de [138])

3.1.2 Microextracción dispersiva líquido líquido (DLLME)

Como técnica de preconcentración para Mo se eligió la microextracción dispersiva líquido líquido, que ha sido desarrollada en los últimos años para la preconcentración tanto de analitos orgánicos como inorgánicos en matrices acuosas. Es un tipo miniaturizado de extracción líquido líquido donde se usan volúmenes de solventes orgánicos del orden de los microlitros. Una mezcla apropiada de solventes (solvente de extracción y solvente dispersante) es rápidamente inyectada en una solución acuosa de la muestra que contiene al metal (analito) y a un ligando capaz de unirse a él. A su vez, éstos forman un complejo que es soluble en la fase orgánica. El solvente dispersante debe ser miscible con la fase acuosa y la orgánica. Luego de la inyección se produce una gran turbulencia, formándose una emulsión (se aprecia turbidez) debido a la dispersión del solvente de extracción en forma de pequeñas gotas que extraen con gran eficacia el complejo del metal. Luego de la formación de dicha emulsión, la superficie de contacto entre el solvente de extracción y la solución acuosa es muy grande, por lo el equilibrio se logra rápidamente y el tiempo de extracción del complejo hacia la fase orgánica es muy corto. De hecho, esta es la principal ventaja de la DLLME. Luego de la inyección se centrifuga y la fase que sedimenta contiene el analito extraído y éste se determina por técnicas analíticas convencionales [139].

Otras ventajas de DLLME incluyen simplicidad de operación, rapidez, bajo costo, alta recuperación, alto factor de enriquecimiento y es amigable con el ambiente al utilizar cantidades muy pequeñas de solventes orgánicos generando menos residuos [140].

La eficiencia de la extracción está directamente influida por la identidad y volúmenes de los solventes de extracción y dispersión. La selección del solvente de extracción adecuado es muy importante y se realiza en base a su densidad, capacidad de extracción del analito de interés y desempeño según la técnica de detección utilizada posteriormente. Los hidrocarburos halogenados como clorobenceno, cloroformo, tetracloruro de carbono y tetracloroetileno son los más utilizados como solvente de extracción debido a su alta densidad. Si bien es deseable que el solvente de extracción tenga densidad mayor a la de la fase acuosa para facilitar la separación, hay reportes de uso de solventes menos densos en los que se han desarrollado diversas estrategias para lograr la separación de fases, incluyendo separación por solidificación [141], adsorción en nanopartículas [142] así como también uso de solventes auxiliares [143].

En los últimos años se han investigado alternativas para reemplazar a los hidrocarburos halogenados, con el fin de disminuir su impacto en el ambiente y en la salud humana, y ha surgido el uso de los líquidos iónicos (ILs). Son sales formadas por cationes y/o aniones orgánicos con puntos de fusión muy bajos y son considerados como el reemplazo verde de los solventes orgánicos volátiles. Este tipo de sustancia tiene características físicas y químicas únicas, como por ejemplo, presión de vapor despreciable, no son inflamables y tienen buena capacidad de extracción de varios compuestos orgánicos e iones metálicos bajo forma de complejos neutros o cargados [144].

Para la elección del solvente dispersante es importante tener en cuenta que debe ser miscible con la fase acuosa y con el solvente de extracción. Los más utilizados son acetona, metanol y acetonitrilo.

El volumen de los solventes tiene influencia directa en la eficiencia de la extracción, y por lo tanto en la preconcentración. Al aumentar el volumen del solvente de extracción, si bien el volumen de la fase sedimentada obtenida por centrifugación aumenta, resulta en una disminución en la preconcentración por efecto de dilución. Por lo tanto, el volumen óptimo del solvente de extracción será aquel que garantice un volumen de fase orgánica adecuado para la detección con un nivel de preconcentración máximo. El volumen del solvente dispersivo afecta directamente el grado de dispersión del solvente de extracción en la solución acuosa, y posteriormente la eficiencia de la extracción. El volumen óptimo de solvente dispersante depende del volumen de muestra (fase acuosa) y el volumen del solvente de extracción [140].

Un parámetro importante a optimizar en DLLME es el pH del medio de reacción, ya que influye en la formación del complejo del metal para su posterior extracción en la fase orgánica.

El ligando seleccionado debe formar un complejo neutro con el metal a determinar, de forma que pueda ser extraído eficazmente. Por lo general se utilizan ligandos orgánicos que son ácidos débiles y reaccionan con los iones metálicos para formar complejos neutros que son solubles en solventes orgánicos. Asimismo, muchas veces estos ligandos presentan solubilidad limitada en agua y son solubles en solventes orgánicos [145].

A veces la adición de sales como NaCl es una medida efectiva para disminuir la solubilidad del analito en la fase acuosa y favorecer su pasaje a la fase orgánica [116].

Para la preconcentración de metales, la extracción puede realizarse de dos formas: primero realizando la complejación y luego inyectando la mezcla de solventes o inyectando el agente complejante junto a los solventes (ver **Figuras 3.4 y 3.5**) [146].

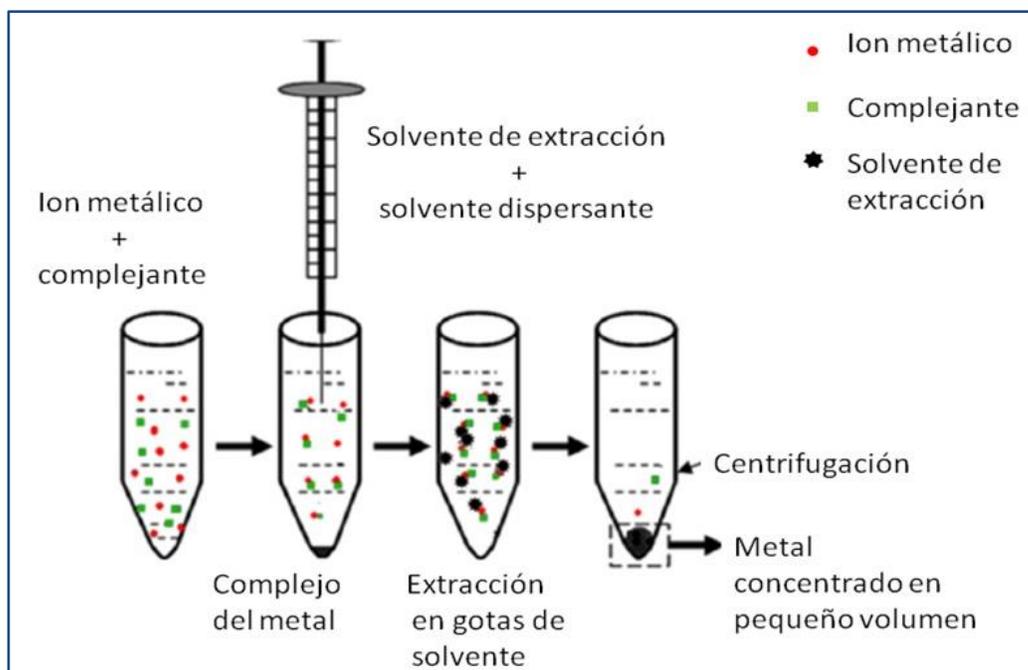


Figura 3. 4 Inyección de la mezcla de solventes luego de la formación del complejo del metal. (Figura adaptada de [146])

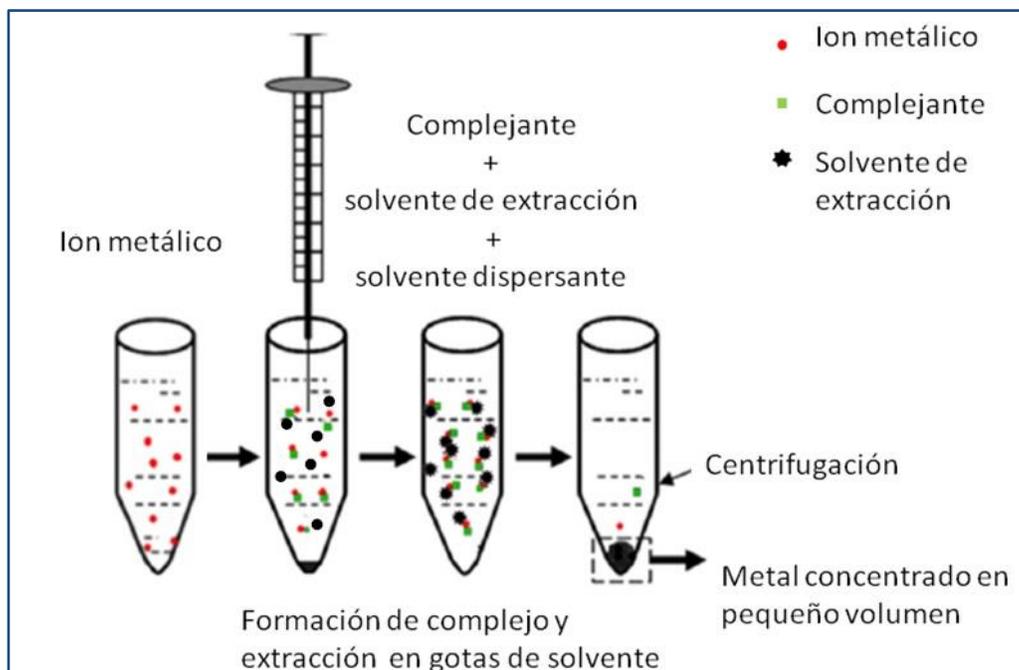


Figura 3. 5 Inyección simultánea de complejante y mezcla de solventes. (Figura adaptada de [146])

En el desarrollo del sistema de preconcentración por DLLME deben optimizarse parámetros experimentales como reactivo complejante (naturaleza, concentración y volumen), pH de trabajo (fundamental para la formación del complejo), identidad y volúmenes de solvente de extracción y solvente dispersante, tiempo de agitación, volumen de muestra, tiempo y velocidad de centrifugación.

Los agentes complejantes adecuados para Mo son aquellos que tienen como átomos donores oxígeno, azufre, nitrógeno y selenio. Deben ser moléculas que tengan al menos dos de estos átomos para poder formar así un quelato con Mo. Las posibles disposiciones de los enlaces de Mo como átomo central en el anillo y los átomos donores se muestran a continuación en la **Figura 3.6** [147]:

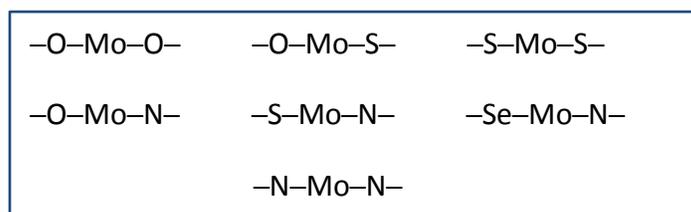


Figura 3. 6 Posibles disposiciones de Mo como átomo central [147].

Se ha estudiado la estabilidad de los complejos de Mo con ligandos que presentan los átomos donores mencionados anteriormente, lo que es importante desde el punto de vista práctico teniendo en cuenta la posterior extracción del complejo. Para Mo(VI) se

ha reportado que la unión Mo–S es más fuerte que la unión Mo–O, mientras que Mo(V) coordina mejor con O que con N [147].

La estabilidad del complejo de Mo con los diferentes ligandos depende de [147]:

- ✓ La naturaleza y número de átomos donores en la molécula de ligando, así como también de los sustituyentes que puedan estar presentes.
- ✓ El número de anillos formados, que es determinado por el número de átomos donores y su posición en el ligando.

Si bien existe una gran variedad de ligandos para Mo, la selección se realizó en base a un trabajo reportado previamente que utilizaba como agente complejante dietilditiocarbamato de sodio (SDDTC) [114]. La estrategia consistió en elegir otros ligandos, que desde el punto de vista de la formación de complejos, pudieran dar lugar a especies similares pasibles de ser extraídas en un solvente orgánico.

Se planteó la evaluación de agentes complejantes que no habían sido reportados hasta el momento asociados a DLLME. Para ello se realizó una búsqueda en la base de datos cristalográficos de los complejos neutros de Mo formados con ligandos similares al DDTC [148]. Ellos son 2-aminotiofenol y etilxantato de potasio (PEX), entre otros [147].

En la **Figura 3.7** se muestran las estructuras químicas de los ligandos mencionados anteriormente. Como puede apreciarse, se trata de ligandos con grupos donores S, S o S, N que pueden unirse al metal en forma monodentada o bidentada.

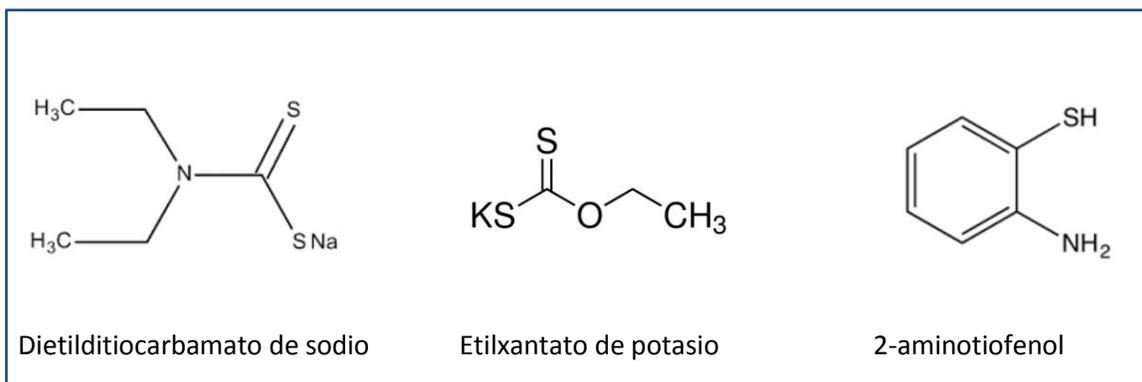


Figura 3. 7 Estructura de ligandos para Mo. (Estructuras extraídas de <http://www.sigmaaldrich.com>)

En la **Figura 3.8** pueden apreciarse las estructuras de los complejos de Mo y los posibles ligandos de trabajo.

Con dietilditiocarbamato de sodio se forma el complejo dioxo-(N, N-dietilditiocarbamato)-molibdeno(VI) [149] que presenta una relación estequiométrica Mo:ligando 1:2. Al reaccionar con etilxantato de potasio se obtiene como producto (μ_2 -oxo)-bis(oxo-(O-etilxantato-S,S')-molibdeno(V)) [150]. Este complejo también tiene relación estequiométrica Mo:ligando 1:2, pero se presenta en estructura de dímero unido por un puente oxo. Por último, está reportada la formación de un complejo mixto de Mo(V) con 2-aminotiofenol y dietilditiocarbamato de sodio [151].

Los complejos de Mo y dichos ligandos son neutros y pueden ser extraídos en solventes orgánicos como hexano, cloroformo, tetracloruro de carbono [147].

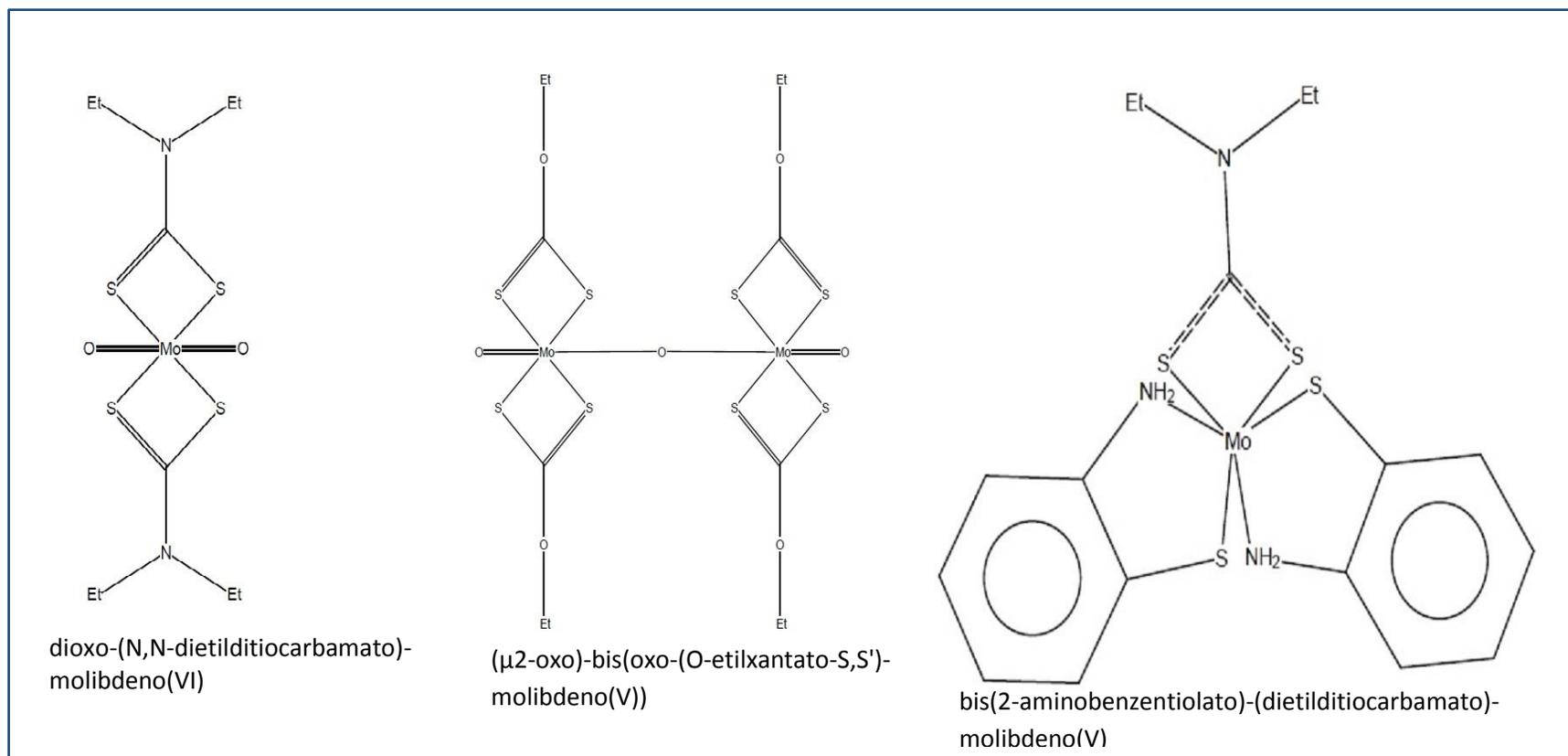


Figura 3. 8 Estructuras reportadas de complejos de Mo con ligandos de trabajo. (Figura adaptada de [149], [150], [151])

Entre los ligandos disponibles, se eligió el etilxantato de potasio (PEX) como agente complejante para Mo en la DLLME. Es un reactivo que ha sido estudiado anteriormente como ligando para varios metales, por lo que se cuenta con cierto conocimiento de la química de coordinación así como de la química en solución de este ligando [19, 148, 152]. El complejo Mo-EX (**Figura 3.8**) se puede obtener en medio muy ácido (pH menor a 2,5) a partir de Mo(V), aunque el complejo también puede formarse a partir de Mo(VI). En este caso el EX actúa simultáneamente como reductor y como ligando [147, 153]. El complejo Mo-EX es soluble en etanol, tetracloruro de carbono, cloroformo y 1-pentanol [152], siendo posible su extracción en uno de estos solventes. De hecho, ha sido reportada la determinación de Mo mediante la extracción del complejo Mo-EX en cloroformo seguida de la reacción con tiocianato y medida por espectrometría de absorción molecular en el visible [152].

Para fijar un punto de partida, al tratarse de un método de preconcentración en el que no se tenía experiencia previa, se tomó como referencia un trabajo anterior para la determinación de Mo en agua por DLLME-ETAAS que utilizaba dietilditiocarbamato de sodio como complejante [114]. En primera instancia, teniendo como base la optimización reportada en dicho trabajo, se realizó una adaptación de esta metodología a las condiciones y equipamiento de nuestro laboratorio. Luego de haber adquirido destreza en DLLME se procedió al desarrollo de la nueva metodología con PEX.

3.1.3 Espectrometría de masa con fuente de plasma (ICP-MS)

La espectrometría de masa con fuente de plasma fue seleccionada como método de referencia para evaluar la veracidad durante la etapa de validación de la metodología desarrollada en la tesis. En esta técnica de espectrometría atómica, la función del plasma es la de generar en primer lugar átomos libres y luego iones del analito, que luego serán analizados en el espectrómetro de masa. En la **Figura 3.9** se esquematiza el proceso de la muestra, desde la introducción hasta el análisis de masa.

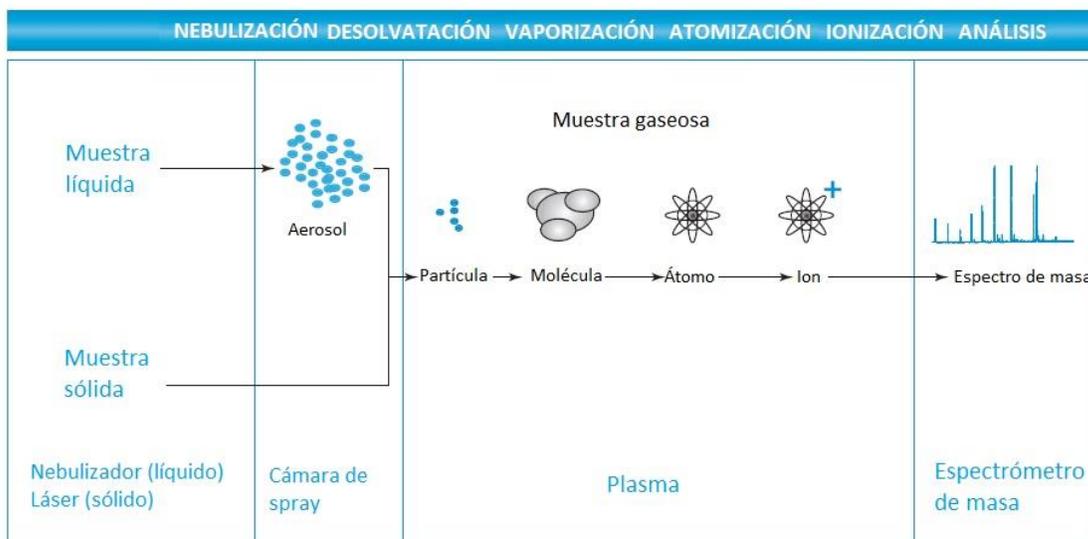


Figura 3.9 Representación esquemática del proceso de la muestra en el análisis por ICP-MS. (Figura adaptada y extraída de http://snri.ucmerced.edu/files/public/documents/ICPMS_A_Primer.pdf)

El plasma es una mezcla gaseosa conductora de la electricidad que contiene una concentración significativa de cationes y electrones, con carga neta aproximadamente cero. La fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP) es la más utilizada. En el plasma de Ar, que es el más usado, los iones Ar^+ y los electrones son las principales especies conductoras, aunque los cationes de la muestra también están presentes en menor cantidad. Los iones de argón son capaces de absorber suficiente energía de una fuente externa como para mantener la temperatura a un nivel tal (puede llegar a 10000 K) que la posterior ionización sustente al plasma indefinidamente [44]. El Ar es monoatómico, presenta alta energía de ionización y es químicamente inerte, por lo que emite un espectro simple, tiene la capacidad de excitar e ionizar a la mayoría de los elementos sin formar compuestos estables con los analitos en el plasma [154].

En la **Figura 3.10** puede apreciarse un esquema de una fuente de plasma de acoplamiento inductivo denominada antorcha. Está formada por tres tubos concéntricos de cuarzo a través de los cuales fluyen corrientes de Ar. Rodeando la parte superior se encuentra una bobina de inducción refrigerada por agua, que se alimenta de un

generador de radiofrecuencia. La ionización del Ar se inicia por medio de una chispa que proviene de una bobina Tesla. Los iones resultantes y sus electrones asociados interactúan con el campo magnético oscilante (H) producido por la bobina de inducción, resultando en un movimiento en trayectorias circulares. Como consecuencia de la resistencia que presentan iones y electrones a este movimiento se produce un calentamiento que hace necesario el aislamiento térmico del cilindro exterior de cuarzo, mediante una corriente tangencial de argón [44].

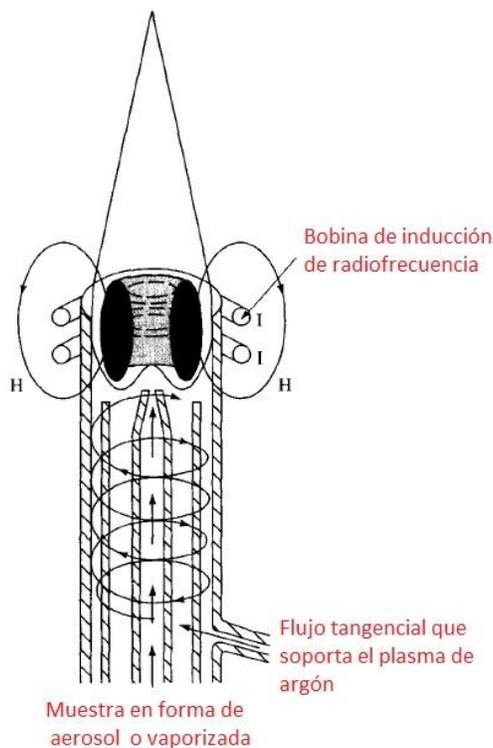


Figura 3. 10 Fuente de plasma de acoplamiento inductivo. (Figura adaptada de [44])

La muestra se introduce en la antorcha a través del tubo central de cuarzo mediante una corriente de argón. La introducción de la muestra es una de las etapas clave en los análisis por ICP-MS. Los dispositivos más utilizados son los nebulizadores neumáticos, donde la muestra se nebuliza mediante un flujo cruzado con una corriente de Ar, se seleccionan las gotas por tamaño, siendo las más pequeñas introducidas en el plasma (Figura 3.11).

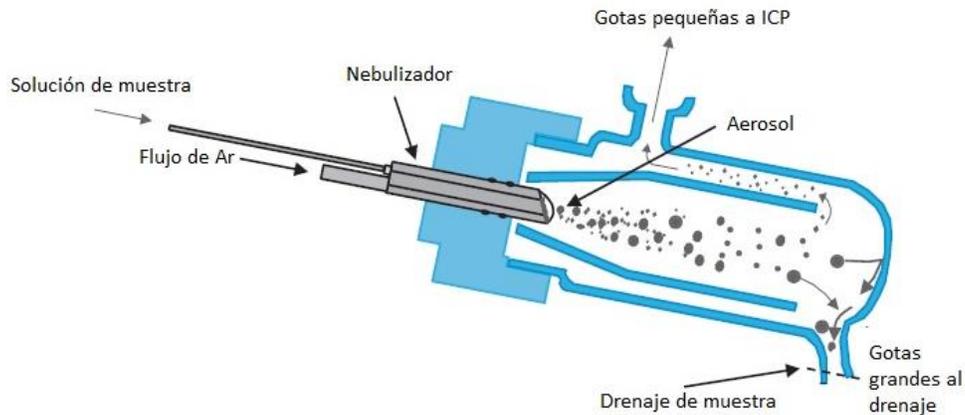


Figura 3. 11 Esquema de una cámara de nebulización. (Figura adaptada y extraída de http://snri.ucmerced.edu/files/public/documents/ICPMS_A_Primer.pdf)

En el plasma se originan los iones positivamente cargados que luego serán analizados por el espectrómetro de masa. Se requiere una interfase (Figura 3.12) para pasar de la atmósfera a alta presión del plasma a la atmósfera de vacío de un analizador de masas. El gas que contiene los iones del analito es transportado a través de una serie de cámaras (conos) con pequeños orificios hacia el área de baja presión. Para que este transporte sea efectivo la antorcha del plasma se dispone en posición horizontal [154].

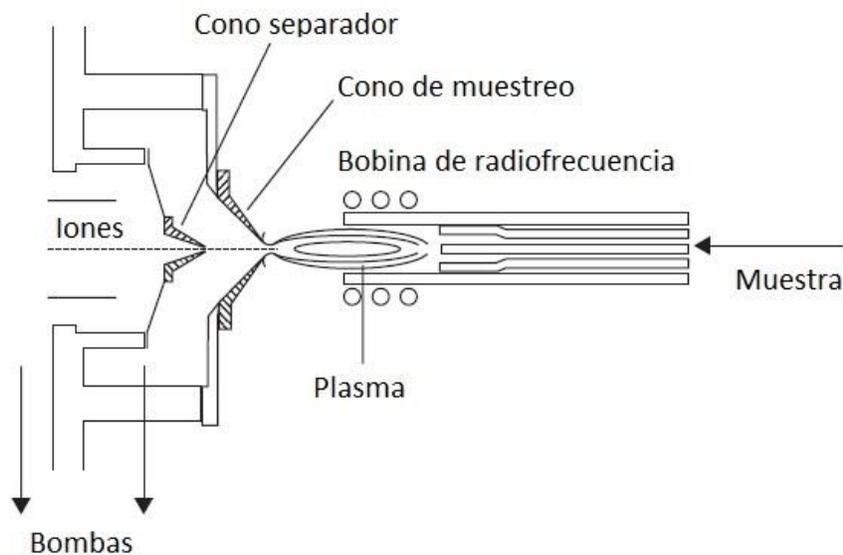


Figura 3. 12 Esquema de interfase de ICP-MS. (Figura adaptada de [154])

Una vez dentro del espectrómetro de masas los iones provenientes del plasma son acelerados para incrementar su energía cinética.

Los analizadores de masa cumplen las funciones de separar los iones en función de la relación m/z (masa/carga) y medir la abundancia relativa de los iones de cada masa. El

espectro de masa se genera mediante el registro del número relativo de iones de diferentes relaciones m/z característicos del analito [154].

El cuadrupolo (**Figura 3.13**) es el analizador de masa más utilizado.

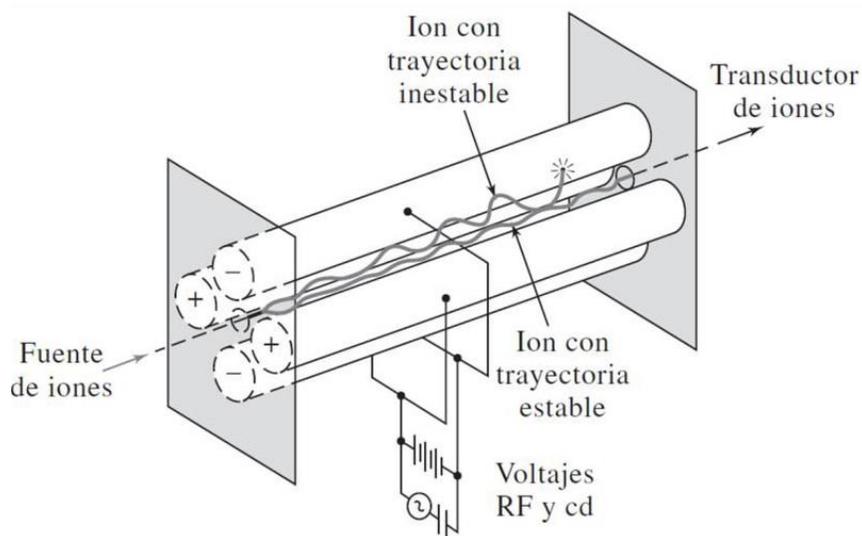


Figura 3. 13 Esquema de un cuadrupolo [44].

Está formado por cuatro barras cilíndricas paralelas que actúan como electrodos. Las barras opuestas se conectan eléctricamente, un par al polo positivo de una fuente variable de corriente continua y el otro par al terminal negativo. Además, se aplican a cada par de barras potenciales variables de corriente alterna de radiofrecuencia que están defasados 180 grados. Los iones se aceleran en el espacio entre las barras mediante la aplicación de un potencial. Todos los iones, excepto aquellos que tengan un determinado rango de relación m/z , inciden en las barras y se convierten en moléculas neutras. Por lo tanto, sólo los iones cuyo valor de m/z estén dentro de un intervalo determinado alcanzarán el detector.

Existen otros analizadores de masa, como tiempo de vuelo (TOF), donde los iones acelerados pasan a un tubo analizador que no está sometido a ningún campo. Como todos los iones que entran al tubo idealmente tienen la misma energía cinética, las velocidades deben variar en forma inversa con la masa [44, 154].

Entre los detectores, el más utilizado es el multiplicador de electrones (**Figura 3.14**). Los dínodos tienen superficies de Cu/Be que emiten ráfagas de electrones cuando impactan iones de elevada energía. Existen canales de detección con hasta 20 dínodos. Cada dínodo está a un potencial más alto que el anterior y a medida que los electrones van

impactando en los dínodos siguientes se produce la liberación de más electrones produciendo el efecto de multiplicación [44].

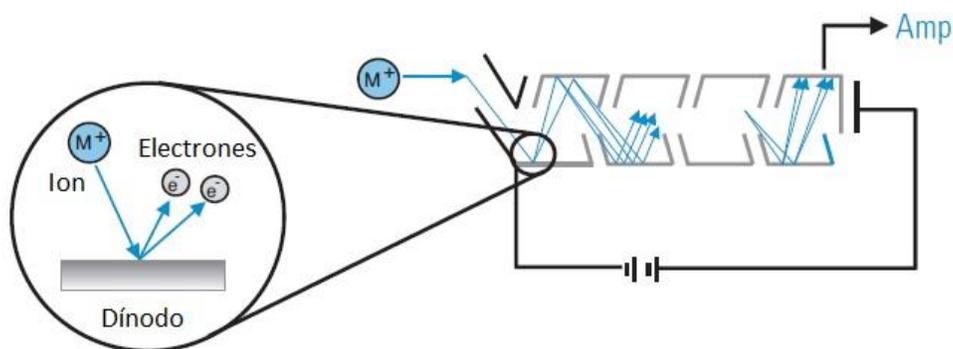


Figura 3. 14 Esquema de multiplicador de electrones. (Figura adaptada y extraída de http://snri.ucmerced.edu/files/public/documents/ICPMS_A_Primer.pdf)

3.2 Desarrollo analítico de metodología DLLME/ETAAS

3.2.1 Desarrollo de DLLME con DDTC como complejante

3.2.1.1 Equipos

Las determinaciones de la concentración de Mo se realizaron en el espectrómetro de absorción atómica con atomización electrotérmica Thermo Scientific iCE-3500 descrito en la sección 2.2.1. Las inyecciones en el horno de grafito fueron realizadas manualmente con una jeringa de vidrio de 10 μ L (Hamilton, EUA) provista de un tubo de polietileno de 0,5 mm de diámetro interno ajustado a la aguja de manera de evitar el contacto de la solución a inyectar con el metal. Las evaluaciones de las señales se realizaron como se detalla en 2.2.1.

Las medidas de pH se realizaron con pHímetro ADWA AD 1020 (Szeged, Hungría) utilizando un electrodo combinado de pH Thermo Scientific ORION Recorder 9106BNWP.

La mezcla de la disolución del agente complejante y los solventes de extracción y dispersión se inyectó con una jeringa de vidrio Hamilton (EUA) de 2 mL. Durante la optimización, la agitación se realizó en forma manual y con vórtex Qilinbeier 5 (Hangzhou, China). La separación de fases se realizó utilizando una centrífuga Luguimac LC-15 (Buenos Aires, Argentina).

3.2.1.2 Reactivos

La solución stock de Mo (1000 mg L^{-1}) fue preparada a partir de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ como se indicó en la sección 2.2.3. Esta solución fue usada para preparar diariamente los estándares de trabajo mediante diluciones con agua purificada.

Las soluciones de complejante fueron preparadas disolviendo cantidades apropiadas de dietilditiocarbamato de sodio trihidratado (Sigma Aldrich, EUA) en agua. La sal sódica se representa como SDDTC, mientras que el anión de dicha sal que se emplea como ligando se representa en forma abreviada DDTC. Como solvente dispersante se utilizó acetona (Dorwill, Argentina) y como solvente de extracción tetracloruro de carbono (Merck, Alemania). La acidez de los estándares de trabajo y las muestras fue regulada con HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparado a partir de HCl concentrado (Merck, Alemania) y NaOH (Baker, EUA) $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ respectivamente.

Todo el material de laboratorio y de muestreo fue previamente descontaminado con HNO_3 10 % (v/v) durante la noche y enjuagado exhaustivamente con agua purificada.

Se emplearon las muestras del muestreo 2 tal como se describe en 2.2.2.

3.2.1.3 Optimización y validación de la metodología

Luego de la etapa de preconcentración, lo que se inyecta en el horno de grafito es una solución del complejo de Mo en un solvente orgánico. Al tratarse de una matriz diferente, fue necesario optimizar las condiciones operacionales para las determinaciones en ETAAS. Para evitar las proyecciones, se realizaron dos ciclos de secado (el primero a baja temperatura) y por un tiempo más prolongado. Se realizó una nueva optimización de la temperatura de pirólisis considerando que se pasó a trabajar con una matriz orgánica (**Figura 3.15**). Se realizó la evaluación en un rango entre $1000\text{-}1600 \text{ }^\circ\text{C}$ incrementándose en intervalos de $100 \text{ }^\circ\text{C}$ y se utilizó un volumen de inyección de $20 \mu\text{L}$.

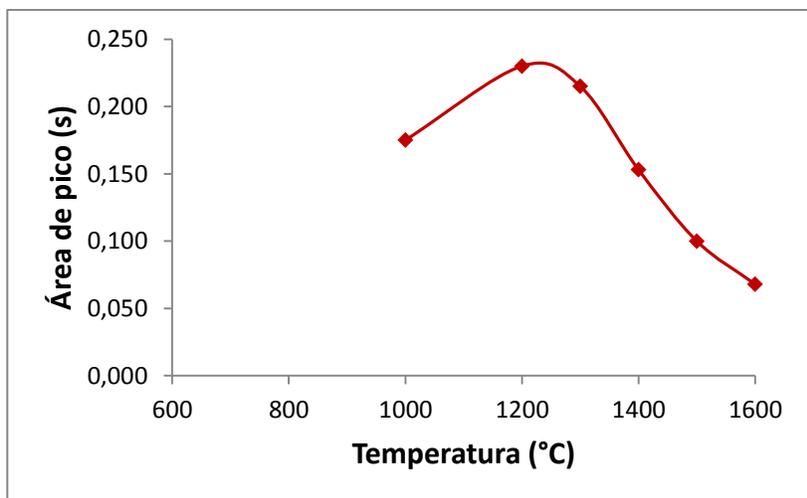


Figura 3. 15 Curva de pirolisis para determinación de Mo mediante DLLME.

La temperatura de atomización se mantuvo, teniendo en cuenta que se trata de un elemento muy refractario. Además, los reportes previos de determinación de Mo en agua por DLLME–ETAAS [114-116], a pesar de trabajar con diferentes espectrómetros, emplean temperaturas de atomización que están en el mismo rango que la utilizada en esta tesis. Se observó un efecto memoria importante, ya que entre inyecciones de una misma solución las señales aumentaban mucho. Esto indicaba que no se estaba dando una atomización completa del Mo en cada inyección. Está reportado el efecto memoria de Mo en las determinaciones directas por ETAAS [57] debido a la formación de carburos refractarios con el carbono del tubo de grafito. Es de destacar que en este caso, además, este elemento se encontraba como complejo disuelto en un solvente orgánico. A raíz de lo anterior, si bien se mantuvo la temperatura de atomización, se aumentó el tiempo hasta 5 segundos para asegurar una atomización completa. Asimismo, se realizaron ciclos de limpieza extra para asegurar la eliminación de dicho efecto.

Se realizaron, a partir de las condiciones del trabajo previo reportado para DDTC [114], experimentos univariados para optimizar el volumen de muestra, el pH de trabajo, la concentración de complejante y el volumen de solventes de dispersión y extracción.

A continuación se describe el procedimiento general tomado como base:

En un tubo de polipropileno de 15 mL y de fondo cónico se añaden 12,00 mL de solución de Mo $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ + 60 μL de solución de SDDTC $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ + 1 mL acetona con 60 μL HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + 30 μL CCl_4 . Luego se agita manualmente durante un minuto, se centrifuga un tiempo de 2 minutos a 4000 rpm y se inyectan 10 μL de la fase orgánica en el horno de grafito.

A partir de los experimentos univariados realizados, el volumen óptimo de muestra se fijó en 6,00 mL. Con este volumen de trabajo se apreciaba claramente la turbidez y se recuperaba un volumen adecuado de fase orgánica. Si se utilizaban volúmenes mayores no se recuperaba la fase orgánica luego de la centrifugación y con volúmenes menores no se apreciaba la turbidez. Cabe aclarar que se trabajó con una velocidad máxima de centrifugación de 3000 rpm, inferior a la utilizada en el trabajo original.

Los autores del trabajo original reportaron como óptimo un rango de pH de trabajo entre 3,5 y 5. Para este caso, se obtuvo mayor sensibilidad trabajando a valores de pH en el intervalo 3-3,5. Para lograr esto se adicionaron 15 μL de HCl 0,1 mol L^{-1} directamente a las disoluciones estándar de trabajo previo al agregado de la mezcla de complejante y solventes. En el caso de las muestras, teniendo en cuenta que son acidificadas para su conservación, se debió realizar ajuste de pH con NaOH 1,0 mol L^{-1} previo al análisis.

La máxima sensibilidad se obtuvo utilizando una solución de SDDTC 0,05 mol L^{-1} . Se comenzó a trabajar con la concentración reportada de SDDTC (5×10^{-5} mol L^{-1}), pero se obtuvieron picos poco intensos y muy irregulares.

El volumen optimizado de tetracloruro de carbono es de 50 μL , observándose claramente la turbidez y recuperando un volumen adecuado de fase orgánica. Con volúmenes menores (30 – 40 μL) no se observó prácticamente formación de turbidez y luego de centrifugar no se recuperaba adecuadamente la fase orgánica. Con volúmenes mayores (60 – 70 μL), si bien los volúmenes de fase orgánica recuperados aumentaron, se observó disminución de la señal posiblemente por efecto de dilución.

El volumen de acetona fue fijado en 1,0 mL para todas las extracciones. Se realizaron pruebas con volúmenes de acetona entre 0,50 y 2,0 mL. Con 0,5 mL no se aprecia la turbidez luego de inyectar los solventes, por lo que la extracción no es eficiente. Se aprecia claramente la formación de turbidez a partir de 1,0 mL. Con este volumen se obtiene también la mayor sensibilidad. Con volúmenes mayores las señales descienden levemente.

En una primera instancia se trabajó con agitación manual (1 minuto) y luego utilizando vórtex (20 segundos). Se observó que con la turbulencia que se producía al inyectar la mezcla era suficiente para apreciar claramente la turbidez debida a la dispersión del solvente de extracción. Se hicieron extracciones con agitación manual, con vórtex y sin agitar y no se observaron diferencias significativas en las señales obtenidas. En base a ello se eliminó la agitación y se pasó directamente a la centrifugación luego de la inyección.

Se realizaron experimentos con tiempos de centrifugación entre 1 y 5 minutos a 3000 rpm. Los resultados mostraron que con 3 minutos es suficiente para obtener el volumen máximo de fase orgánica (35 μL), por lo que este tiempo fue elegido para todas las extracciones.

Luego de la optimización se realizó la validación de la metodología mediante la estimación de las siguientes cifras de mérito: límites de detección y cuantificación, rango lineal, precisión y veracidad. Adicionalmente, para evaluar el grado de preconcentración, se determinó el factor de enriquecimiento (FE) como el cociente de las pendientes de las curvas de calibración del método con preconcentración y el método de medida directa. Se estableció como criterio de aceptación para la precisión una repetibilidad evaluada como s_r (%) menor a 20 (considerando niveles de concentración muy bajos) y para la veracidad que la recuperación de las muestras fortificadas debía encontrarse entre 85 y 115 %.

Los límites de detección y cuantificación fueron determinados como se describió anteriormente a partir de la medida de 10 soluciones blanco. La precisión fue estimada como la desviación estándar relativa de 10 medidas de solución estándar $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$. La linealidad fue estudiada mediante la medida de 7 soluciones estándar de Mo entre 0 y $2 \mu\text{g L}^{-1}$ y evaluada por inspección visual y el coeficiente de determinación R^2 .

3.2.1.4 Condiciones de trabajo

Las condiciones operativas de medida en ETAAS se resumen en la **Tabla 3.1**.

Longitud de onda (nm)	313,3			
Corriente de la lámpara (mA)	7,0			
Volumen de inyección (μL)	10			
Programa de temperatura				
Etap	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C s}^{-1}$)	Tiempo de espera (s)	Flujo Ar (L min^{-1})
Secado	70	10	15	0,2
Secado	100	15	15	0,2
Pirolisis	1200	100	10	0,2
Atomización	2750	0	5	0,0
Limpieza	2850	0	2	0,2

Tabla 3. 1 Programa de temperatura de ETAAS para la determinación de Mo con preconcentración.

Las extracciones se llevaron a cabo según el procedimiento optimizado que se detalla a continuación:

En un tubo de polipropileno de 15 mL y fondo cónico se añaden 6,00 mL de estándar o muestra y se ajusta el pH a 3,5. En el caso de los estándares el ajuste se logra con 15 μL

de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ y para las muestras con $45 \text{ }\mu\text{L}$ de NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Una mezcla ternaria formada por $60 \text{ }\mu\text{L}$ de una solución de SDDTC $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (complejante), $50 \text{ }\mu\text{L}$ de tetracloruro de carbono (solvente de extracción) y 1 mL de acetona (solvente de dispersión) es rápidamente inyectada con una jeringa de vidrio. Inmediatamente se aprecia la formación de una mezcla opalescente y el complejo Mo-DDTC es extraído en las pequeñas gotas de tetracloruro de carbono dispersadas en la mezcla. Luego se centrifuga a 3000 rpm durante 3 minutos . La mayor parte de la fase acuosa se separa con una jeringa de plástico de 5 mL y $10 \text{ }\mu\text{L}$ de la fase orgánica se inyectan manualmente en el tubo de grafito.

En cada día de trabajo las extracciones fueron realizadas por triplicado y también se realizó triplicado de blancos de reactivo.

En la **Figura 3.16** se presenta un resumen del procedimiento optimizado para la determinación de Mo en aguas naturales por DLLME y ETAAS con DDTC como complejante.

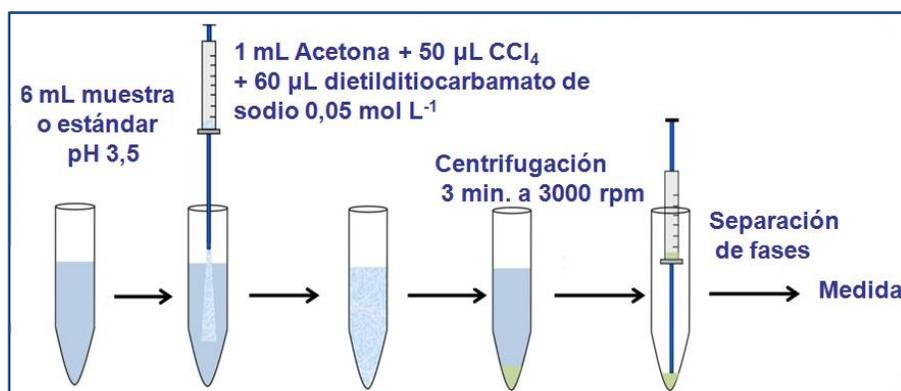


Figura 3. 16 Esquema del procedimiento general de determinación de Mo por DLLME y ETAAS con DDTC como complejante.

3.2.2 Desarrollo de DLLME con EX como complejante

3.2.2.1 Equipos

Las determinaciones de la concentración de Mo se realizaron en el espectrómetro de absorción atómica con atomización electrotérmica Thermo Scientific iCE-3500 descrito en 2.2.1 y la evaluación de las señales se realizó como se detalla en la misma sección. Las inyecciones en el horno de grafito fueron realizadas manualmente con una jeringa de vidrio de $100 \text{ }\mu\text{L}$ (Hamilton, EUA) como se describió en 3.2.1.1.

Para mecanizar parcialmente el proceso de extracción, la mezcla ternaria (solución de ligando y solventes de extracción y dispersión) fue inyectada con una bomba de jeringa Tecan Cavro XP 3000 (Suiza) provista de una jeringa de 5 mL y controlada desde una

notebook a través de un puerto serial RS-232 y software Terminal. Para realizar la inyección se utilizó un capilar de alúmina de 0,5 mm de diámetro interno.

En la **Figura 3.17** se muestra en detalle el sistema de inyección mecanizado.

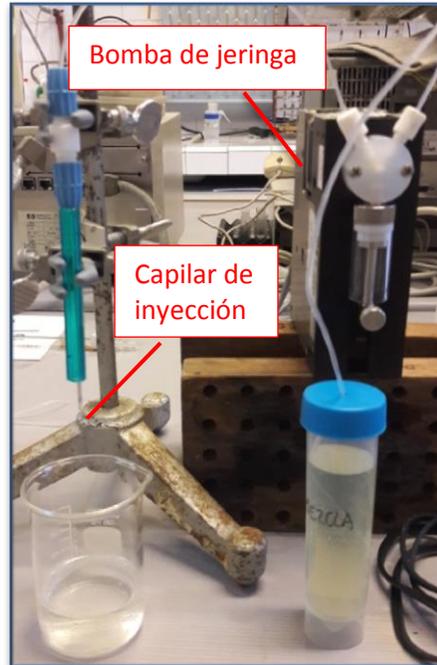


Figura 3. 17 Sistema de inyección.

Tanto el ajuste de pH, como la separación de fases se realizaron con los instrumentos detallados en 3.2.1.1.

En la **Figura 3.18** puede observarse la separación de la fase orgánica.



Figura 3. 18 Separación de fases.

Con el objetivo de visualizar y entender el proceso de dispersión del solvente de extracción en la solución acuosa se realizaron filmaciones de las inyecciones en diferentes condiciones de velocidad y a diferentes distancias de la superficie de la solución. Estas filmaciones fueron llevadas a cabo en el Laboratorio de Inestabilidad de Fluidos del Instituto de Física de la Facultad de Ingeniería (UDELAR) utilizando una cámara Photron Fast cam mini UX 100 (San Diego, EUA). La filmación se realizó a una distancia de 1,5 m, zoom 205, 200 fps (cuadros por segundo), img (imagen) 1280 x 400.

La determinación elemental de Mo por ICP-MS empleada como método de referencia de este trabajo se realizó en el Laboratorio de Espectrometría de Masas de la Universidad de San Luis, Argentina por el Sr. Franco Moyano. Para ello se utilizó un espectrómetro de masas con plasma acoplado inductivamente Perkin-Elmer SCIEX, ELAN DRC-e (Thornhill, Canadá). El gas argón con una pureza del 99,996% fue suministrado por Air Liquide S.A. (Córdoba, Argentina). El sistema de introducción de muestras estaba dotado por un equipo de nebulización resistente a ácido fluorhídrico, compuesto por perfluoracetato (modelo PFA-ST), acoplado a un nebulizador convencional de flujo cruzado.

3.2.2.2 Reactivos

Los estándares de Mo fueron preparados como se detalló en la sección 3.2.1.2. Las disoluciones de ligando fueron preparadas disolviendo cantidades apropiadas de etilxantato de potasio (Sigma Aldrich, EUA) en agua. La sal de potasio se representa como PEX, mientras que el anión de dicha sal que se emplea como ligando se representa en forma abreviada EX. Como solventes dispersantes se utilizaron acetona (Dorwill, Argentina), acetonitrilo (Merck, Alemania) y metanol (Merck, Alemania) y como solventes de extracción tetracloruro de carbono (Merck, Alemania) y cloroformo (Merck, Alemania). La acidez de las soluciones de trabajo fue regulada con HCl 1,0 mol L⁻¹ preparado a partir de HCl concentrado (Merck, Alemania).

Todo el material de laboratorio fue descontaminado como se detalló anteriormente (ver 3.2.1.2).

3.2.2.3 Optimización y validación de la metodología

Considerando que los complejos Mo-DDTC y Mo-EX son dos complejos neutros de Mo con ligandos similares (**Figura 3.8**) y los dos están disueltos en el mismo tipo de solvente, se decidió trabajar con las mismas condiciones de temperatura detalladas en 3.2.1.4.

Para la optimización del proceso de extracción se consideraron las siguientes variables: acidez de la solución de trabajo, concentración y volumen de PEX, naturaleza y

volúmenes de solvente dispersivo y de extracción, velocidad de inyección y tiempo de centrifugación. Con este propósito se llevaron a cabo experimentos univariados, así como también diseños experimentales factoriales del tipo central compuesto de tres niveles con dos variables. Se estudiaron en conjunto las variables volumen de HCl (para determinar la acidez del medio de trabajo) - concentración de PEX y volumen de PEX - volumen de solvente dispersante.

Como solventes dispersivos se evaluaron acetona, acetonitrilo y metanol, y tetracloruro de carbono y cloroformo como solventes de extracción. Para determinar la mejor combinación de solventes se evaluó la respuesta obtenida (área de pico).

En la **Figura 3.19** pueden observarse los resultados de la optimización de los solventes de extracción y dispersión.

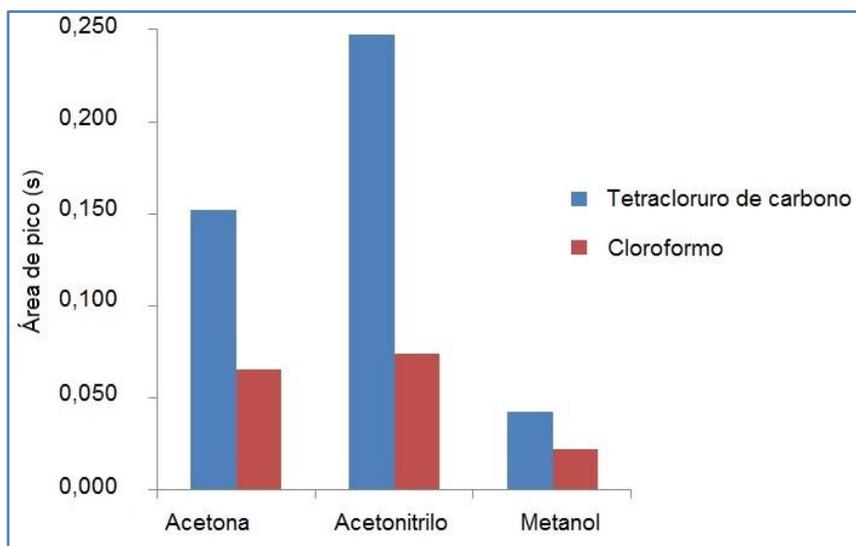


Figura 3. 19 Influencia de los solventes de extracción y dispersión en la respuesta.

Considerando los solventes dispersivos, la sensibilidad sigue el orden acetonitrilo > acetona > metanol. En el caso del metanol, la nubosidad después de la inyección era apenas perceptible y se recuperaba un volumen muy pequeño de fase orgánica luego de la centrifugación, en línea con el mal desempeño de este solvente. Por otro lado, la sensibilidad siempre fue mayor con tetracloruro de carbono como solvente de extracción, independientemente del solvente dispersivo utilizado. Resumiendo, los mejores resultados se obtuvieron con tetracloruro de carbono como solvente de extracción y acetonitrilo como solvente dispersivo.

Tanto la acidez de la solución de trabajo (muestra o estándar) como el exceso de agente complejante empleado son muy importantes para la óptima formación del complejo (147). Para estudiar la influencia de estas variables en el procedimiento de extracción de Mo se realizó un diseño experimental central compuesto de nueve puntos de dos

variables en tres niveles. Los diseños experimentales se realizaron utilizando el programa Minitab 15. Se evaluaron, en primera instancia, volúmenes de HCl entre 50 y 1000 μL y concentraciones de PEX entre 0,16 y 0,44 mol L^{-1} (**Tabla 3.2**). Para acidificar la solución de trabajo se utilizó una disolución de HCl 1 mol L^{-1} .

Se realizaron tres repeticiones de cada extracción según las condiciones descriptas a continuación:

6,00 mL de solución de Mo 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ + x μL HCl 1 mol L^{-1} + 150 μL PEX y mol L^{-1} + 50 μL CCl_4 + 1 mL CH_3CN , donde x e y representan el volumen de solución de HCl y la concentración de PEX respectivamente. Todos los experimentos fueron acompañados del blanco de reactivos correspondiente.

Como la mayor sensibilidad fue obtenida con un volumen de HCl de 1000 μL , extremo superior del rango estudiado, se realizaron experimentos adicionales utilizando volúmenes mayores de HCl.

Volumen HCl (μL)	[PEX] (mol L^{-1})	Área de pico promedio (s)
50	0,30	0,028
80	0,20	0,0377
80	0,40	0,080
200	0,16	0,039
200	0,20	0,087
200	0,30	0,133
200	0,44	0,139
500	0,40	0,137
1000	0,30	0,366
1200*	0,30	0,350
1500*	0,30	0,328
2000*	0,30	0,330

Tabla 3. 2 Diseño experimental para optimización de volumen de HCl y [PEX]. * Experimentos adicionales.

Los resultados se muestran en la **Figura 3.20**.

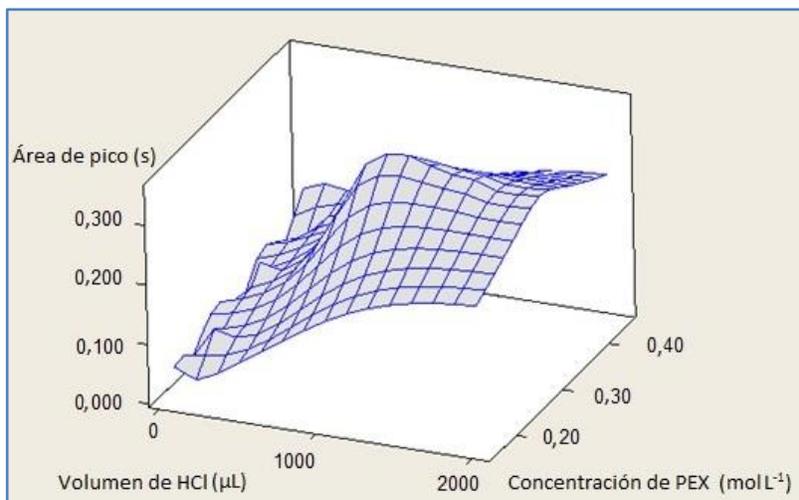


Figura 3. 20 Influencia del volumen de HCl y la concentración de PEX en la respuesta analítica.

La sensibilidad máxima se obtuvo con PEX 0,3 mol L⁻¹ y 1000 μL de HCl 1 mol L⁻¹. El incremento del volumen de HCl más allá de 1000 μL no mostró una mejora significativa en la sensibilidad.

Para evaluar el efecto del volumen de tetracloruro de carbono se realizaron experimentos con diferentes volúmenes entre 30 y 70 μL manteniendo el resto de las condiciones constantes. El volumen óptimo se fijó en 50 μL. Este volumen permite recuperar una cantidad de fase orgánica que permite la inyección manual en el horno de grafito con una máxima sensibilidad. Cuando se utilizaron volúmenes menores (30 – 40 μL), se recuperó un volumen muy pequeño de fase orgánica luego de la centrifugación, dificultando la inyección en el horno de grafito. Por otro lado, con volúmenes de 60 o 70 μL se apreció una disminución en la señal, posiblemente debida a una dilución excesiva.

El efecto del volumen del agente complejante y de solvente dispersivo se evaluó en conjunto realizando un diseño experimental central compuesto de nueve puntos de dos variables en tres niveles utilizando el programa Minitab 15. Se realizaron experimentos con volúmenes de PEX entre 79 y 221 μL, mientras que los volúmenes de acetonitrilo variaron entre 0,5 y 1,7 mL (**Tabla 3.3**).

Se realizaron tres repeticiones de cada extracción según las condiciones descriptas a continuación:

6,00 mL de solución de Mo 0,5 μg L⁻¹ + 1000 μL HCl 1 mol L⁻¹ + x μL PEX 0,3 mol L⁻¹ + 50 μL CCl₄ + y mL CH₃CN, donde x representa al volumen de solución de PEX e y representa

al volumen de acetonitrilo. Todos los experimentos fueron acompañados del blanco de reactivos correspondiente.

Volumen PEX (μL)	Volumen acetonitrilo (mL)	Área de pico promedio (s)
79	1,0	0,085
100	0,5	0,101
100	1,5	0,077
150	0,3	0,152
150	1,0	0,321
150	1,7	0,198
200	0,5	0,166
200	1,5	0,123
221	1,0	0,189

Tabla 3. 3 Diseño experimental para optimización de volúmenes de PEX y acetonitrilo.

Los resultados, como se observa en la **Figura 3.21**, muestran que la mayor sensibilidad fue obtenida con 150 μL de PEX y 1 mL de acetonitrilo.

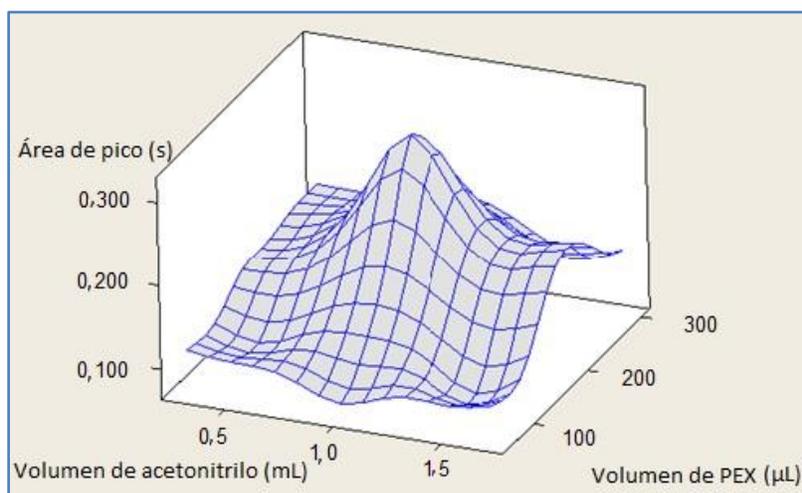


Figura 3. 21 Influencia del volumen de PEX y volumen de acetonitrilo en la respuesta analítica.

A través del software de control de la bomba de jeringa, se evaluaron velocidades de inyección de la mezcla ternaria entre 1,5 y 2,6 mL s^{-1} . Las velocidades más altas producen la formación de una nubosidad o turbidez más intensa, debido a una mayor turbulencia, que sugiere una dispersión más eficiente del tetracloruro de carbono y por lo tanto una mejor extracción del complejo Mo-EX al tener mayor superficie de contacto

con la solución acuosa. Velocidades mayores a $2,6 \text{ mL s}^{-1}$ no pudieron ser alcanzadas con esta mezcla en particular debido a que la contrapresión generada producía la detención de la bomba al activarse el mecanismo de seguridad de la misma.

Se realizaron experimentos con tiempos de centrifugación entre 1 y 5 minutos a 3000 rpm. Los resultados mostraron que con 3 minutos es suficiente para obtener el volumen máximo de fase orgánica (35 μL), por lo que este tiempo fue elegido para todas las extracciones.

Luego de la optimización se realizó la validación de la metodología mediante la estimación de las siguientes cifras de mérito: límites de detección y cuantificación, rango lineal, precisión, veracidad y factor de enriquecimiento (FE). La veracidad se evaluó a partir de la comparación por regresión lineal [155, 156] de los resultados obtenidos por la nueva metodología con los obtenidos por el método de referencia APHA 3125 basado en ICP-MS [157] y por evaluación del porcentaje de recuperación de muestras fortificadas. Para precisión y porcentaje de recuperación se establecieron los mismos criterios de aceptación mencionados en 3.2.1.3. Al tratarse de una nueva metodología, también se realizó la evaluación de la selectividad.

Los límites de detección y cuantificación fueron determinados a partir de la medida de 10 soluciones blanco. La precisión fue estimada como la desviación estándar relativa de 10 medidas de solución estándar $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$. La linealidad fue estudiada mediante la medida de 8 soluciones estándar de Mo entre 0 y $2 \mu\text{g L}^{-1}$ y evaluada por inspección visual y el coeficiente de determinación R^2 .

3.2.2.4 Condiciones de trabajo

Las medidas en ETAAS se realizaron con volúmenes de inyección de 20 μL y en las condiciones de temperatura descritas en 3.2.1.4.

Una vez optimizadas las condiciones experimentales se llevó a cabo el procedimiento general optimizado que se describe a continuación:

En un tubo polipropileno de 15 mL y fondo cónico se añaden 6,00 mL de estándar o muestra y 1000 μL de HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Una mezcla ternaria formada por 150 μL de disolución de PEX $0,30 \text{ mol L}^{-1}$ (complejante), 50 μL de tetracloruro de carbono (solvente de extracción) y 1 mL de acetonitrilo (solvente de dispersión) es inyectada con la bomba de jeringa a una velocidad de $2,6 \text{ mL s}^{-1}$. Inmediatamente se aprecia la formación de una mezcla opalescente (**Figura 3.22**) y el complejo Mo-EX es extraído en las pequeñas gotas de tetracloruro de carbono dispersadas en la mezcla.



Figura 3. 22 Formación de opalescencia luego de la inyección.

Luego se centrifuga a 3000 rpm durante 3 minutos. La mayor parte de la fase acuosa se separa con una jeringa de plástico de 5 mL y 20 μ L de la fase orgánica se inyectan manualmente en el tubo de grafito.

Todas las extracciones se realizaron por triplicado y también se realizó un triplicado de blanco de reactivos.

En la **Figura 3. 23** puede apreciarse un esquema de la metodología desarrollada para la determinación de Mo en aguas naturales por DLLME con PEX como complejante y ETAAS.

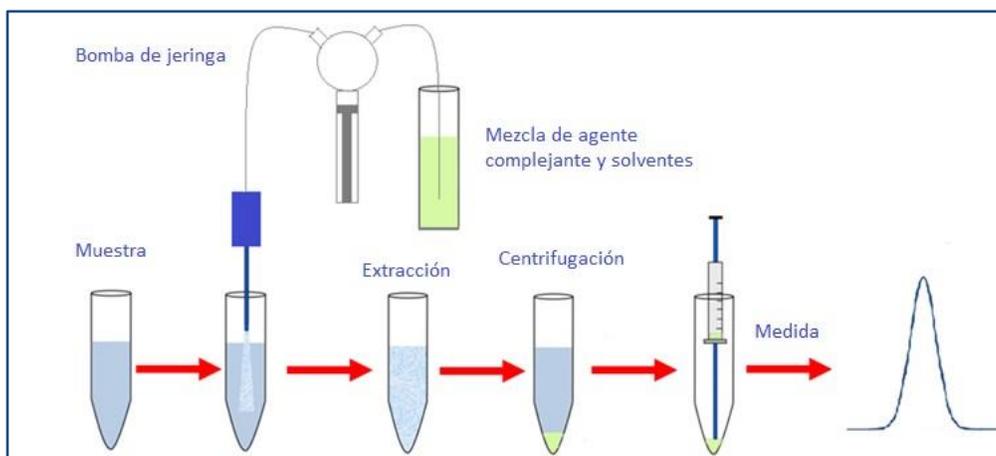


Figura 3. 23 Esquema del procedimiento de determinación de Mo por método de preconcentración con EX como complejante.

En lo que respecta a lo que sucede en la solución acuosa cuando se da la inyección de la mezcla ternaria, en las secuencias de la **Figura 3.24** pueden apreciarse imágenes de los videos tomados en el momento de inyección. A la izquierda se observa la inyección con el capilar aproximadamente a 1 cm de la superficie de la solución y a la derecha con el capilar sumergido. Al inyectar con el capilar fuera de la solución se introduce también una gran cantidad de aire generando mucha turbulencia e inmediatamente se forma la turbidez debida a la dispersión del solvente de extracción en pequeñas gotas en la solución acuosa. Al realizar el procedimiento de inyección con el capilar sumergido en la solución, se genera menos turbulencia y se aprecia claramente cómo la mezcla rebota en el fondo del tubo e inmediatamente se dispersa generando turbidez. Este último experimento es de gran importancia pensando en la adaptación de esta metodología al análisis en flujo, ya que demuestra que solamente la turbulencia generada por la introducción de una solución en la otra produce la dispersión necesaria para la extracción sin la necesidad del aire.

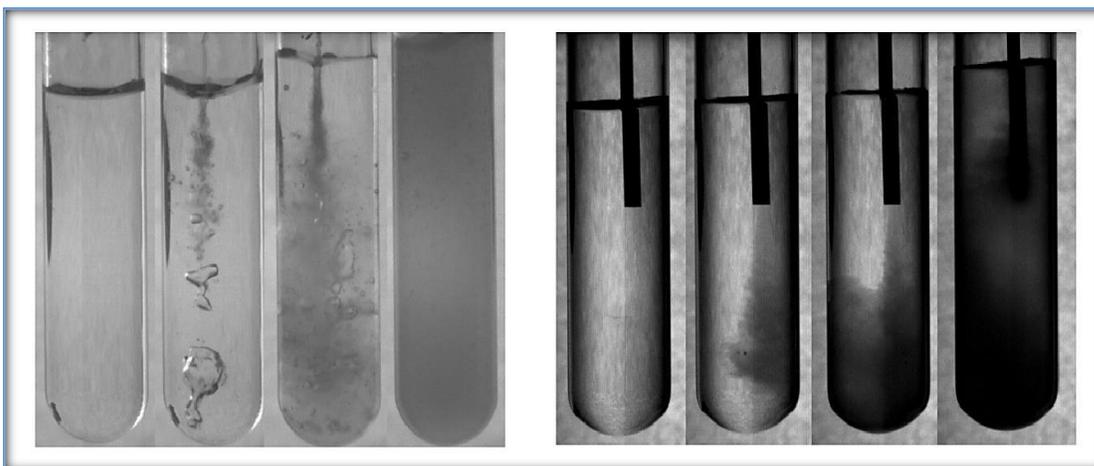


Figura 3. 24 Secuencia de inyección de mezcla ternaria. Izquierda con capilar fuera de la solución y derecha con capilar sumergido.

En el siguiente cuadro (**Tabla 3.4**) se resumen las condiciones operativas de medida de Mo por ICP-MS como método de referencia.

Flujo de muestra ($\mu\text{L min}^{-1}$)	400
RF power (W)	1100
Flujo de Gas (mL min^{-1})	0.95
Interfase	Ni conos (sampler and skimmer)
Modo estándar	^{98}Mo
Modo de escaneo	Peak hopping
Dwell time (ms)	50 en modo estándar
Número de réplicas	3
Modo del detector	Dual

Tabla 3. 4 Condiciones operativas de ICP-MS para medida de Mo.

3.3 Resultados y discusión

3.3.1 Desarrollo de DLLME con DDTC como complejante

Se realizó la optimización y adaptación de la metodología de preconcentración con DLLME utilizando DDTC como agente complejante para Mo, reportada anteriormente.

En la **Tabla 3.5** se resumen las cifras de mérito del método de preconcentración con DDTC como complejante.

Límite de detección ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,027
Límite de cuantificación ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,091
Rango lineal ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,09 – 1,0
Repetibilidad s_r (%) ($n = 10$, $C = 0,5 \mu\text{g L}^{-1}$)	4,04
Recuperación de muestras fortificadas (%)	97,0 – 106,0
Factor de enriquecimiento (FE)	110

Tabla 3. 5 Cifras de mérito del método de preconcentración con DDTC.

En la **Figura 3.25** se observa la curva de calibración del método que presenta un rango lineal de trabajo entre 0,09 y 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

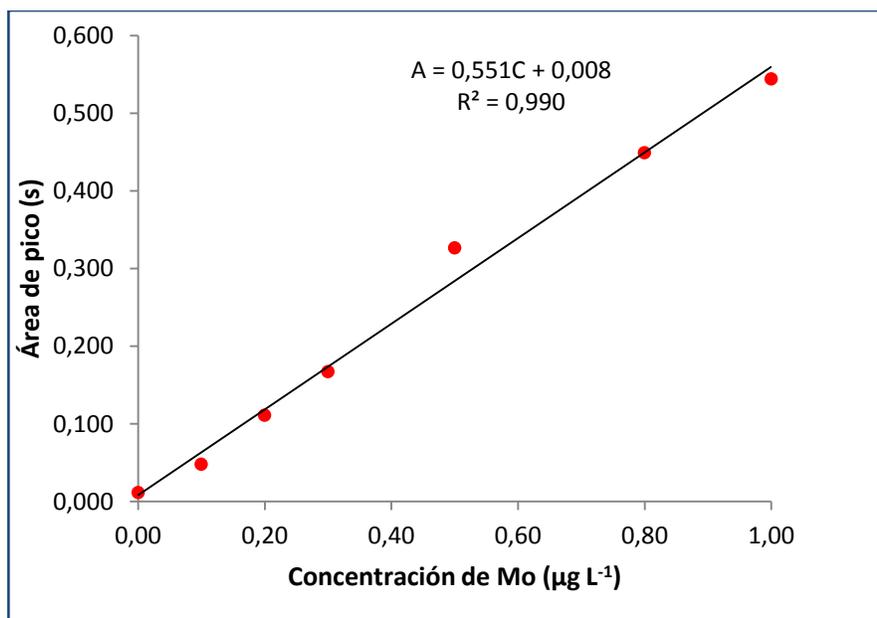


Figura 3. 25 Curva de calibración del método de preconcentración con DDTC.

Adicionalmente, como evaluación de veracidad, se realizó la comparación de los resultados del análisis de muestras obtenidos por este método con los obtenidos por el método de referencia APHA 3125 basado en ICP-MS [157]. Los valores obtenidos mediante el método propuesto fueron graficados en el eje de abscisas por corresponder al método más preciso [135].

Dicha comparación se llevó a cabo mediante regresión lineal y se evaluó utilizando el test de hipótesis conjunto de la pendiente y la ordenada en el origen para la recta de regresión.

Si los resultados obtenidos por ambos métodos son iguales la recta de regresión debería tener pendiente (b) igual a 1 y ordenada en el origen (a) igual a 0. Toda medida experimental está afectada de errores aleatorios que se propagan a los resultados analíticos, por lo que en general los resultados experimentales no se ajustarán exactamente a una recta de pendiente 1 y ordenada en el origen 0 [135]. Es necesario realizar ensayos de la significación de los valores experimentales estimados de a y b respecto a los valores "teóricos" de 0 y 1 respectivamente. Para ello se utilizó el test de hipótesis conjunto de la pendiente y la ordenada en el origen para la recta de regresión. Se evaluaron en conjunto, involucrando una "región de confianza conjunta", teniendo en cuenta la interacción que existe entre estos parámetros [155].

Se realizó el test $H_0: a = 0; b = 1; H_A: \text{no } H_0$, siendo el estadístico:

$$F = \frac{n(a'-a)^2 + 2(a'-a)(b'-b)\sum x + (b'-b)^2 \sum x^2}{2\sigma^2} \quad (1)$$

Donde

$$\sigma^2 = \frac{1}{n-2} \left\{ \left[\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n} \right] - \frac{(\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n})^2}{\sum x^2 - (\sum x)^2} \right\},$$

x e y son las respectivas concentraciones encontradas por los dos métodos, a' y b' son los parámetros de regresión estimados.

H_0 puede ser aceptada si el valor experimental del estadístico es $F_{\text{exp}} \leq F(1-\alpha, 2, n-2)$ siendo n el número de muestras en las que se realizaron las determinaciones.

Como la estimación de los parámetros a' y b' está sujeta a error, existen infinitos pares (a', b') que cumplen con la ecuación (1). Para el nivel de confianza seleccionado, los mismos se pueden representar en el plano (a', b') bajo forma de una región elíptica inclinada conocida como "región de confianza conjunta" o "elipse de confianza" [156].

En las **Figuras 3.26 y 3.27** se representan la recta de regresión de los resultados obtenidos por DLLME-DDTC y por ICP-MS y la elipse de confianza respectivamente. Para un nivel de significancia $\alpha = 0,05$, el valor de F determinado a partir de los datos experimentales (F_{exp}) fue 0,23, menor que el valor crítico $F(0,05, 2, 18) = 3,55$. No hay razón para rechazar la hipótesis, los valores de a' y b' están dentro de la elipse de confianza y los resultados obtenidos pueden considerarse equivalentes a los de ICP-MS.

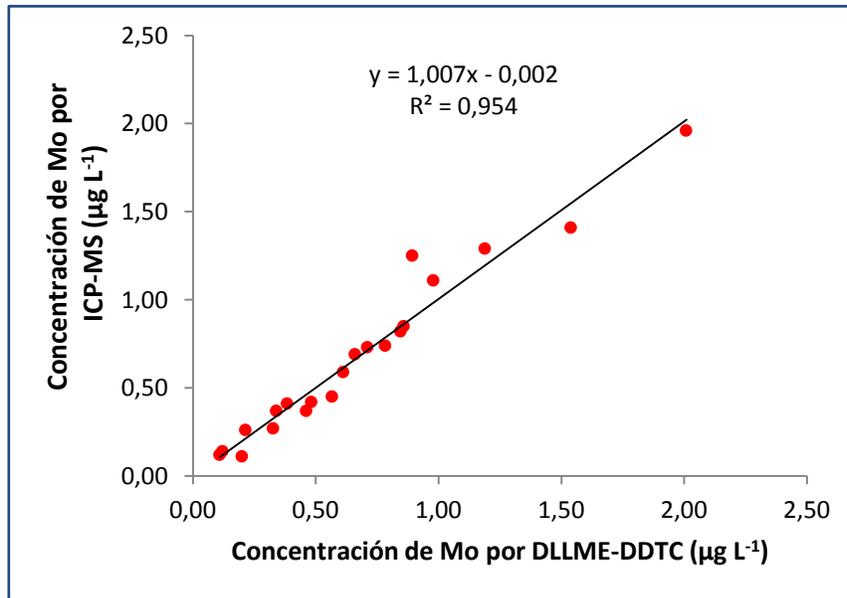


Figura 3. 26 Recta de regresión DLLME-DDTC/ICP-MS.

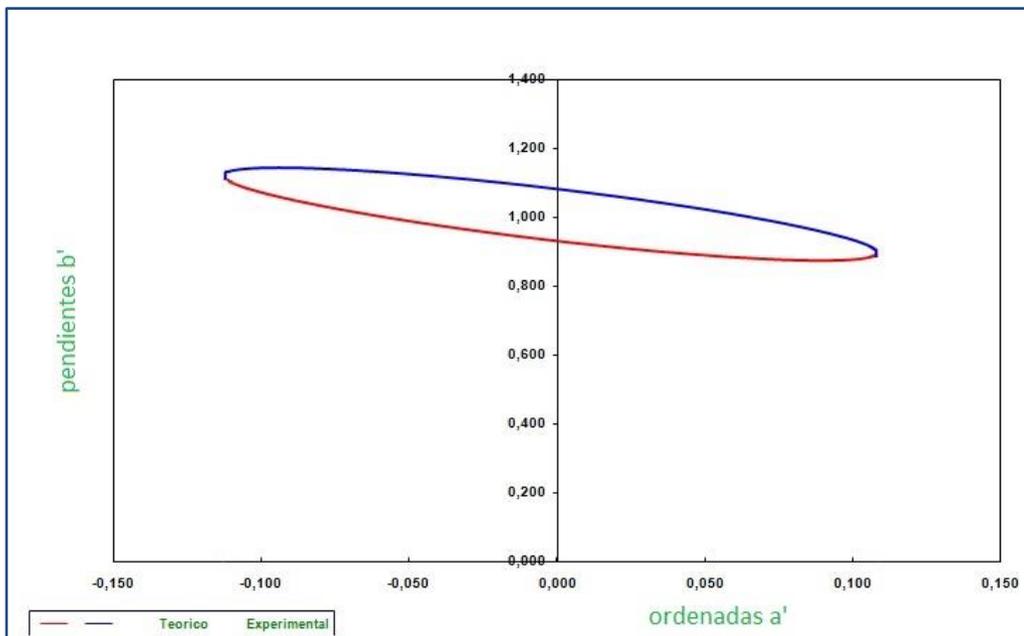


Figura 3. 27 Elipse de confianza para prueba conjunta de pendiente y ordenada de recta de regresión (DLLME-DDTC/ICP-MS).

Si bien no se obtuvo el mismo resultado de desempeño que los autores en cuanto a sensibilidad y preconcentración, los resultados obtenidos se consideran igualmente satisfactorios. Hay que considerar que las condiciones de trabajo son factores muy importantes para el desempeño del método, y en este caso no fueron exactamente las

mismas. Por ejemplo, se trabajó con la mitad del volumen de muestra, con una concentración mayor de complejante y con un espectrómetro diferente.

3.3.2 Desarrollo de DLLME con EX como complejante

En cuanto a la nueva metodología desarrollada, en la **Tabla 3.6** se resumen las cifras analíticas de mérito estimadas.

Límite de detección ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,017
Límite de cuantificación ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,062
Rango lineal ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,06 – 1,1
Repetibilidad s_r (%) ($n = 10$, $C = 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$)	2,98
Recuperación de muestras fortificadas (%)	98,5 – 103,5
Factor de enriquecimiento (FE)	165

Tabla 3. 6 Cifras de mérito del método de preconcentración con EX.

La **Figura 3.28** muestra la curva de calibración del método que presenta un rango lineal de trabajo entre 0,06 y $1,1 \mu\text{g L}^{-1}$.

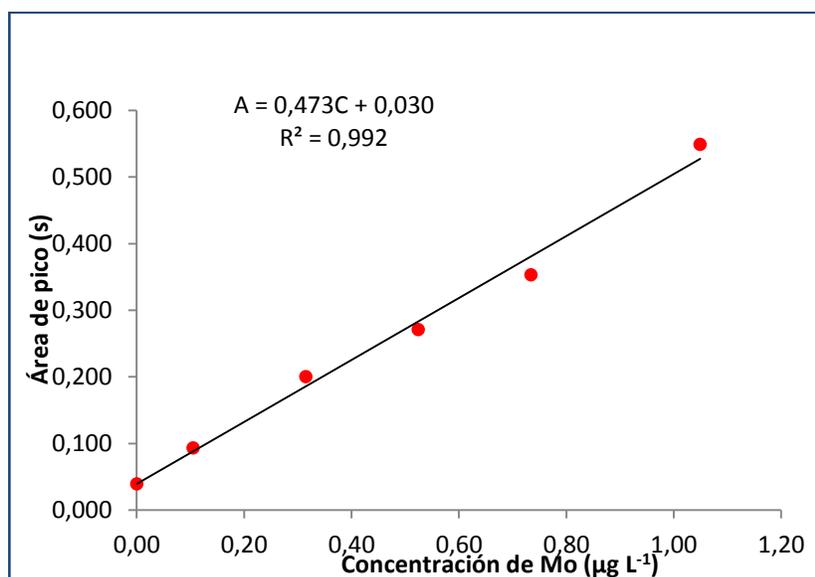


Figura 3. 28 Curva de calibración del método de preconcentración con EX.

Es de destacar que este método presenta límites de detección y cuantificación, del orden e incluso mejores, que los de ICP-MS. En este caso, en el equipo usado para realizar las medidas por ICP-MS utilizadas en la evaluación de veracidad, el límite de detección (LOD) es $0,03 \mu\text{g L}^{-1}$ y el límite de cuantificación (LOQ) $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$.

La veracidad se evaluó a partir de la comparación de los resultados obtenidos por la nueva metodología con los obtenidos por el método de referencia APHA 3125 basado

en ICP-MS [157]. Los resultados obtenidos por los dos métodos fueron comparados por regresión lineal. La **Figura 3.29** muestra la recta de regresión resultante.

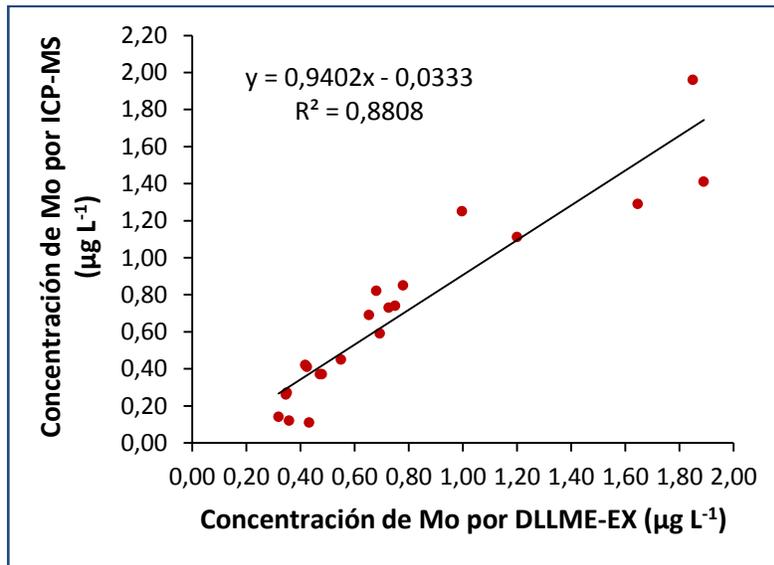


Figura 3. 29 Regresión lineal entre resultados obtenidos por ICP-MS y DLLME-EX.

Para un nivel de significación $\alpha = 0,05$, el valor de F determinado a partir de los datos experimentales (F_{exp}) fue 2,47, menor que el valor crítico $F(0,05, 2, 18) = 3,55$. No hay razón para rechazar la hipótesis, los valores de a' y b' están dentro de la elipse de confianza (**Figura 3.30**) y por lo tanto los resultados obtenidos por ambos métodos pueden considerarse equivalentes.

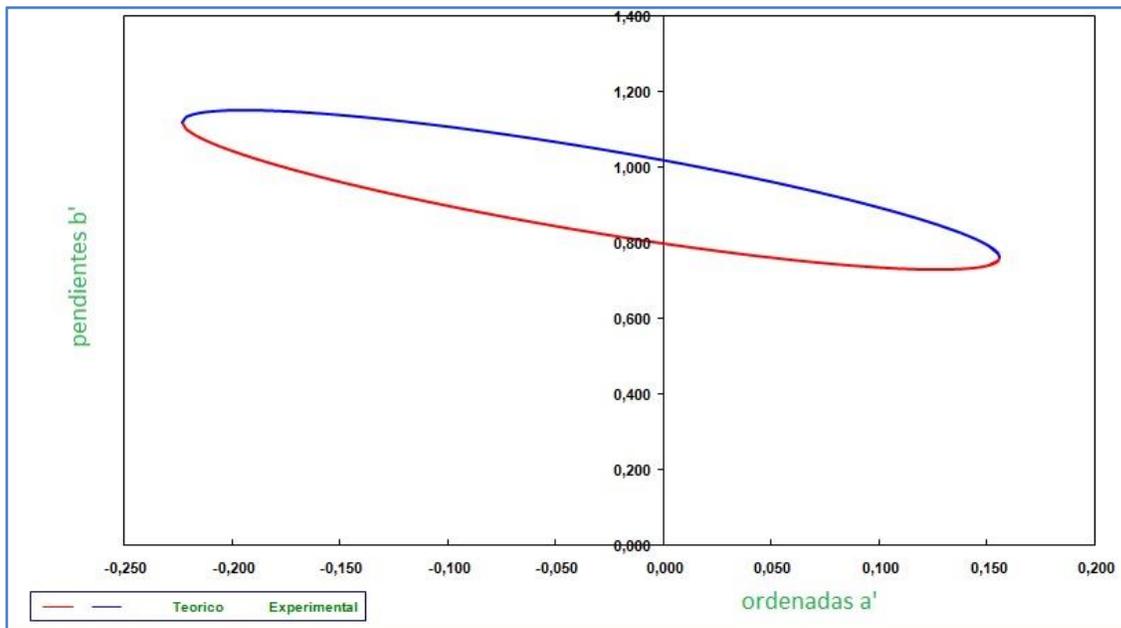


Figura 3. 30 Elipse de confianza para prueba conjunta de pendiente y ordenada de recta de regresión (DLLME-EX/ICP-MS).

También se realizó la comparación estadística de los resultados con los obtenidos por DLLME-DDTC. En la **Figura 3.31** se representa la recta de regresión de los resultados obtenidos por DLLME-EX y DLLME-DDTC. Para un nivel de significación $\alpha=0,05$, el valor de F determinado a partir de los datos experimentales (F_{exp}) fue 3,26, menor que el valor crítico $F(0,05, 2, 18) = 3,55$. No hay razón para rechazar la hipótesis, los valores de a' y b' están dentro de la elipse de confianza (**Figura 3.32**) y por lo tanto los resultados obtenidos por ambos métodos pueden considerarse equivalentes entre sí.

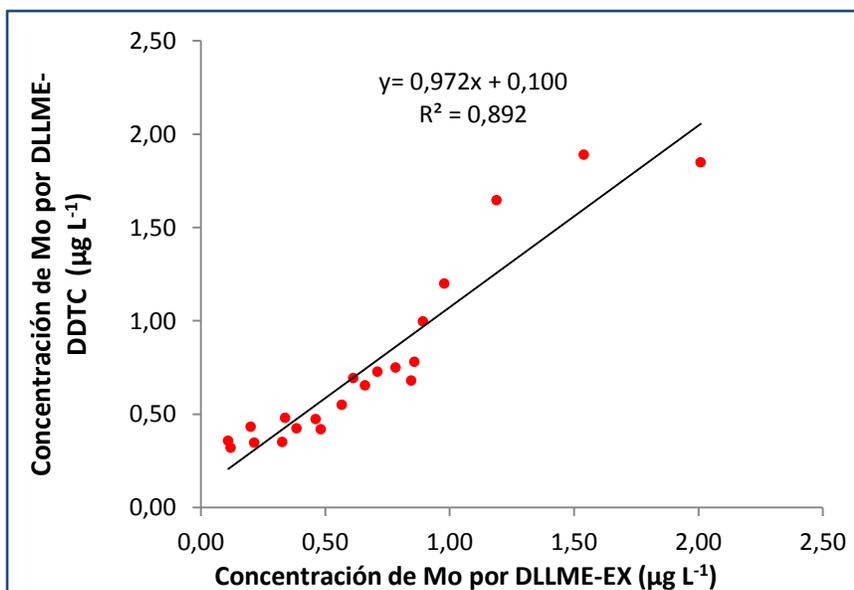


Figura 3. 31 Recta de regresión DLLME-EX/DLLME-DDTC.

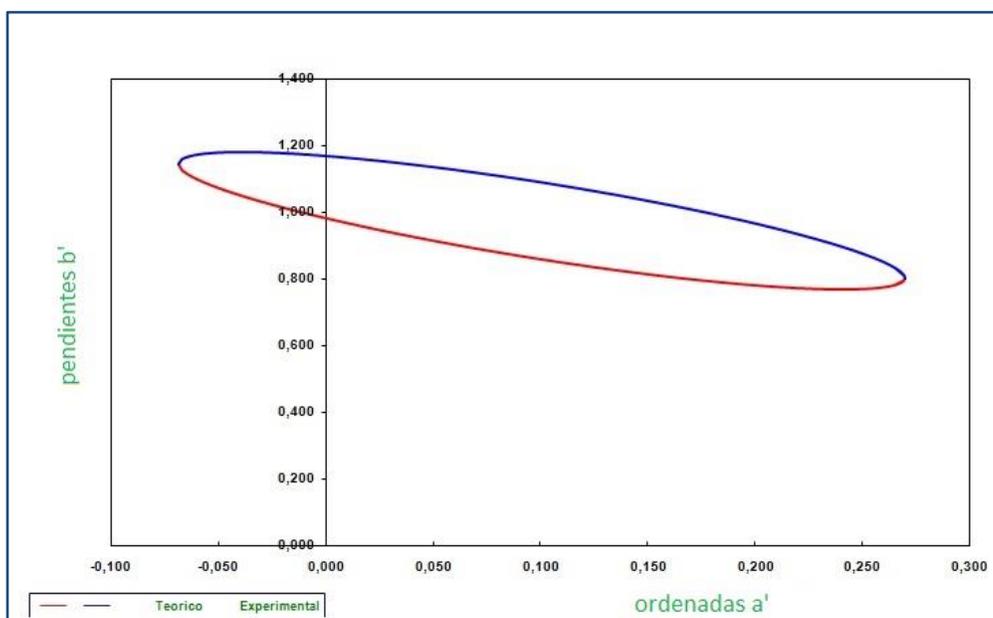


Figura 3. 32 Elipse de confianza para prueba conjunta de pendiente y ordenada de recta de regresión (DLLME-EX/DLLME-DDTC).

Además, para probar la aplicabilidad del método se realizaron fortificaciones con diferentes cantidades de Mo sobre muestras elegidas al azar y se calcularon las recuperaciones. Como puede verse en la **Tabla 3.7**, los porcentajes de recuperación están dentro del rango fijado como aceptable (85 – 115 %), por lo que no se detectó ninguna interferencia proporcional o multiplicativa.

Muestra	Concentración Mo adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentración Mo encontrada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%)
1	0,000	0,350 (0,041)	98,5
	0,384	0,723 (0,012)	
2	0,000	0,319 (0,010)	99,0
	0,384	0,699 (0,016)	
3	0,000	0,287 (0,015)	103,5
	0,510	0,825 (0,0030)	

Tabla 3.7 Recuperación de muestras fortificadas. Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar de las tres réplicas de cada análisis.

La precisión es muy buena considerando que se trabaja con niveles de concentración de Mo muy bajos y que se realiza inyección manual en el horno de grafito.

El valor objetivo para la desviación estándar de un análisis determinado (σ) varía con la concentración de analito a medir y para estimarlo se puede establecer una relación funcional entre concentración y desviación estándar. La relación más conocida es la *trompeta de Horwitz*, denominada así por su forma.

En base a un gran número de resultados de ensayos, Horwitz demostró que la desviación estándar relativa de un método varía con la concentración de acuerdo a la ecuación empírica y aproximada [158]:

$$s_r = \pm 2^{(1 - 0,5 \log C)}$$

Esta ecuación conduce a la curva con forma de trompeta mostrada en la **Figura 3.33** que se puede utilizar para estimar valores objetivos de σ para cualquier análisis.

De esta forma, se puede notar como para concentraciones alrededor de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ como las medidas en las muestras de agua (la mayor parte de los resultados son valores menores), se pueden esperar valores de s_r de hasta 40 %. Los resultados de precisión obtenidos a partir del método desarrollado, con valores de s_r menores al 10 % en todos los casos (para un valor objetivo menor a 20 %), son extremadamente buenos, y junto con los resultados del estudio de veracidad y las recuperaciones, avalan la aplicación del método para determinar la concentración total de Mo en aguas naturales con un contenido muy bajo del elemento.

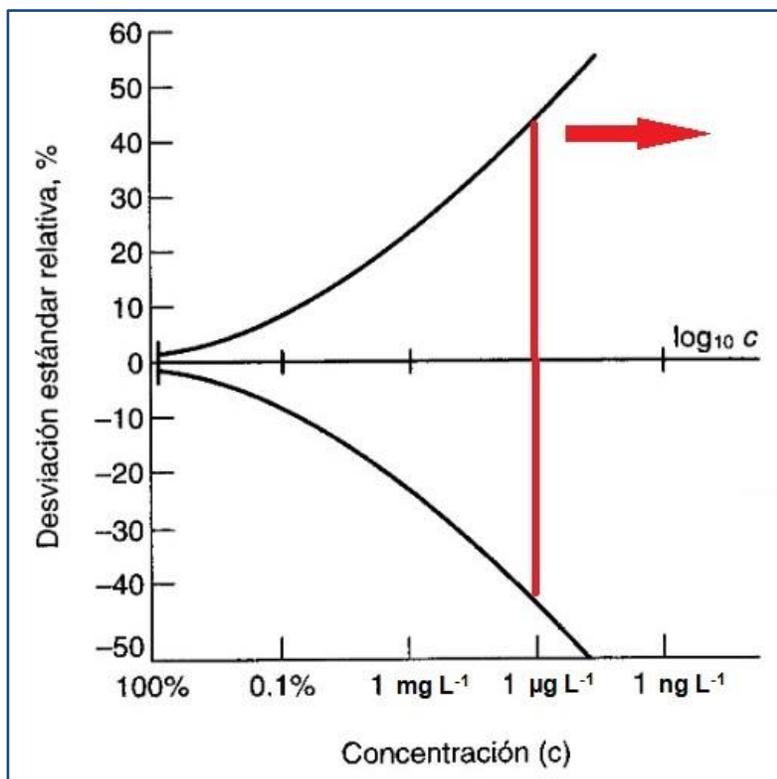


Figura 3. 33 Trompeta de Horwitz. Figura adaptada de [158]

En cuanto a la selectividad, al tratarse de una metodología nueva, el efecto de otros elementos que están presentes en muestras de aguas naturales necesita ser discutido y evaluado ya que éstos pueden ocasionar interferencias proporcionales (multiplicativas) o incluso translacionales (aditivas) en el análisis. Las interferencias podrían surgir a causa de reacciones de Mo con otros elementos disminuyendo la complejación con EX o por complejación de EX con otros elementos bajando la cantidad de ligando disponible para formar complejo con Mo.

En las aguas naturales las especies aniónicas de Mo interactúan con todos los cationes +2 formando complejos detectables en disolución y también hay que considerar que otros elementos formadores de aniones presentes pueden competir con Mo para formar complejos con EX [19].

Para evaluar interferentes se aplicó el método desarrollado a 6,00 mL de una disolución $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Mo con el elemento interferente en relación molar 1×10^4 (1×10^6 para calcio) y se comparó la respuesta con la obtenida cuando el posible interferente no está presente.

Los resultados se muestran en la **Tabla 3.8**.

Ion	Relación molar Ion/Mo	Recuperación (%)
Ca(II)	1×10^6	96
Pb(II)	1×10^4	94
Cd(II)	1×10^4	102
As(III)	1×10^4	76
As(V)	1×10^4	98
W(VI)	1×10^4	101

Tabla 3. 8 Efecto de posibles interferentes en la determinación de Mo.

Se observó recuperación cuantitativa de Mo en presencia de los cationes Ca(II), Pb(II) y Cd(II). Estos iones fueron seleccionados por abundancia (alcalino térreos) y por la capacidad de formar asociaciones más estables con diversos ligandos aniónicos (Pb y Cd) [36]. Para Ca, se utilizó un gran exceso debido a la alta abundancia natural de este elemento, y a pesar de ello no se observó interferencia.

También ha sido reportado que As, elemento formador de aniones como arsenito o arsenato [159], forma complejos relativamente estables con EX [152]. Debido a ello se realizaron experimentos incluyendo a este elemento. W(VI) también fue incluido debido a que es químicamente similar al Mo(VI) [36, 152]. Los resultados de la **Tabla 3.8** muestran que solo As(III) tiene influencia en la recuperación de Mo cuando está presente en un exceso muy grande como el que se utilizó en este estudio. También se comprobó que As(V) y W(VI) no influyen en las medidas aún estando presentes en gran exceso.

La concentración de EX utilizada en el método desarrollado asegura la completa complejación de Mo y los otros iones que puedan estar presentes. También, debido a la selectiva determinación de Mo por ETAAS, estas reacciones de complejación no tienen como resultado interferencias translacionales.

3.3.3 Comparación del desempeño de la metodología desarrollada con otras metodologías para la determinación de Mo en agua

Como ya se ha mencionado, la determinación de la concentración de Mo en aguas naturales es un reto desde el punto de vista analítico, debido a los bajos niveles de concentración y a los distintos componentes de la matriz que pueden causar serias interferencias durante el análisis dependiendo de la técnica empleada. Un ejemplo de lo anterior es la determinación de Mo en agua de mar por ETAAS, donde el alto contenido de sales es una interferencia que debe ser tenida en cuenta a la hora de las medidas [57].

Hoy en día existen diversas técnicas para la determinación de Mo a niveles de traza, siendo ICP-MS la que presenta un mejor desempeño en cuanto a sensibilidad, pero es una técnica muy costosa y no está disponible en todos los laboratorios. Se han desarrollado como alternativa al ICP-MS infinidad de metodologías que involucran técnicas de detección espectrométricas más económicas, pero con un paso previo de preconcentración o separación antes de la detección. También se han visto ejemplos de otras técnicas diferentes a la espectrometría como la voltametría o el análisis por activación de neutrones [57].

En la **Tabla 3.7** se muestran, para poder comparar, algunas cifras de mérito y características especiales de otras metodologías reportadas para la determinación de la concentración de Mo en muestras de agua. Se hace especial énfasis en la comparación de la metodología desarrollada con otras que involucran DLLME-ETAAS.

Aquellos métodos que involucran espectrometría de absorción molecular UV-VIS son los menos sensibles, ya que presentan los límites de detección más altos, lo que los hace aplicables solamente para determinar concentraciones relativamente altas de Mo. Sin embargo, como puede apreciarse, los métodos basados en el efecto catalítico del Mo(VI) [51] son extremadamente sensibles y comparables a los de espectrometría atómica. También se observa que al introducir diferentes metodologías de preconcentración, la sensibilidad aumenta marcadamente [96, 106, 160].

Considerando aquellos métodos que involucran preconcentración, aquellos basados en DLLME-ETAAS son los que presentan los límites de detección más bajos [114-116, 161]. La determinación voltamétrica [162] también es muy sensible, y es la única que presenta límites de detección comparables a DLLME-ETAAS. También es de destacar que estos métodos utilizan volúmenes de muestra pequeños, sobre todo si se comparan con la extracción líquido líquido convencional.

Los resultados obtenidos con el método desarrollado en esta tesis [161] se comparan favorablemente con los tres reportes anteriores de metodologías para determinación de Mo en agua mediante DLLME-ETAAS [114-116]. Se destaca un factor de enriquecimiento elevado y una muy buena repetibilidad para niveles de concentración de Mo muy bajos.

Método	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	FE	Vol. muestra (mL)	Otras características	s_r (%)	Ref.
UV-VIS	0,027	-	-	Efecto catalítico	< 5	[51]
-VIS	11,5	-	0,5	Sin pre concentración	1,83, n = 8	[163]
SIA-UV-VIS	21	-	-	Sin pre concentración	1,92, n = 10	[164]
CPE-UV-VIS	0,10	20	-		1,10 para $65 \mu\text{g L}^{-1}$, n= 5	[165]
SPE-ETAAS	0,08	10	10	-	2,80 para $2 \mu\text{g L}^{-1}$, n =10	[166]
SPE-ICP-AES	0,75	100	1000	-	2,21 para $50 \mu\text{g L}^{-1}$	[160]
LLE-FAAS	0,38	-	250	-	< 10	[167]
Voltametría de adsorción anódica	0,01	-	10	-	-	[162]
DLLME-ETAAS	0,007	362	12,0	Inyección y agitación manual	4,60 para $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$, n = 10	[114]
DLLME-ETAAS	0,013	75	5,0	Inyección manual	0,80 n = 6	[115]
DLLME-ETAAS	0,020	200	10,0	Inyección manual	2,90 para $4 \mu\text{g L}^{-1}$, n = 8	[116]
DLLME-ETAAS	0,017	165	6,0	Inyección mecanizada	2,98 para $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$, n = 10	[161]

Tabla 3. 9 Características generales de metodologías de determinación de Mo en agua. FE: Factor de Enriquecimiento, SIA: análisis por inyección secuencial, CPE: extracción punto nube, SPE: extracción en fase sólida, LLE: extracción líquido-líquido.

3.4 Conclusiones

Mediante la adaptación y optimización de la metodología con SDDTC se adquirió la destreza necesaria en DLLME para afrontar el desarrollo de un método completamente nuevo.

A partir de este trabajo se logró desarrollar un método nuevo eficaz para la determinación de molibdeno en aguas subterráneas por DLLME-ETAAS utilizando etilxantato como agente quelante, tetracloruro de carbono como disolvente de extracción y acetonitrilo como disolvente dispersante.

Es importante destacar que el nuevo método es simple, rápido y amigable con el medio ambiente al trabajar con cantidades reducidas de solventes orgánicos, siguiendo los principios de la Química Verde. Asimismo, puede llevarse a cabo con equipos menos costosos que el ICP-MS. La inyección mecánica de la mezcla de disolventes y agente quelante aceleró en gran medida el proceso de extracción, si se compara con la inyección manual, y mejoró la repetibilidad. Como la turbidez debida a la dispersión del solvente de extracción se forma instantáneamente, la agitación adicional (ya sea manual o con vórtex) no es necesaria. Se disminuye así el tiempo de análisis aumentando la frecuencia analítica.

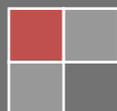
El nuevo método tiene un alto factor de enriquecimiento y muy bajos límites de detección y cuantificación. La combinación de DLLME-ETAAS utilizando PEX como ligando demostró ser una buena alternativa para la determinación de la concentración de molibdeno en las muestras de aguas subterráneas, incluso a niveles por debajo de los microgramos por litro, mostrando resultados comparables a los obtenidos por ICP-MS.



Capítulo 4

Determinación de la concentración de Mo en aguas naturales por DLLME-ETAAS

Se presentan los resultados de la determinación de la concentración de Mo en muestras de agua subterránea de poca profundidad, obtenidos al aplicar la metodología desarrollada y descrita en el capítulo anterior. Adicionalmente se realiza un mapeo de este elemento en nuestro país, indicando las zonas en las que es posible encontrarlo así como la incidencia del parámetro dureza.



4.1 Descripción y fundamento de la metodología de trabajo

Las determinaciones de la concentración de Mo en aguas naturales se realizaron por ETAAS utilizando las metodologías de preconcentración basadas en DLLME descritas y desarrolladas en el Capítulo 3. Para aquellas muestras cuya concentración está por encima del límite superior de linealidad de las respectivas metodologías se procedió a realizar la dilución correspondiente. También se realizaron medidas por ICP-MS para evaluar la veracidad durante la etapa de validación.

Estas determinaciones tienen como objetivo realizar un relevamiento de este elemento en nuestro país para conocer la situación actual y establecer las zonas geográficas en las que se encuentra.

Los tipos de muestra de agua utilizados, los puntos de muestreo y la realización del mismo fueron detallados en 2.2.2.

También se determinó la dureza de las muestras (2.2.2 y 2.2.3) con el objetivo de caracterizarlas desde el punto de vista de la fuerza iónica, teniendo en cuenta la variabilidad natural de las diferentes fuentes de agua y la posible influencia en la presencia y formas químicas de Mo.

4.2 Resultados y discusión

En la **Tabla 4.1** se muestran los resultados de la determinación de la concentración de Mo por el método de referencia (ICP-MS), DLLME-SDDTC y DLLME-PEX para las muestras analizadas. También se presentan los valores de dureza.

Muestra	Departamento	Ciudad	Conc. Mo ($\mu\text{g L}^{-1}$) ICP-MS	Conc. Mo ($\mu\text{g L}^{-1}$) DLLME-DDTC	Conc. Mo ($\mu\text{g L}^{-1}$) DLLME-EX	Dureza ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$)
2-1	Colonia	Nueva Palmira	1,96 (0,23)	2,01(0,011)	1,849(0,0070)	32,1
2-2	Colonia	Carmelo	0,82(0,030)	0,846(0,017)	0,682(0,015)	31,7
2-3	San José	Carreta Quemada	1,11(0,060)	0,980(0,016)	1,21(0,19)	202,6
2-4	San José	Rafael Peraza	0,85(0,040)	0,859(0,034)	0,780(0,023)	336,7
2-5	Artigas	Cuareim	0,27(0,13)	0,328(0,011)	0,351(0,041)	342,4
2-6	Artigas	Tomás Gomensoro	0,14(0,13)	0,121(0,0038)	0,319(0,010)	327,2
2-7	Florida	Pintado	0,69(0,070)	0,661(0,018)	0,653(0,035)	340,5
2-8	Florida	Sarandí Grande	1,41(0,18)	1,54(0,027)	1,893(0,0030)	155,3
2-9	Florida	Puntas de Maciel	---	0,807(0,017)	1,015(0,021)	230,9
2-10	Florida	La Cruz	0,45(0,13)	0,567(0,015)	0,549(0,035)	263,8
2-11	Lavalleja	Aramendía	0,11(0,030)	0,201(0,0015)	0,432(0,021)	452,5
2-12	Lavalleja	Zapicán	0,37(0,070)	0,463(0,016)	0,473(0,0070)	168,9
2-13	Lavalleja	Illescas	0,37(0,10)	0,34(0,016)	0,480(0,028)	124,1
2-14	Florida	Mendoza Chico	---	4,347(0,020)	4,308(0,065)	306,5
2-15	Florida	Mendoza Grande	0,74(0,14)	0,784(0,021)	0,753(0,014)	241,0
2-16	Florida	Cardal	9,12(0,54)	9,38(0,018)	8,681(0,311)	266,8
2-17	Artigas	Tomás Gomensoro	0,73(0,090)	0,711(0,012)	0,727(0,033)	339,8
2-18	Artigas	Baltasar Brum	0,41(0,13)	0,385(0,046)	0,424(0,094)	289,2
2-19	Cerro Largo	Aceguá	<LOQ	ND	0,178(0,0070)	14,9
2-20	Cerro Largo	Isidoro Noblía	0,12(0,060)	0,11(0,015)	0,358(0,0017)	27,2
2-21	Florida	Capilla del Sauce	0,26(0,070)	0,215(0,015)	0,346(0,0017)	234,7
2-22	Canelones	La Paz	0,42(0,090)	0,483(0,013)	0,418(0,015)	61,6
2-23	Florida	Alejandro Gallinal	0,59(0,0060)	0,613(0,016)	0,694(0,023)	128,8
2-24	Canelones	Sauce	1,29(0,15)	1,19(0,019)	1,64(0,14)	190,0
2-25	Canelones	San Antonio	1,25(0,21)	0,894(0,020)	0,997(0,014)	198,0
2-26	Rivera	Rivera	<LOQ	<LOQ	<LOQ	31,2
2-27	Rivera	Tranqueras	<LOQ	<LOQ	<LOQ	46,4
2-28	Rivera	La Calera	<LOQ	<LOQ	<LOQ	190,8

Tabla 4. 1 Concentraciones de Mo ($\mu\text{g L}^{-1}$) (valores entre paréntesis corresponden a desviación estándar n=3) y dureza ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$).

Para realizar una georeferenciación de este elemento en el país se utilizaron los resultados de todas las muestras, incluyendo las medidas directamente por ETAAS (**Tabla 2.3**) y las medidas por la nueva metodología desarrollada (**Tabla 4.1**).



Figura 4. 1 Muestras de Mo cuantificadas. (Extraída de <https://www.google.com.uy/maps>)

Teniendo en cuenta los lugares del país donde se realizaron los diferentes muestreos, se aprecian claramente zonas donde este elemento puede ser encontrado (**Figura 4.1**). Se encuentra en aguas subterráneas de poca profundidad en la zona centro sur que abarca los departamentos de Canelones oeste, Florida y San José. También en la zona oeste en los departamentos de Colonia, Soriano y más al norte en Paysandú. En la zona norte del país se encontró Mo en aguas de Artigas. No se pudo detectar Mo en los departamentos del este, solamente cuantificó una muestra en Cerro Largo.

En base a las diferentes localizaciones se logró establecer una correspondencia con los acuíferos en los que se encuentra Mo. Por ejemplo, en la zona de San José está el acuífero Raigón, que es una de las principales fuentes de abastecimiento para la agricultura e industria en la zona. Se han realizado diferentes investigaciones en él, sobre todo en lo que corresponde a elementos mayoritarios y a As como elemento traza

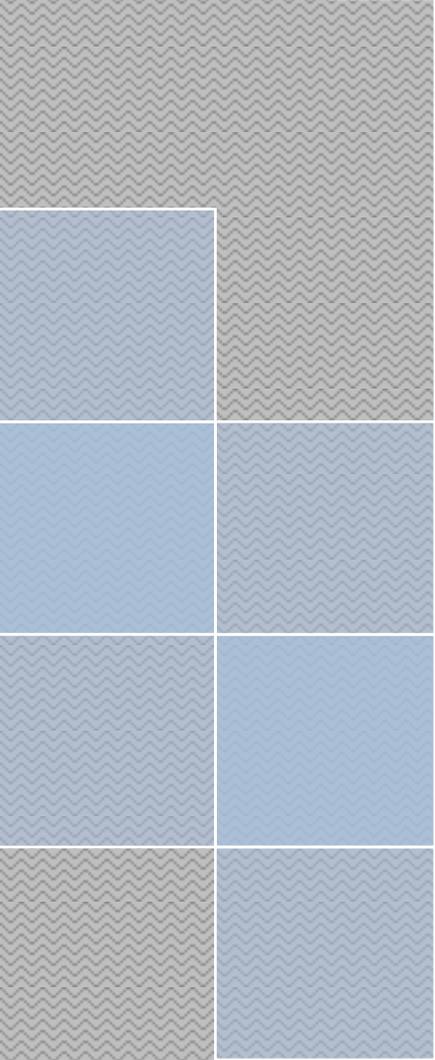
disolución por desgaste desde la corteza terrestre y transporte en los diferentes sistemas acuáticos (9). Para elementos que están presentes como oxoaniones, como Se o As por ejemplo, se encontró una correlación positiva con Ca y sulfato [171]. Para Mo también se ha reportado relación con elementos mayoritarios, en particular con Ca, indicando un comportamiento y origen similar [172]. En el caso de las muestras analizadas, si se tiene en cuenta su dureza (ver **Figura 4.2**), puede verse como tendencia en general que las aguas duras presentan Mo a niveles cuantificables, pero no todas ya que depende principalmente de la zona del país en que fue extraída la muestra. A modo de ejemplo, las muestras de Salto presentan altos niveles de dureza y no cuantifican Mo.

4.3 Conclusiones

El relevamiento de concentraciones de Mo en las diferentes zonas del país pudo ser realizado logrando determinar exactamente las concentraciones de este elemento aplicando la nueva metodología desarrollada.

Se lograron identificar las zonas del país donde es más factible encontrar las mayores concentraciones de este elemento. Este estudio puede ser utilizado como el inicio de una investigación más profunda sobre los niveles y distribución de Mo en los distintos acuíferos de nuestro país. Esta investigación sería de relevancia, teniendo en cuenta que las aguas subterráneas son fuentes importantes de agua tanto para la agricultura como para la ganadería, considerando la importancia de este elemento para estas actividades (ver Capítulo 1).

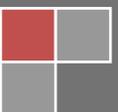
En cuanto a la relación con la dureza, a partir de los resultados obtenidos, puede inferirse que en las zonas geográficas donde es posible encontrar Mo los niveles más altos de este elemento se encuentran en aguas duras. Para poder comprobarlo sería necesario un análisis estadístico con un número mayor de muestras de esas zonas para evaluar si efectivamente hay una correlación estadística significativa.



Capítulo 5

Estudio de especies químicas relevantes de Mo en aguas naturales e interacción con elementos de interés

En el presente capítulo se exponen los estudios en solución acuosa de Mo(VI) en condiciones simuladas de las aguas naturales. Se presentan constantes de protonación y de asociación con diversos cationes metálicos de interés. También se realiza un estudio de la variación de las constantes con la concentración de la fuerza iónica del medio.



5.1 Descripción y fundamento de la metodología de trabajo

5.1.1 Determinación de constantes de equilibrio

Las técnicas potenciométricas son las más utilizadas para la determinación de constantes de equilibrio [19]. Se realizan valoraciones potenciométricas en determinadas condiciones experimentales que se fijan según el sistema en estudio: valorante, electrolito soporte, temperatura.

Hay que tener en cuenta que la constante de equilibrio involucrada en la formación de un complejo o par iónico (constante de formación o constante de estabilidad) a partir del acuo complejo del catión metálico y la forma más básica del ligando (molécula orgánica, oxoanión metálico u otra base de Lewis) es una medida de la efectividad del ligando de coordinar a ese catión metálico. Por lo tanto, medir la concentración de H^+ provee una medida de la concentración del ligando en el equilibrio. Tales mediciones, con y sin el ion metálico, proporcionan datos para determinar la constante de formación del complejo entre el ion metálico y el ligando [16].

Es importante considerar que por debajo de pH 2 y por encima de pH 12, los iones H^+ y OH^- comienzan a ser responsables de fracciones apreciables de la conductancia, de manera que los potenciales de unión líquida cambian, por lo que las medidas exactas de la concentración de H^+ se limitan al intervalo de pH entre 2 y 12 [16].

El potencial medido por el electrodo puede expresarse como:

$$E = E^0 + E_j + RT/F \log[H^+],$$

siendo E^0 el potencial de la celda y E_j el potencial de unión líquida.

En medio ácido se cumple que $E_j = j_a [H^+]$ y en forma análoga en medio básico $E_j = j_b [H^+]$. De lo anterior se desprende que los potenciales medidos en medio ácido y en medio básico corresponden a:

$$E_a = E_a^0 + E_{j_a}^0 + RT/F \log[H^+] \qquad E_b = E_b^0 + E_{j_b}^0 + RT/F \log[OH^-]$$

A partir de lo anterior se desprende que pK_w puede calcularse como $(E_a^0 - E_b^0)F/RT$ [173].

Antes de valorar debe determinarse la respuesta del electrodo en las condiciones de trabajo fijadas de fuerza iónica y temperatura. La calibración del electrodo en términos de la concentración de H^+ en medios de alta fuerza iónica como los que por lo general se utilizan en la determinación de constantes, se realiza mediante la titulación de un ácido fuerte con una base fuerte de concentración exactamente conocida. Realizando cálculos en base a las ecuaciones presentadas utilizando los rangos de datos en medio ácido y básico se obtiene la constante de electrodo y el valor de pK_w [174, 175].

Para la realización de un estudio completo de la química en solución acuosa de los sistemas formados por Mo(VI) y los cationes metálicos, se llevaron a cabo en idénticas condiciones experimentales, las medidas de todas las constantes de equilibrio que determinan la formación de las especies en solución: equilibrios de protonación de molibdato, MoO_4^{2-} , equilibrios de asociación con los cationes metálicos y equilibrios de hidrólisis de los cationes metálicos en caso de corresponder.

Las medidas se realizaron en un equipo de potenciometría automatizado de alta resolución. Las soluciones a medir fueron introducidas en una celda termostatzada, se ajustó la fuerza iónica y después de un tiempo de termostatzación hasta la temperatura de trabajo, se midieron los valores de concentración hidrogeniónica luego de sucesivas adiciones de solución titulante agregadas desde una bureta automática. En todo momento se mantuvo la homogeneidad del sistema a través de agitación magnética continua.

La **Figura 5.1** muestra un esquema de la celda de potenciometría utilizada en las valoraciones.

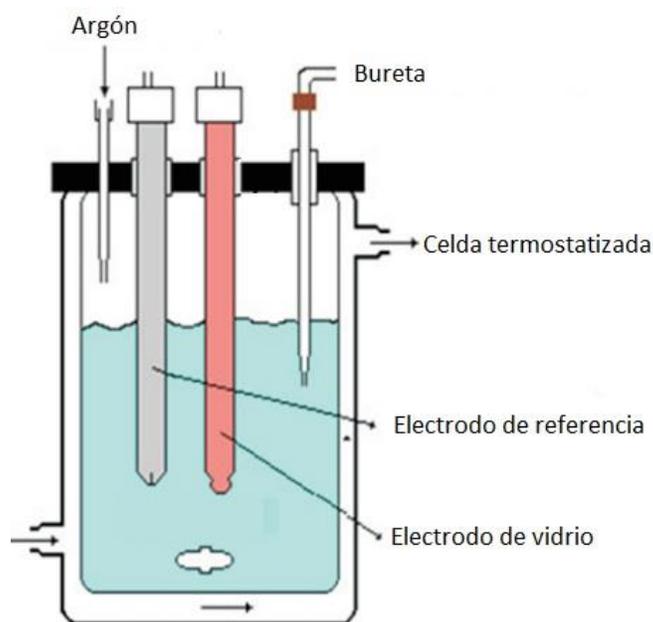


Figura 5. 1 Esquema de la celda de potenciometría. (Adaptada y extraída de <http://www.scielo.br/pdf/eq/v35n4/19.pdf>)

El ajuste de temperatura fue realizado en un baño termostatzado y las titulaciones fueron llevadas a cabo bajo una corriente de argón de alta pureza.

Para realizar este estudio los cationes se seleccionaron en base a su relevancia desde el punto de vista ambiental, de la salud humana y de la abundancia de los cationes en las aguas naturales. Básicamente se trata de cationes +2, ya que está reportado que la

interacción con cationes alcalinos +1 como Na y K es muy débil [35, 176]. Por otra parte, para los cationes +3, debido a su mayor carga, se espera una interacción más fuerte con los aniones [177], por lo que puede ocurrir la precipitación de molibdatos de baja solubilidad.

El análisis de los datos fue realizado mediante el programa HYPERQUAD [178]. Este tipo de programa permite realizar ensayos de hipótesis tomando como base los datos experimentales y los modelos propuestos. Se calculó el estimador χ^2 que evaluó la validez del modelo. Además se estimó la dispersión de los datos experimentales mediante el cálculo de σ , correspondiente a la suma ponderada de las diferencias al cuadrado entre valores teóricos y experimentales. El ajuste de las constantes de equilibrio se realizó en todos los sistemas de forma de minimizar el error de ajuste del modelo y la dispersión de los resultados. Los diagramas de distribución de especies fueron obtenidos mediante el programa HYPERQUAD Speciation and Simulation (HySS) [179].

5.1.2 Variación de las constantes con la fuerza iónica: Teoría de interacción específica (SIT)

En el caso de reacciones en solución, las interacciones entre las especies y con el solvente pueden llegar a ser fuertes dependiendo de la naturaleza de las especies, la concentración y de la carga. El estado de dilución infinita se define como la situación hipotética en la que no hay interacciones entre las especies en solución ni tampoco interacciones con el solvente. Para el caso del solvente, este estado correspondería al solvente puro. Las desviaciones de las condiciones de dilución infinita se describen con los factores de actividad. Como se mencionó anteriormente, las constantes de equilibrio son medidas a cierta temperatura y fuerza iónica constante, por lo que son válidas solamente para las condiciones experimentales en que fueron determinadas. Como no es posible estudiar los equilibrios en condiciones de dilución infinita, se han desarrollado diferentes métodos [180] para extrapolar los datos obtenidos a diferentes valores de fuerza iónica al estado de dilución infinita.

Según la teoría SIT [181-183], la variación de la constante de equilibrio con la fuerza iónica puede estimarse según la siguiente ecuación:

$$\log K_i = \log K_i^0 - \Delta z^2 DH + I\Delta\epsilon$$

Siendo, K_i = constante de protonación medida, K_i^0 = constante de protonación a dilución infinita, $\Delta z^2 = \sum(carga)_{reactivos}^2 - \sum(carga)_{productos}^2$, DH = término de Debye Hückel, I = concentración fuerza iónica (molal), $\Delta\epsilon$ = diferencia entre las sumas de

coeficientes de interacción específicos de reactivos y productos. El término de Debye Hückel se calcula según la siguiente ecuación:

$$DH = A \sqrt{\frac{I}{(1+B\sqrt{I})}} \quad \text{donde:}$$

$$A = 0.505 \text{ kg}^{1/2} \text{ mol}^{-1/2} \text{ a } 20.0 \text{ }^\circ\text{C} \text{ y } B = 1.5 \text{ kg}^{1/2} \text{ mol}^{-1/2} [180, 184]$$

Los coeficientes de interacción específica (ε), reflejan las interacciones entre los iones. Se espera que sean pequeños para iones de la misma carga, ya que tienden a repelerse, y también para interacciones entre especies no cargadas [180].

En esta teoría se asumen ciertas aproximaciones respecto a las interacciones entre iones para poder estimar la variación de las constantes con la fuerza iónica:

- ✓ Las especies no cargadas tienen coeficiente de interacción cero.
- ✓ Los coeficientes varían de acuerdo a la relación empírica de Debye Hückel y se agrega un último término que corresponde con las interacciones específicas de los iones medidos (no puramente electrostática).
- ✓ Para cada especie de interés se tienen en cuenta solamente las interacciones con los iones de carga opuesta que están en alta concentración, o sea los del electrolito soporte.

Para ejemplificar lo comentado anteriormente, siendo la reacción involucrada $\text{H}^+ + \text{MoO}_4^{2-} \rightarrow \text{HMoO}_4^-$ y el electrolito soporte KNO_3 , se plantea que:

$$\Delta\varepsilon = \varepsilon(\text{H}^+, \text{NO}_3^-) + \varepsilon(\text{K}^+, \text{MoO}_4^{2-}) - \varepsilon(\text{K}^+, \text{HMoO}_4^-)$$

Es importante aclarar que cada término ε debe multiplicarse por el correspondiente coeficiente estequiométrico.

La determinación de $\Delta\varepsilon$ es empírica y surge de los cálculos realizados aplicando la ecuación de SIT. Reordenando la ecuación, si se grafica ($\log K_i + \Delta z^2 DH$) en función de I (mol kg^{-1}) el término de interacción específica $\Delta\varepsilon$ se obtiene a partir de la pendiente y $\log K_i^0$ de la ordenada en el origen. Luego pueden calcularse las constantes según el modelo para realizar la comparación con las constantes experimentales y definir si éstas últimas se ajustan al modelo SIT.

En el presente trabajo de tesis, se realizaron estudios en diferentes concentraciones de fuerza iónica con el objetivo de evaluar el comportamiento de las constantes al variar la fuerza iónica y de esa forma cubrir un amplio rango de sistemas acuáticos, teniendo en cuenta la variabilidad natural de las distintas fuentes de agua. Para cada nivel de concentración de fuerza iónica se determinó la constante de electrodo y a partir de las

constantes de protonación de molibdato medidas se realizó el ajuste mediante SIT. También se realizó el estudio de la variación de las constantes de asociación de los sistemas que contienen aniones de Mo(VI) y Ca con la fuerza iónica para evaluar cómo afecta este parámetro a la interacción de estos elementos, y a la especiación de Mo(VI).

5.2 Desarrollo analítico

5.2.1 Equipos

Todas las corridas potenciométricas fueron realizadas en un titulador automatizado de alta resolución Mettler Toledo T50 Graphix (Suiza) en una celda encamisada de 50 mL por la que circula agua termostatazada en baño de agua Brookfield (Middleboro, EUA). El equipo fue controlado a través del software LabX Titration (Mettler Toledo, Suiza). Se utilizó un electrodo combinado de pH de membrana de vidrio y electrodo de referencia de Ag/AgCl. En la **Figura 5.2** puede apreciarse el titulador utilizado en los experimentos.



Figura 5. 2 Titulador Mettler Toledo T 50.

5.2.2 Reactivos

Las soluciones de Mo(VI) fueron preparadas a partir de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Merck, Alemania). Como sales de partida de los iones metálicos se utilizaron $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma Aldrich, EUA), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Sigma Aldrich, EUA), $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Baker, EUA), CdCl_2 (Carlo Erba, Italia), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Baker, EUA), ZnCl_2 (Sigma Aldrich, EUA), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Fluka, Alemania). Para fijar la fuerza iónica se utilizó KNO_3 (Sigma Aldrich, EUA). Las soluciones estándar de HCl y NaOH fueron preparadas por dilución de las ampollas Titrisol (Merck, Alemania) y estandarizadas con carbonato de sodio (Sigma Aldrich, EUA)

y biftalato de potasio (Sigma Aldrich, EUA) respectivamente. Todas las disoluciones fueron preparadas con agua tipo ASTM I obtenida a partir de un sistema de purificación de agua Millipore-MilliQ Merck (Alemania). Las disoluciones stock de los cationes metálicos fueron valoradas según técnicas estándar para establecer su concentración exacta [185, 186, 187].

5.2.3 Condiciones de trabajo

Las constantes de protonación de MoO_4^{2-} fueron determinadas a partir de cuatro titulaciones potenciométricas (aproximadamente 100-150 puntos experimentales cada una) en el rango de concentración entre 0,8 y 4,0 mmol L^{-1} . Se realizaron valoraciones utilizando NaOH 0,1 mol L^{-1} como estándar. Los estudios de protonación fueron realizados a diez diferentes concentraciones de fuerza iónica entre 0,01 y 0,50 mol L^{-1} . Las constantes de protonación experimentales fueron convertidas a escala molal utilizando los valores de densidad apropiados y extrapolados a fuerza iónica cero (dilución infinita) utilizando el modelo SIT descrito anteriormente.

Se realizaron titulaciones de MoO_4^{2-} en presencia de M(II) (M= Mg, Ca, Fe, Cu, Zn y Cd) para evaluar el comportamiento frente a estos cationes metálicos. Para cada sistema MoO_4^{2-} /M(II) se llevaron a cabo al menos cuatro titulaciones (aproximadamente 100-150 puntos experimentales cada una), con concentraciones de M(II) entre 0,2 y 1,0 mmol L^{-1} , y relaciones molares Mo(VI)/M(II) que variaron de 4:1 a 1:2.

Se trabajó en un rango de pH entre 2,0 y 10,0 en todos los casos donde no se observó formación de sólido durante la titulación (en estudios de protonación o en presencia de alcalino-térreos). El intervalo de pH fue reducido de 2,0 a 5,0 en aquellos sistemas en los que se observó formación de sólido, presumiblemente debido a la precipitación de molibdatos insolubles en esas condiciones. Para esos sistemas en los que se observó precipitación durante la titulación, se realizaron experimentos adicionales con concentraciones menores (0,2 mmol L^{-1}). En estas condiciones, la precipitación aún ocurría, pero pudo cubrirse un rango de pH mayor. La interacción de MoO_4^{2-} con Fe(III) fue estudiada de manera similar. Las titulaciones se realizaron hasta que se observó la formación de sólido debido a la hidrólisis del catión metálico. Las constantes de formación de las hidroxio especies solubles de Fe(III) fueron determinadas en las mismas condiciones experimentales mediante la titulación de la solución del catión metálico. Los valores de esas constantes de hidrólisis fueron tenidos en cuenta para el cálculo de las constantes de formación de las especies Mo(VI)-Fe(III). Para los otros cationes metálicos no se esperan reacciones de hidrólisis relevantes en el rango de pH estudiado. De hecho, se incluyeron en los cálculos constantes de hidrólisis previamente reportadas en condiciones experimentales similares [19] obteniéndose los mismos resultados con errores similares.

En cada corrida potenciométrica, las soluciones fueron introducidas en la celda de titulación. Luego de alcanzado el equilibrio térmico, las concentraciones hidrogeniónicas son determinadas por lecturas sucesivas luego de la adición de solución estándar titulante $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ desde una microbureta automática. En la mayoría de los sistemas se titularon soluciones ácidas de Mo(VI) con NaOH. En las titulaciones de Ca y Mg se observó deriva en las medidas de potencial al aumentar la concentración de Mo en las soluciones de trabajo. Se observó que si se aumentaban los tiempos de espera para la realización de las medidas de potencial la deriva mejoraba, lo que podía estar indicando un problema cinético al desplazar los equilibrios con una base [35]. Para verificar los equilibrios se realizaron las titulaciones en sentido inverso con HCl y no se observó diferencia con los resultados obtenidos con la titulación con NaOH, por lo que en sistemas con cationes de alcalino- térreos se titularon soluciones básicas con HCl.

La fuerza iónica fue fijada en un valor constante mediante el agregado de disoluciones de KNO_3 y se utilizaron bajas concentraciones de Mo(VI) y de cationes metálicos, de manera que la suma de las concentraciones iónicas iniciales no superaron el 6% de la fuerza iónica total.

Para eliminar el efecto del dióxido de carbono de la atmósfera se trabajó en un sistema cerrado y se hizo burbujear gas argón durante la titulación. El argón recibió un tratamiento especial previo a entrar en la celda de titulación. Con el objetivo de eliminar trazas de oxígeno, se burbujeó sobre una solución de pirogalol alcalino y luego fue difundido sobre granallas de KOH para eliminar cualquier resto de CO_2 (g) y finalmente antes de entrar a la celda de titulación se saturó en una disolución de la fuerza iónica de trabajo. La temperatura se fijó en $(20,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ y se monitoreó a través de un sensor de temperatura DT1000 (Mettler Toledo, Suiza).

En la **Figura 5.3** se muestra el sistema de titulación completo.



Figura 5. 3 Vista completa del sistema de titulaciones potenciométricas.

El establecimiento del equilibrio luego de cada adición de titulante fue verificado vía software de control LabX Titration a través del análisis de la dispersión de los valores de potencial medido. De esta manera, cuando se obtiene un conjunto de valores concordantes se ordena a la bureta que realice más agregado de titulante. La concordancia de los valores de potencial se fijó previamente en el método de trabajo. En este trabajo los criterios fueron $dE/mV = 0,1$ con medidas cada 3 s con un tiempo mínimo de espera de 45 s y máximo de 130 s.

Como se muestra en la **Figura 5.4** el programa LabX Titration recopila los datos experimentales de potencial y volumen de disolución estándar de cada potenciometría realizada.

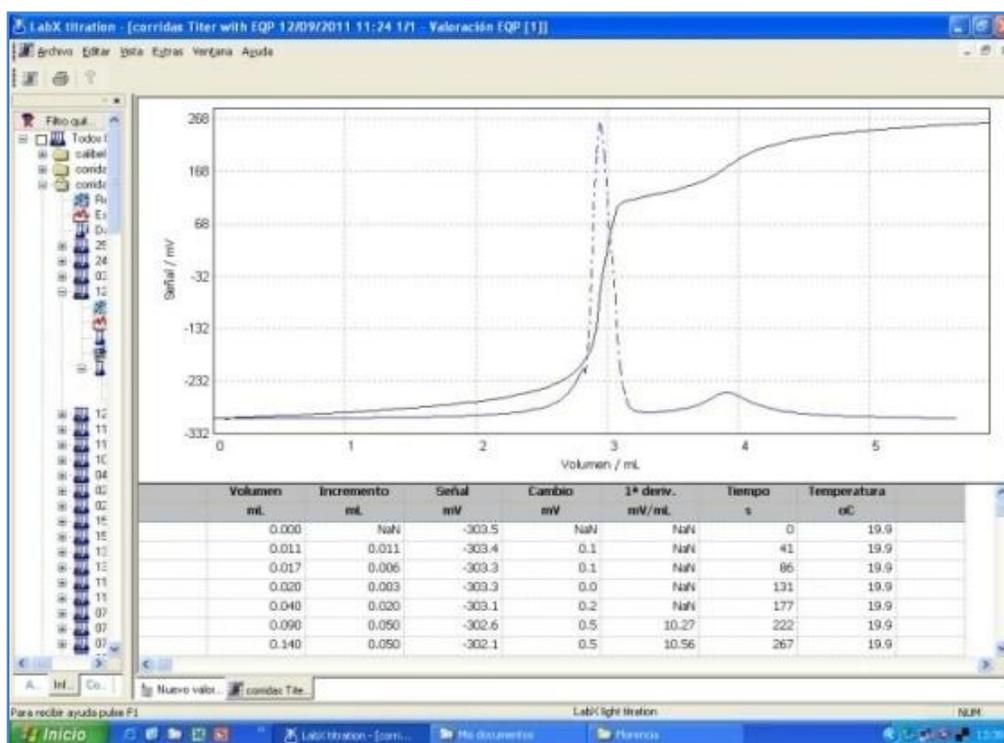


Figura 5. 4 Captura de pantalla del software LabX Titration.

Una vez obtenidos los datos experimentales de las potenciometrías, deben ingresarse al HYPERQUAD para el ajuste de las constantes. Los datos de entrada incluyen: concentración de estándar de titulación y concentraciones iniciales de todos los reactivos, volumen total de solución, datos experimentales de las titulaciones (variación de potencial eléctrico en función de volumen de valorante), temperatura y constante de electrodo.

En la captura de pantalla que se muestra en la **Figura 5.5** puede apreciarse el ajuste entre la curva de valoración experimental y la teórica (la línea roja corresponde a la

curva teórica y los cuadrados azules a los puntos experimentales). La bondad del ajuste depende de la calidad de los datos experimentales y del modelo elegido para describir al sistema. Previamente al ajuste debe definirse el máximo error experimental permitido y el programa realiza un refinamiento estadístico de las constantes con los datos experimentales a partir de un sistema propuesto con las posibles especies existentes en el sistema en estudio. El programa realiza el ajuste estadístico mediante cálculos iterativos de las concentraciones de las especies en equilibrio en base a los balances de masa involucrados [178].

Una vez realizado el ajuste de constantes, el programa HySS permite realizar los diagramas de distribución de especies en función del pH a partir de las constantes calculadas anteriormente y de los datos de concentración de reactivos y volumen final del sistema, lo que posibilita el análisis de las especies químicas presentes en el rango de pH de interés.

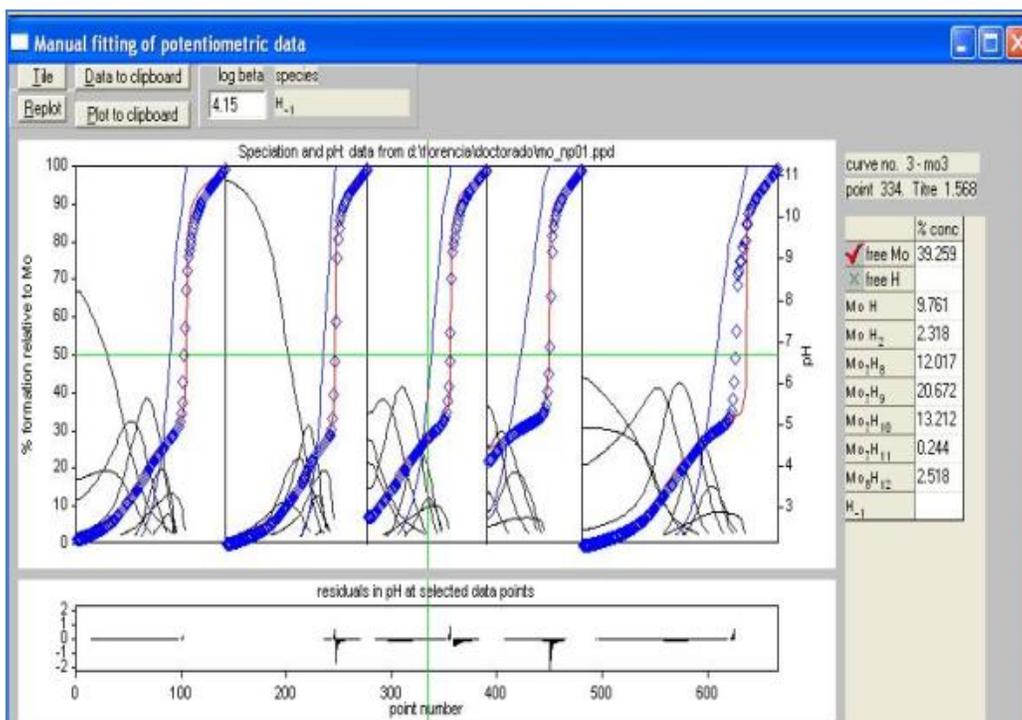


Figura 5. 5 Curvas de titulación experimental (azul) y teórica (rojo).

Los valores de potencial de celda E° y el potencial de unión líquida fueron determinados de acuerdo a [174] por titulaciones independientes de solución ácida con estándar básico en las condiciones experimentales de temperatura y fuerza iónica de las corridas. La calibración en el rango básico es realizada para el cálculo de K_w para cada sistema. Por ejemplo, para KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ se obtuvo un valor promedio de $\log K_w=13,96$, que está en línea con valores previamente reportados en las mismas condiciones experimentales [19, 188].

5.3 Resultados y discusión

5.3.1 Selección de la fuerza iónica de trabajo

Para la selección del electrolito soporte debe tenerse en cuenta que éste sea inerte desde el punto de vista del catión, de manera de que no interaccione fuertemente con el molibdato ni con los polianiones de molibdeno. En una primera instancia se trabajó con $N(CH_3)_4Cl$ para fijar la fuerza iónica y se realizó la valoración con solución estándar de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Se detectó interacción entre el catión del electrolito soporte (de gran tamaño) y los polianiones formados en la zona ácida, apreciándose la formación de sólido al avanzar la titulación debido a la baja solubilidad de las sales formadas por dicho catión y los aniones de Mo(VI) presentes. Se intentó con solución estándar de NaOH como valorante y también se observó precipitación inicial. Como consecuencia de lo anterior se planteó como estrategia el uso de un electrolito soporte que tuviera un catión más pequeño de manera que no interaccionara con los polianiones formados durante la titulación.

A raíz de esto se eligió KNO_3 como electrolito soporte para fijar la fuerza iónica. Por un lado, el nitrato es un anión comúnmente encontrado en las aguas naturales, si bien no se encuentra entre los mayoritarios como cloruro, sulfato y carbonato [5]. Desde el punto de vista del catión potasio no se espera interacción con las especies de Mo(VI) por ser de tamaño pequeño y además hay informes de que la interacción de los aniones de Mo con los cationes de elementos alcalinos es muy débil [176]. No obstante, se verificó experimentalmente que no hay interacción.

Como sistema base, en todos los experimentos se empleó una fuerza iónica (I) de $0,100 \text{ mol L}^{-1}$. Este valor fue elegido por ser aproximadamente el valor promedio encontrado para la fuerza iónica en las aguas subterráneas de baja profundidad, que son los escenarios ambientales más probables para encontrar concentraciones apreciables de elementos traza, entre ellos molibdeno. Las aguas subterráneas más profundas (fuerzas iónicas mayores) son por lo general, ambientes más reductores debido a la poca cantidad de oxígeno presente, por lo que el Mo predomina en sus formas reducidas [5].

5.3.2 Constantes de protonación y polimerización

En la **Tabla 5.1** pueden apreciarse los resultados de los equilibrios de protonación y polimerización de Mo(VI) y las correspondientes constantes a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ en $KNO_3 \text{ } 0,100 \text{ mol L}^{-1}$. Entre paréntesis se detalla el valor estimado de la desviación estándar de la última cifra significativa. Estas constantes corresponden a los mejores resultados obtenidos del ajuste del comportamiento químico en solución del Mo(VI) en ausencia de iones metálicos.

Equilibrio	KNO ₃	NaClO ₄	NaCl
	0,100 mol L ⁻¹	0,15 mol L ⁻¹	0,100 mol L ⁻¹
	log K	log K	log K
MoO ₄ ²⁻ + H ⁺ → HMoO ₄ ⁻	4,10(5)	3.9	4,04
MoO ₄ ²⁻ + 2 H ⁺ → H ₂ MoO ₄	8,28(2)	7.69	7,58
7 MoO ₄ ²⁻ + 8 H ⁺ → Mo ₇ O ₂₄ ⁶⁻ + 4 H ₂ O	54,79(5)	53.3	52,34
7 MoO ₄ ²⁻ + 9 H ⁺ → HMo ₇ O ₂₄ ⁵⁻ + 4 H ₂ O	59,71(5)	58.77	57,77
7 MoO ₄ ²⁻ + 10 H ⁺ → H ₂ Mo ₇ O ₂₄ ⁴⁻ + 4 H ₂ O	64,34(5)	63.2	62,37
7 MoO ₄ ²⁻ + 11 H ⁺ → H ₃ Mo ₇ O ₂₄ ³⁻ + 4 H ₂ O	67,50(1)	66.4	66,00
8 MoO ₄ ²⁻ + 12 H ⁺ → Mo ₈ O ₂₆ ⁴⁻ + 6 H ₂ O	76,01(9)	75.0	---
σ	0.5		

Tabla 5. 1 Logaritmos de las constantes de protonación y polimerización de Mo(VI) determinadas en KNO₃ 0,100 mol L⁻¹ y NaClO₄ 0,15 mol L⁻¹ a 20 °C [35] y en NaCl 0,100 mol L⁻¹ a 25 °C [191].

Las estequiometrías de las especies detectadas y los valores de las constantes están en línea con los datos reportados previamente en condiciones experimentales similares [19, 31-35, 189-191]. Esta comparación en el sentido estricto debería realizarse con datos obtenidos en las mismas condiciones de temperatura y fuerza iónica. Como antecedentes de trabajo a 20,0 °C hay un reporte del grupo de investigación utilizando como electrolito soporte NaClO₄ 0,15 mol L⁻¹ [35]. En la **Tabla 5.1** se muestran los resultados para comparar. Como puede observarse, las especies detectadas son las mismas y los valores de las constantes de protonación son ligeramente menores, pero muy similares a los ajustados en el presente trabajo de tesis. Muy recientemente se han reportado nuevos valores para estas constantes (ver **Tabla 5.1**) determinados en NaCl 0,100 mol L⁻¹ a 25 °C [191]. Aunque las condiciones experimentales son ligeramente diferentes, los valores de las constantes y las especies detectadas son similares a los resultados de la presente tesis. Empleando NaCl 0,100 mol L⁻¹, los autores no reportaron la especie Mo₈O₂₆⁴⁻, que sí ha sido detectada en NaCl 1,0 mol L⁻¹ según reportes anteriores [31, 33]. Estos reportes están de acuerdo con los presentes resultados, ya que dicha especie se favorece con el aumento de la fuerza iónica. En este trabajo la especie Mo₈O₂₆⁴⁻ sólo fue detectada usando KNO₃ como electrolito soporte en condiciones de fuerza iónica mayor o igual a 0,1 mol L⁻¹. Tomando como base la observación de los resultados experimentales de la tesis y los reportados por otros investigadores, puede afirmarse que los valores de las constantes varían ligeramente según la identidad del electrolito soporte y su concentración, lo que sugiere cierto grado de interacción de las especies de Mo(VI) con el electrolito soporte.

En la **Figura 5.6** se muestra el diagrama de distribución de especies de Mo(VI) para una concentración total de Mo de 1,0 mmol L⁻¹ realizado a partir de los datos de la **Tabla 5.1**.

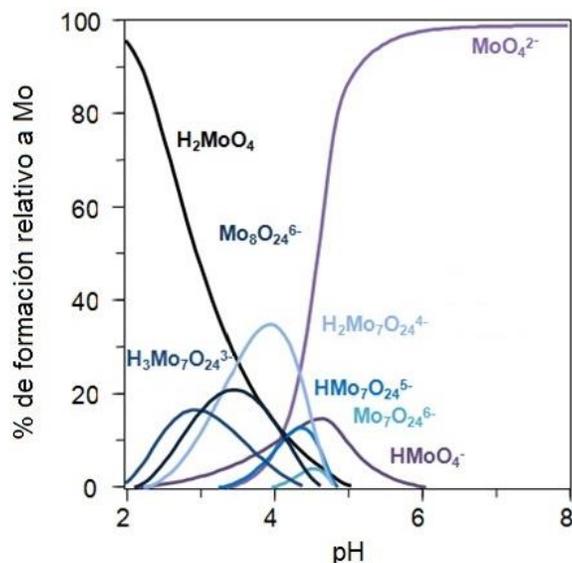


Figura 5. 6 Diagrama de distribución de especies de Mo(VI) para $[Mo] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$.

A valores de pH mayores que 4-5 predomina el anión molibdato, MoO_4^{2-} . En la zona más ácida se aprecia la formación de polianiones ($Mo_7O_{24}^{6-}$, $HMo_7O_{24}^{5-}$, $H_2Mo_7O_{24}^{4-}$, $H_3Mo_7O_{24}^{3-}$, $Mo_8O_{24}^{6-}$) hasta pH 4. El anión heptamolibdato $Mo_7O_{24}^{6-}$ es el polianión más cargado y es fácilmente protonado al disminuir el pH en ausencia de cationes metálicos

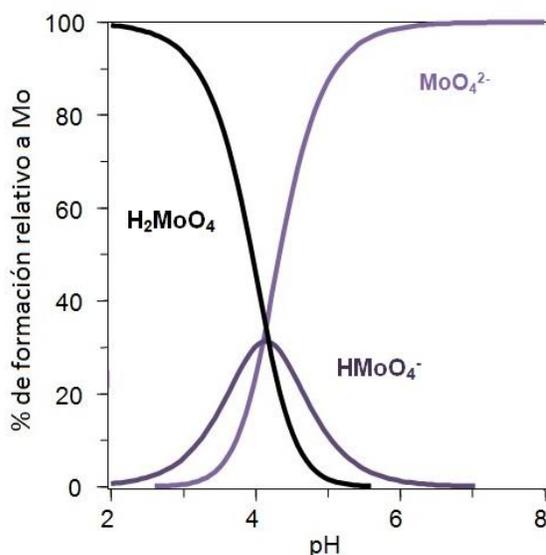


Figura 5. 7 Diagrama de distribución de especies de Mo(VI) para $[Mo] < 1 \text{ mmol L}^{-1}$.

Cuando se realiza el diagrama, teniendo en cuenta una concentración de Mo menor a 1 mmol L^{-1} no se aprecia la formación de polianiones, solamente se protona el anión molibdato a pH ácido para dar $HMoO_4^-$ y H_2MoO_4 . Nuevamente, la especie predominante a pH mayor a 4 es molibdato (**Figura 5.7**). Por lo tanto, en ausencia de cationes metálicos, Mo(VI) se presenta como oxoanión monomérico a pH mayor a 4. En

condiciones más ácidas, este oxoanión se protona para formar especies protonadas monoméricas o poliméricas. La formación de los polianiones está condicionada entonces por el pH del medio y por la concentración total de Mo.

Para evaluar si existe correlación entre las constantes de equilibrio y la concentración de la fuerza iónica del medio se realizaron estudios a 20,0 °C en un rango de fuerza iónica entre 0,010 y 0,500 mol L⁻¹ y se ajustaron las constantes correspondientes. Las constantes obtenidas fueron convertidas a escala molal (mol Kg⁻¹) utilizando los valores de densidad de las disoluciones utilizadas para ajustar la fuerza iónica y extrapoladas a fuerza iónica cero (dilución infinita) utilizando el modelo SIT (ver ecuaciones en sección 5.1.2).

En la **Tabla 5.2** se presentan los valores ajustados a partir de los datos experimentales de las constantes de protonación y polimerización de Mo(VI) a 20,0 °C en KNO₃ 0,010-0,500 mol L⁻¹. En la **Tabla 5.3** pueden apreciarse los valores de las constantes de protonación y polimerización calculados según el modelo SIT.

[KNO ₃] mol L ⁻¹	log K									
	0,010	0,020	0,040	0,050	0,100	0,200	0,300	0,400	0,500	
MoO ₄ ²⁻ + H ⁺ → HMoO ₄ ⁻	4,70(1)	4,82(4)	4,67(3)	4,28(2)	4,10(5)	4,46(6)	3,846(6)	3,98(6)	4,156(9)	
MoO ₄ ²⁻ + 2 H ⁺ → H ₂ MoO ₄	7,7(1)	8,26(9)	7,98(8)	7,77(3)	8,28(2)	7,3(3)	6,3(2)	6,95(4)	7,15(3)	
7 MoO ₄ ²⁻ + 8 H ⁺ → Mo ₇ O ₂₄ ⁶⁻ + 4 H ₂ O	54,8(2)	55,7(4)	55,2(2)	54,4(2)	54,79(5)	55,59(7)	53,791(9)	53,99(2)	54,25(1)	
7 MoO ₄ ²⁻ + 9 H ⁺ → HMo ₇ O ₂₄ ⁵⁻ + 4 H ₂ O	60,31(5)	60,4(5)	60,48(6)	59,85(4)	59,71(5)	60,32(4)	58,704(7)	58,64(3)	59,06(1)	
7 MoO ₄ ²⁻ + 10 H ⁺ → H ₂ Mo ₇ O ₂₄ ⁴⁻ + 4 H ₂ O	65,32(3)	65,6(1)	65,41(4)	64,19(3)	64,34(5)	64,84(5)	62,21(1)	61,79(6)	62,45(2)	
7 MoO ₄ ²⁻ + 11 H ⁺ → H ₃ Mo ₇ O ₂₄ ³⁻ + 4 H ₂ O	69,83(3)	70,1(1)	69,94(4)	67,37(5)	67,51(1)	66,8(7)	64,93(2)	63,9(2)	64,63(7)	
8 MoO ₄ ²⁻ + 12 H ⁺ → Mo ₈ O ₂₆ ⁴⁻ + 6 H ₂ O					76,01(9)	76,4(2)	72,68(4)	72,61(2)	72,97(5)	
σ	0,7	1,9	0,2	0,7	1,5	0,7	0,6	0,3	0,2	

Tabla 5. 2 Logaritmos de las constantes de protonación y polimerización de Mo(VI) determinadas en KNO₃ 0,010-0,500 mol L⁻¹ a 20 °C. Entre paréntesis se detalla el valor estimado de la desviación estándar de la última cifra significativa.

[KNO ₃] mol Kg ⁻¹	log* β ^H ₀	log K										Δε
		0.010	0.020	0.040	0.050	0.101	0.202	0.305	0.409	0.510		
MoO ₄ ²⁻ + H ⁺ → HMoO ₄ ⁻	4,82	4,70	4,82	4,67	4,28	4,06	4,27	4,247	4,11	4,159	-0,05	
MoO ₄ ²⁻ + 2 H ⁺ → H ₂ MoO ₄	8,42	7,7	8,26	7,98	7,77	8,23	7,7	7,3	7,77	7,19	0,05	
7 MoO ₄ ²⁻ + 8 H ⁺ → Mo ₇ O ₂₄ ⁶⁻ + 4 H ₂ O	55,15	54,8	55,7	55,2	54,4	54,95	55,80	53,711	54,32	54,43	-1,9	
7 MoO ₄ ²⁻ + 9 H ⁺ → HMo ₇ O ₂₄ ⁵⁻ + 4 H ₂ O	61,06	60,31	60,4	60,48	59,85	59,53	60,37	59,12	59,37	59,22	0,7	
7 MoO ₄ ²⁻ + 10 H ⁺ → H ₂ Mo ₇ O ₂₄ ⁴⁻ + 4 H ₂ O	66,77	65,32	65,6	65,41	64,19	64,56	64,87	63,15	63,20	62,69	0,05	
7 MoO ₄ ²⁻ + 11 H ⁺ → H ₃ Mo ₇ O ₂₄ ³⁻ + 4 H ₂ O	71,40	69,83	70,1	69,94	67,37	67,99	67,2	66,19	65,9	65,12	-1,9	
8 MoO ₄ ²⁻ + 12 H ⁺ → Mo ₈ O ₂₆ ⁴⁻ + 6 H ₂ O	79,91					76,09	76,5	72,82	72,79	73,13	-5,0	

Tabla 5. 3 Logaritmos calculados por SIT de las constantes de protonación y polimerización de Mo(VI) en KNO₃ 0,010-0,510 mol Kg⁻¹ a 20 °C. *Constante de protonación a dilución infinita calculada por SIT.

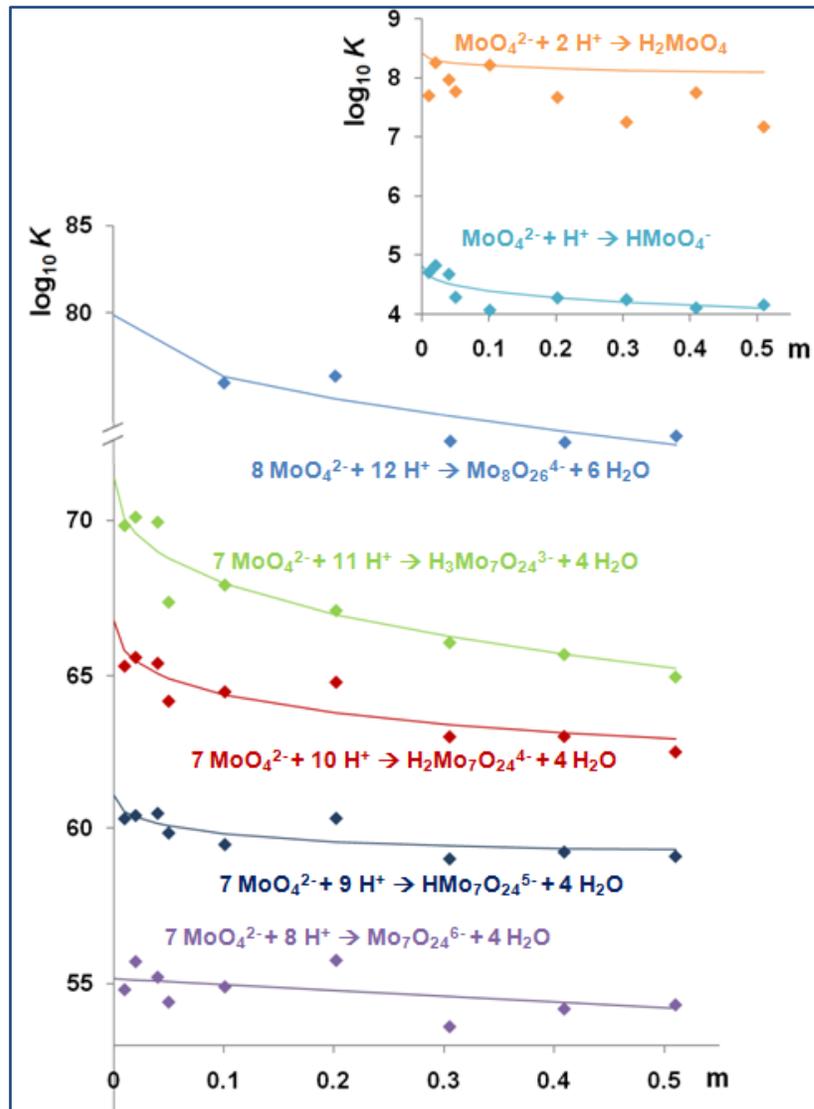


Figura 5. 8 Constantes experimentales y calculadas de Mo(VI) a diferentes concentraciones de KNO_3 a $20,0\text{ }^\circ\text{C}$.

Como se desprende del análisis de los datos experimentales, las constantes de protonación y polimerización muestran una clara dependencia con la concentración del electrolito soporte.

Al graficar los valores de $\log K$ experimentales y los obtenidos a partir del modelo SIT en función de la concentración molar (m) de fuerza iónica se puede evaluar el ajuste de los datos experimentales al modelo y si efectivamente hay correlación entre el valor de la constante y la concentración de fuerza iónica. La **Figura 5.8** muestra el gráfico obtenido. Los puntos corresponden a los valores de constantes experimentales y la línea continua representa la variación esperada según el modelo SIT. En general, se observa un ajuste

adecuado entre los resultados experimentales y los correspondientes valores calculados. En la segunda protonación de molibdato para dar H_2MoO_4 es donde se observa mayor apartamiento, que puede deberse a que esta constante se determina en base a puntos ubicados a valores de pH muy bajos donde el error de la técnica empleada es mayor [16]. No obstante, se ha reportado la determinación de las constantes de protonación de las especies monoméricas de Mo(VI) por la técnica espectrofotométrica en NaCl 0,100 mol L⁻¹ a 25 °C y los resultados obtenidos no son diferentes a los obtenidos por potenciometría en las mismas condiciones [191].

En lo que respecta a los valores de las constantes a dilución infinita, hay informes para K_1 y β_2 [19] que son consistentes con los resultados de la tesis. Adicionalmente, este año han sido informadas constantes a dilución infinita para todas las especies reportadas en este trabajo (menos para $Mo_8O_{26}^{4-}$) en condiciones experimentales similares y los valores son del mismo orden que los obtenidos en este trabajo [191].

5.3.3 Interacción de oxoaniones de Mo(VI) con cationes metálicos

En la **Tabla 5.4** se presentan las constantes de formación de las especies detectadas para los sistemas M(II)-Mo(VI) y Fe(III)-Mo(VI), determinadas en KNO₃ 0,100 mol L⁻¹ a 20,0 °C.

M(II)	log K				σ
	[M(MoO ₄)]	[M(HMoO ₄) ⁺]	[M(MoO ₄) ₂] ²⁻	[M(Mo ₇ O ₂₄)] ⁴⁻	
Mg	2,51(2)			57,75(9)	1,9
Ca	2,45(2)			57,6(1)	0,2
Fe		7,65(3)		59,37(9)	0,8
Cu		8,17(3)		58,4(1)	0,03
Zn		7,29(8)		58,29(4)	0,03
Cd		6,7(2)	4,8 (2)	58,52(9)	0,4
	[Fe(MoO ₄) ⁺]	[Fe(OH)(MoO ₄)]	[Fe(Mo ₇ O ₂₄)] ³⁻	[Fe(Mo ₈ O ₂₆)] ⁻	
Fe(III)	7,52(1)	5,2 (2)	68,34 (5)	84,88 (8)	0,05

Tabla 5. 4 Logaritmos de constantes de formación M(II)-Mo(VI) y Fe(III)-Mo(VI) determinadas en KNO₃ 0,100 mol L⁻¹ a 20 °C. Entre paréntesis se detalla el valor estimado de la desviación estándar de la última cifra significativa.

Para los sistemas Fe(III)-Mo(VI), se incluyeron como datos de entrada para el cálculo mediante el programa Hyperquad las constantes de hidrólisis del catión (**Tabla 5.5**) determinadas en las mismas condiciones experimentales (KNO₃ 0,100 mol L⁻¹ y 20,0 °C).

Equilibrio	log K	σ
$\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow [\text{Fe}(\text{OH})]^{2+} + \text{H}^+$	-2.74 (5)	
$\text{Fe}^{3+} + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow [\text{Fe}(\text{OH})_2]^+ + 2 \text{H}^+$	-5.80 (6)	1,4
$\text{Fe}^{3+} + 3 \text{H}_2\text{O} \rightarrow [\text{Fe}(\text{OH})_3]^+ + 3 \text{H}^+$	-8.36 (3)	

Tabla 5. 5 Logaritmos de constantes de hidrólisis de Fe(III) determinadas en KNO_3 0,100 mol L^{-1} a 20 °C. Entre paréntesis se detalla el valor estimado de la desviación estándar de la última cifra significativa.

Los valores de las constantes de interacción obtenidas muestran asociación de los cationes metálicos con molibdato y con los polianiones de Mo(VI).

El par iónico neutro $[\text{M}(\text{MoO}_4)]$ se forma por la interacción de los diferentes cationes metálicos con el anión molibdato, predominante por encima de pH 4-5. Para $\text{M}(\text{II})=\text{Fe}$, Cu, Zn y Cd, la constante de formación de la especie $[\text{M}(\text{MoO}_4)]$ no pudo ser determinada en las condiciones de medida debido a la baja solubilidad del molibdato del metal. En estos casos se observó precipitación durante la valoración, aún para concentraciones del orden de 0,1 mmol L^{-1} . En un intervalo de pH más ácido se detectaron las especies monoméricas $[\text{M}(\text{HMoO}_4)]^+$ para Fe (II), Cu, Zn y Cd y además $[\text{M}(\text{MoO}_4)_2]^{2-}$ para Cd. En todos los casos se verificó además la interacción con el polianión $\text{Mo}_7\text{O}_{24}^{6-}$. Para Fe(III) se detectaron las especies $[\text{Fe}(\text{MoO}_4)]^+$, $[\text{Fe}(\text{OH})(\text{MoO}_4)]$, $[\text{Fe}(\text{Mo}_7\text{O}_{24})]^{3-}$ y $[\text{Fe}(\text{Mo}_8\text{O}_{26})]^-$.

En la **Figura 5.9** se presenta el diagrama de distribución de especies de Ca, que es muy similar al de Mg.

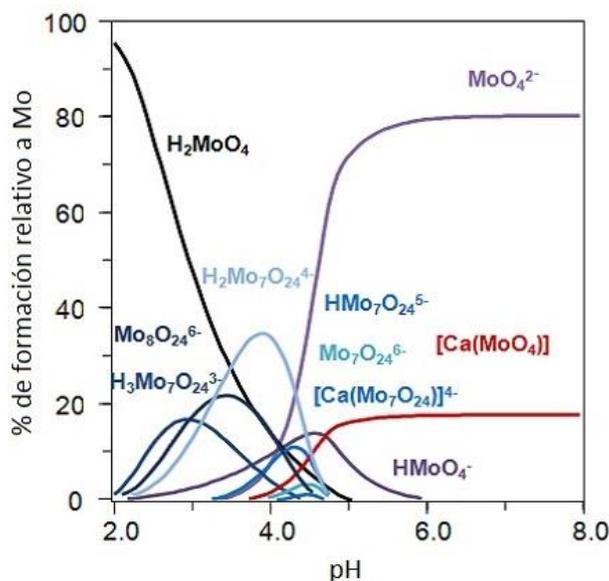


Figura 5. 9 Diagrama de distribución de especies calculado a partir de los valores de las Tablas 5.1 y 5.4. $[\text{Mo}] = [\text{Ca}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$.

Para Ca y Mg se detectó la especie neutra $[M(\text{MoO}_4)]$ y predomina a pH mayor a 4,4, para una relación Mo(VI):Ca 1:1 y concentraciones del orden de milimolar. Estos sistemas son los de mayor solubilidad, ya que no se observó precipitación en ningún momento durante las titulaciones. Para estos cationes metálicos se verifica también la interacción con el polianión más cargado, $\text{Mo}_7\text{O}_{24}^{6-}$, para dar la especie $[M(\text{Mo}_7\text{O}_{24})]^{4-}$. Las interacciones con Mg y Ca son del mismo orden.

Para los cationes de los metales de transición +2 se observa una distribución de especies similar a la de los otros cationes +2. En el caso de Cu y Zn (**Figura 5.10**) la especie $[M(\text{HMoO}_4)]^+$ es predominante en ambos casos alrededor de pH 4-5 (siendo más estable en el caso del Cu). Para el sistema que contiene Zn, también aparece aunque en baja proporción, la asociación entre el catión Zn(II) y la especie polianiónica más cargada de Mo(VI): $[\text{Zn}(\text{Mo}_7\text{O}_{24})]^{4-}$.

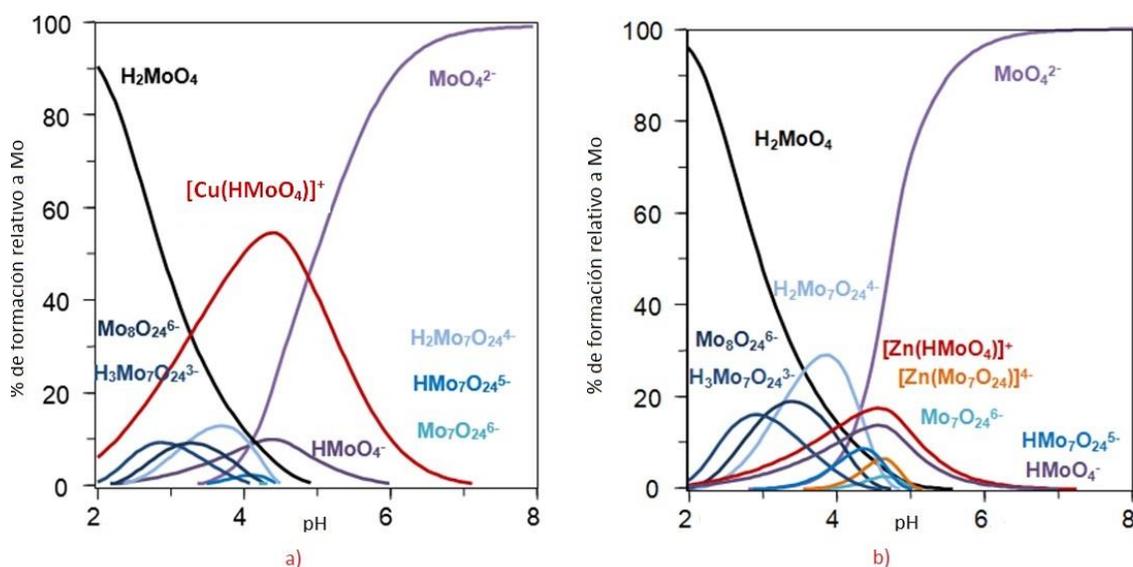


Figura 5. 10 Diagramas de distribución de especies calculados a partir de los valores de las Tablas 5.1 y 5.4.
 a) $[\text{Mo}] = [\text{Cu}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$. b) $[\text{Mo}] = [\text{Zn}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$.

En la **Figura 5.11** se muestra el diagrama de especies Mo(VI)-Cd para concentraciones $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ para ambos elementos. En el caso del ion Cd se detecta además la formación de la especie $[\text{Cd}(\text{MoO}_4)_2]^{2-}$. También se observa que a pH mayor a 4,5 la especie predominante es MoO_4^{2-} , pero también puede encontrarse $[\text{Cd}(\text{MoO}_4)_2]^{2-}$.

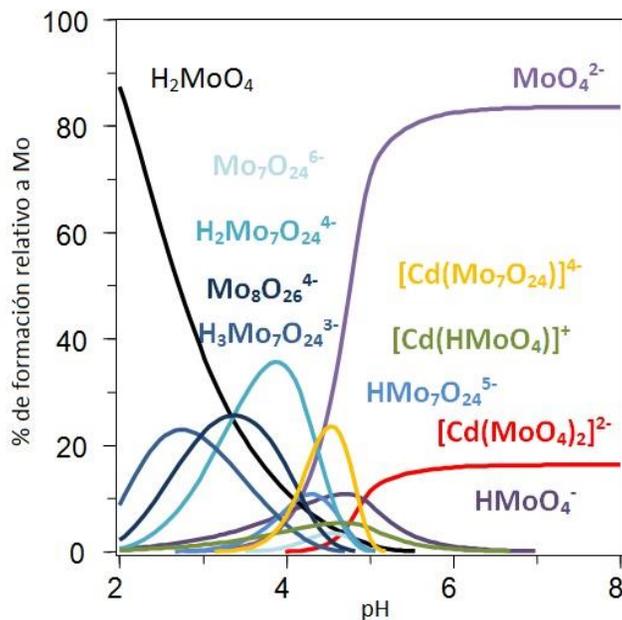


Figura 5. 11 Diagrama de distribución de especies calculado a partir de los valores de las Tablas 5.1 y 5.4. $[\text{Mo}] = [\text{Cd(II)}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$.

Para Fe^{2+} a partir de pH aproximadamente 5 comienza a darse la oxidación a Fe^{3+} y aparece un precipitado de hidróxido férrico, por lo que la valoración se realizó en un intervalo de pH más acotado (**Figura 5.12**).

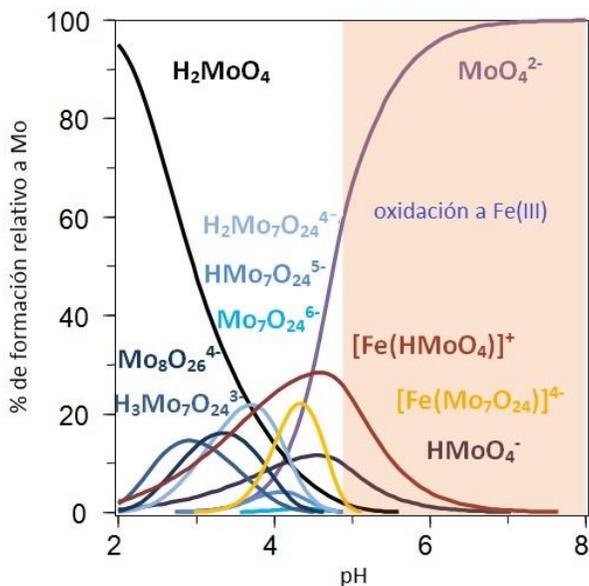


Figura 5. 12 Diagrama de distribución de especies calculado a partir de los valores de las Tablas 5.1 y 5.4. Concentración $[\text{Mo}] = [\text{Fe(II)}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$.

Para Fe(III) de acuerdo a la mayor carga del ion metálico, se observa la formación de especies más estables (constantes mayores) y con mayor grado de deprotonación (Figura 5.13). En consecuencia, las especies predominantes de este sistema en las condiciones del estudio potenciométrico son $[\text{Fe}(\text{MoO}_4)]^+$ y $[\text{Fe}(\text{OH})(\text{MoO}_4)]$. La especie $[\text{Fe}(\text{MoO}_4)]^+$ fue reportada previamente por estudios espectrofotométricos [19], siendo el valor de la constante similar al determinado en la presente tesis, aunque en condiciones experimentales diferentes.

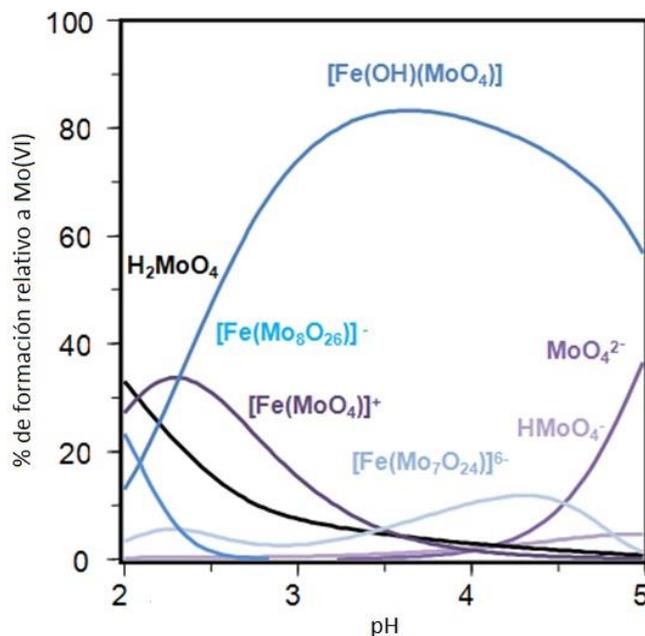


Figura 5. 13 Diagrama de distribución de especies calculado a partir de los valores de las Tablas 5.1 y 5.4. $[\text{Mo}] = [\text{Fe}(\text{III})] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$.

5.3.4 Especiación en aguas naturales

En base a los resultados termodinámicos obtenidos, la especiación del Mo(VI) en aguas naturales está gobernada por MoO_4^{2-} . Asimismo, la predominancia de esta especie está influenciada por la interacción con los cationes metálicos presentes en el agua. Esta interacción dependerá también de la concentración y carga del catión. Además, la presencia simultánea de los diferentes cationes metálicos en una misma muestra debe ser tomada en cuenta. Los resultados presentados anteriormente permiten predecir la forma química en que estará presente el Mo (VI) en diferentes sistemas acuáticos, desde un punto de vista termodinámico. No se espera la precipitación de molibdatos en estas condiciones específicas, sobre todo teniendo en cuenta las concentraciones totales de cationes metálicos. Cabe aclarar, que si bien durante las corridas experimentales esto sucede, es porque se trabaja en niveles de concentración mucho mayores a los que se pueden encontrar en aguas naturales.

Los resultados mostraron que los metales alcalinotérreos ejercen la mayor influencia en la especiación, sobre todo el Ca por ser el más abundante. Por otro lado, los metales menos abundantes no ejercen influencia en la especiación en las condiciones de las aguas naturales.

Los diagramas de distribución de especies en presencia de concentraciones medias de cationes metálicos proveen de información muy útil para entender su comportamiento y movilidad.

La **Figura 5.14** muestra el diagrama de distribución de especies de Mo(VI) en concentración media en aguas naturales no contaminadas en presencia de concentraciones medias de Ca y Mg [3]. Puede observarse que $[Ca(MoO_4)]$ predomina frente a $[Mg(MoO_4)]$, debido a la mayor abundancia natural del calcio. En las condiciones de las aguas naturales (pH mayor a 4,5) casi un 80 % de Mo se une a Ca para formar el par iónico $[Ca(MoO_4)]$, apenas un 2 % con Mg para dar $[Mg(MoO_4)]$ y poco menos de un 20 % se encuentra como MoO_4^{2-} libre. Los polioxomolibdatos no se forman en concentraciones apreciables en las condiciones de las aguas naturales.

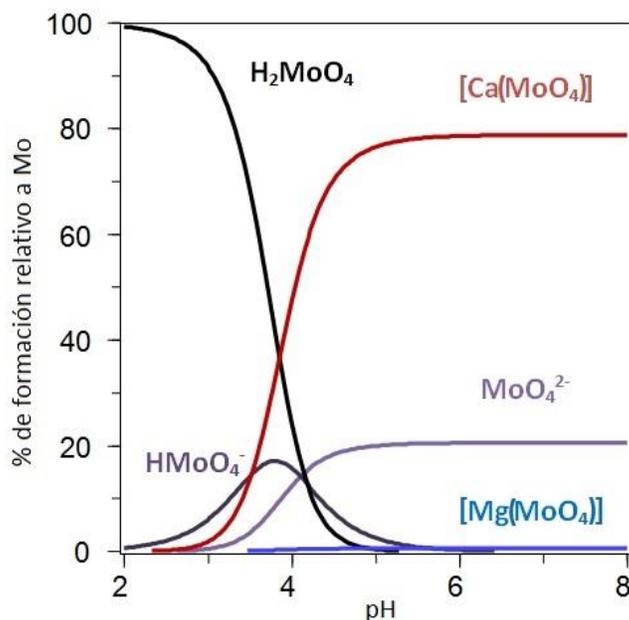


Figura 5. 14 Diagrama de distribución de especies calculado a partir de los valores de las Tablas 5.1 y 5.4. $[Mo] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $[Ca] = 13,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $[Mg] = 0,092 \text{ mmol L}^{-1}$.

Si se realiza el diagrama con las concentraciones medias de Mo(VI) y Cd(II) en aguas naturales [3] , a pH mayor a 4,5 no se observa interacción entre ellos (**Figura 5.15**), debido a la baja concentración de cadmio normalmente encontrada en las aguas naturales.

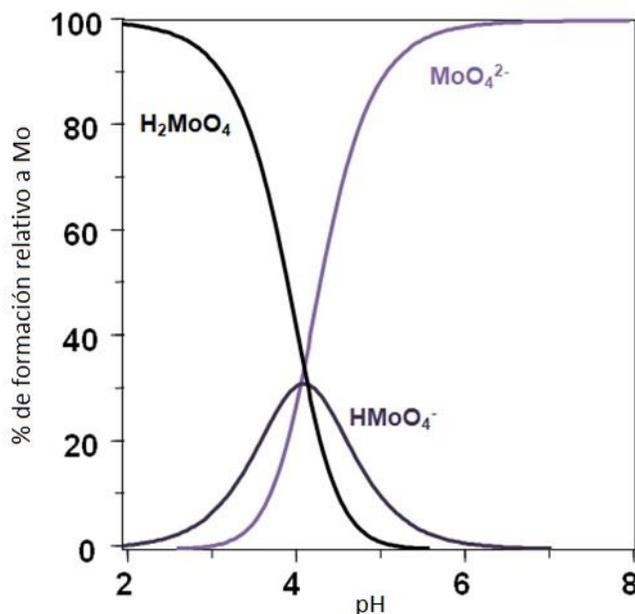


Figura 5. 15 Diagrama de distribución de especies calculado a partir de los valores de las Tablas 5.1 y 5.4. $[Mo] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $[Cd(II)] = 9 \times 10^{-7} \text{ mmol L}^{-1}$.

Con el objetivo de completar el estudio de la química en solución acuosa de Mo, se evaluó la influencia de la concentración del electrolito soporte en las constantes de asociación Ca(II)-Mo(VI). Se seleccionó Ca debido a que es el elemento que efectivamente influye en la especiación de Mo en aguas naturales. Los resultados se muestran en las **Tablas 5.6 y 5.7**.

[KNO ₃] (mol L ⁻¹)	log K				
	0,100	0,200	0,300	0,400	0,500
MoO ₄ ²⁻ + Ca ²⁺ → [Ca(MoO ₄)]	2,45(2)	2,45(1)	2,46(1)	2,48(3)	2,35(4)
Mo ₇ O ₂₄ ⁶⁻ + Ca ²⁺ → [Ca(Mo ₇ O ₂₄)] ⁴⁻	57,6(1)	57,5(1)	58,06(6)	58,1(1)	58,68(6)
σ	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4

Tabla 5. 6 Logaritmos de constantes de formación Ca(II)-Mo(VI) a 20,0°C en diferentes concentraciones de fuerza iónica. Entre paréntesis se detalla el valor estimado de la desviación estándar de la última cifra significativa.

[KNO ₃] (mol Kg ⁻¹)	log β ^H ₀ *	0,101	0,202	0,305	0,409	0,510	Δε
MoO ₄ ²⁻ + Ca ²⁺ → [Ca(MoO ₄)]	3,286	2,53	2,42	2,41	2,42	2,46	1,1
Mo ₇ O ₂₄ ⁶⁻ + Ca ²⁺ → [Ca(Mo ₇ O ₂₄)] ⁴⁻	59,56	57,6	57,6	57,86	58,2	58,65	6,4

Tabla 5. 7 Logaritmos calculados por SIT de las constantes de asociación Ca(II)-Mo(VI) en KNO₃ 0,030-0,51 mol Kg⁻¹ a 20 °C. *Constante de protonación a dilución infinita calculada por SIT.

En la **Figura 5.16** se muestra la dependencia de los valores de las constantes con la concentración de fuerza iónica según el modelo SIT. Como puede observarse hay un buen ajuste.

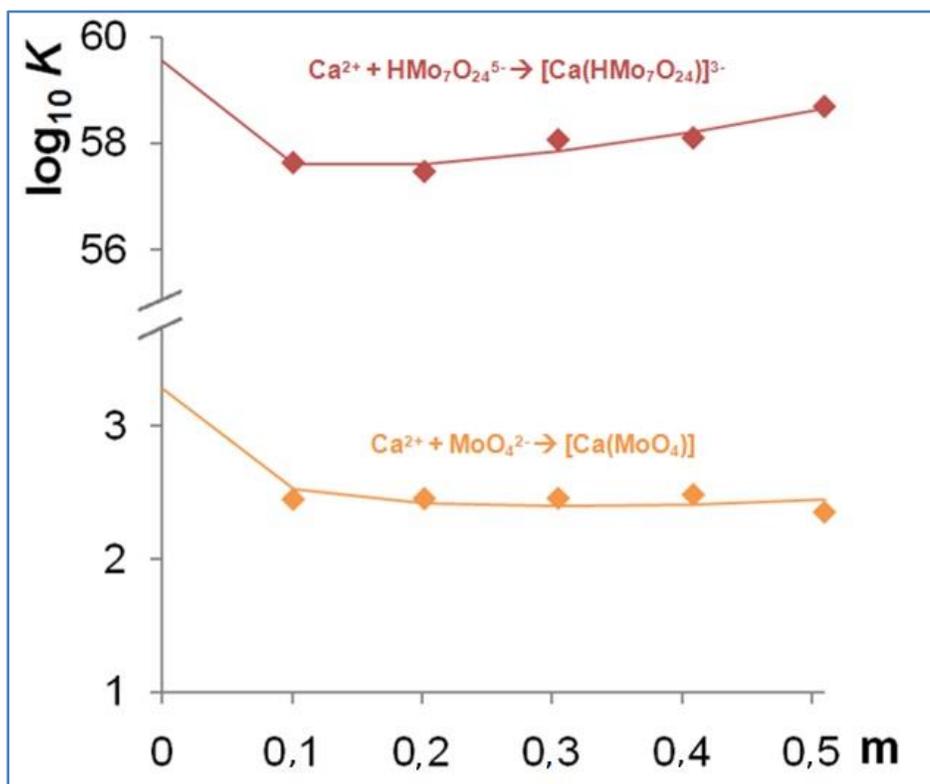


Figura 5. 16 Variación de las constantes de asociación Ca-Mo(VI) con la concentración de fuerza iónica.

Para evaluar el cambio de la especiación en función de la fuerza iónica, se realizaron cálculos en HySS considerando los diferentes valores de las constantes según el medio, y se vio que la especiación es levemente afectada por la fuerza iónica. Por ejemplo, en las condiciones de la **Figura 5.14** ([Mo] = 1 x 10⁻⁷ mol L⁻¹, [Ca] = 13,6 mmol L⁻¹, [Mg] = 0,092 mmol L⁻¹), el porcentaje de Mo(VI) retenido por Ca a pH 7 cambia de 22 a 28% cuando la concentración del electrolito soporte varía entre 0,100 y 0,500 mol L⁻¹.

5.4 Conclusiones

Se determinaron las constantes de protonación y las constantes de asociación de Mo(VI) con los cationes mayoritarios, así como también con cationes relevantes desde el punto de vista biológico, del ambiente y la salud.

Las especies aniónicas MoO_4^{2-} , HMoO_4^- y $\text{Mo}_7\text{O}_{24}^{6-}$ interactúan con todos los cationes +2, a través de atracciones electrostáticas con los átomos de oxígeno de los aniones de Mo [35]. También se estableció que el grado de interacción está influido por la carga del catión, siendo las especies formadas con cationes +3 (por ejemplo Fe) más estables mostrando mayores valores en sus constantes de asociación.

Las formas predominantes en presencia de cationes metálicos son las especies monoméricas $[\text{M}(\text{MoO}_4)]$ y $[\text{M}(\text{HMoO}_4)]^+$ y las correspondientes especies poliméricas que se forman a pH ácido, dependen de la concentración total de Mo y del catión metálico.

En condiciones de pH neutro y alcalino, los pares iónicos con Ca y Mg son especialmente relevantes en la especiación de las aguas naturales, sobre todo para Ca por ser mucho más abundante.

A pH ácido y para una concentración total de Mo mayor a 1 mmol L^{-1} , predominan en general las especies $[\text{M}(\text{Mo}_7\text{O}_{24})]^{4-}$. Por encima de pH 4,5 se forma $[\text{M}(\text{MoO}_4)]$ en solución y dependiendo de la solubilidad de la especie puede llegar a precipitar el sólido.

Los cationes de los metales pesados como Cd y Pb, forman asociaciones más estables con aniones de Mo(VI), pero no son de relevancia en la especiación en las condiciones de las aguas naturales debido a los muy bajos niveles de concentración en los que se encuentran [3].

Se verificó la relación entre los valores de las constantes de protonación de Mo(VI) y la concentración de la fuerza iónica del medio, mostrando un ajuste adecuado de los valores de las constantes experimentales a los calculados por SIT. Esto permite determinar los valores de las constantes en una gran variedad de escenarios naturales realizando un número reducido de titulaciones potenciométricas disminuyendo los costos y el tiempo de investigación. También pudo establecerse, para el caso del sistema Mo(VI)-Ca(II), que la variación de la fuerza iónica del medio ejerce una leve influencia en la especiación.



Capítulo 6

Estudios de solubilidad

Se presentan en este capítulo los detalles de la síntesis y caracterización estructural de las fases sólidas de los sistemas Mo(VI)-Cd(II) y Mo(VI)-Cu(II), así como también la determinación de las constantes de producto de solubilidad de los equilibrios de precipitación asociados en condiciones simuladas de las aguas naturales.



6.1 Descripción y fundamento de la metodología de trabajo

6.1.1 Síntesis y caracterización de molibdatos al estado sólido

De los sistemas que presentaron formación de sólido durante las valoraciones, se seleccionaron los que contienen Cu y Cd para sintetizar los compuestos sólidos de Mo(VI). Estos sistemas resultaron ser los menos solubles y por lo tanto la formación de sólidos podría afectar la especiación. Además no hay reportes de datos de solubilidad en las mismas condiciones experimentales de trabajo [19].

La estrategia de síntesis consistió en la mezcla directa de soluciones acuosas de molibdato y una sal del catión metálico (cloruro o nitrato). Se ajustaron, en cada caso, las condiciones experimentales como pH de reacción, concentración total, etc. Una vez aislados, se realizó la caracterización de los sólidos a través del análisis elemental y espectroscopía IR. La cuantificación de Mo se realizó por espectrometría de absorción atómica electrotrémica y la cuantificación de Cu y Cd por espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS).

6.1.2 Determinación de la solubilidad de molibdatos al estado sólido

Luego de la síntesis y caracterización de los sólidos se evaluó analíticamente su solubilidad. La metodología general consistió en saturar una disolución con el molibdato del metal sólido a temperatura y fuerza iónica constantes (20 °C, KNO_3 0,100 mol L⁻¹). El sistema se dejó con agitación continua hasta alcanzar el equilibrio termodinámico. Se realizó el seguimiento del establecimiento del equilibrio mediante la medida de las concentraciones de Cu y Cd a intervalos de tres días. La concentración del catión metálico en la disolución sobrenadante se relacionó con las concentraciones totales correspondientes a molibdato y H⁺.

La constante de solubilidad, $K_s = [\text{M}^{2+}][\text{MoO}_4^{2-}]$, se obtuvo mediante el uso del programa de cálculo HySS, utilizando como datos de entrada, además de los datos analíticos, las constantes de equilibrio correspondientes determinadas en esta tesis.

6.1.3 Determinaciones analíticas

6.1.3.1 Espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS)

Los fundamentos generales de la espectrometría de absorción atómica, así como también de la atomización electrotrémica fueron desarrollados en el Capítulo 2 de la presente tesis, por lo que solamente se describirán generalidades de la atomización por llama.

Las llamas son un medio para convertir los analitos en átomos libres. Estos son promovidos a estados electrónicos superiores de excitación, ya sea por absorción de

energía térmica adicional desde la misma llama, o bien por absorción de energía radiante que proviene de una fuente externa de radiación electromagnética.

En la técnica de FAAS, la llama que contiene los átomos libres también funciona como reservorio de átomos libres en estado fundamental, cumpliendo un papel análogo al que cumplen las cubetas en espectrometría de absorción molecular. Los átomos libres absorben la radiación enfocada en la llama desde una fuente externa a la misma, generalmente una lámpara de cátodo hueco o de descarga sin electrodos (ver 2.1.1). La radiación incidente absorbida por los átomos libres al ir desde el estado fundamental al excitado, da lugar a la señal analítica [44].

Para muestras líquidas, o disoluciones de las mismas, se utiliza un sistema de introducción de muestra que consta de tres componentes:

- ✓ Nebulizador: Dispersa el líquido en gotas muy pequeñas, formando un aerosol líquido-gas.
- ✓ Modificador del aerosol: Descarta las gotas más grandes para permitir que sólo pasen las que son menores a cierto tamaño.
- ✓ Llama: Convierte los analitos en átomos libres.

En general los atomizadores son de dos tipos, continuos o discretos. En los primeros, la muestra se introduce en el atomizador a una velocidad constante. La señal espectral es, por tanto, constante en el tiempo. Con los atomizadores discretos en cambio, se introduce una cantidad de muestra discreta. La señal espectral en este caso no es continua, sino transitoria, alcanzando un valor máximo y luego disminuyendo a cero cuando el vapor atómico abandona la región de observación.

Los atomizadores continuos más comunes son los de llama. La disolución de la muestra es nebulizada por una mezcla gaseosa de oxidante y combustible, y llevada hacia la llama donde ocurre la atomización. La gran variedad de procesos complejos que tienen lugar, hace que la etapa de atomización sea la etapa más crítica en la espectrometría de llama, ya que limita la precisión de los métodos [44].

En la **Figura 6.1** se ilustran los procesos que ocurren durante la atomización en la llama.

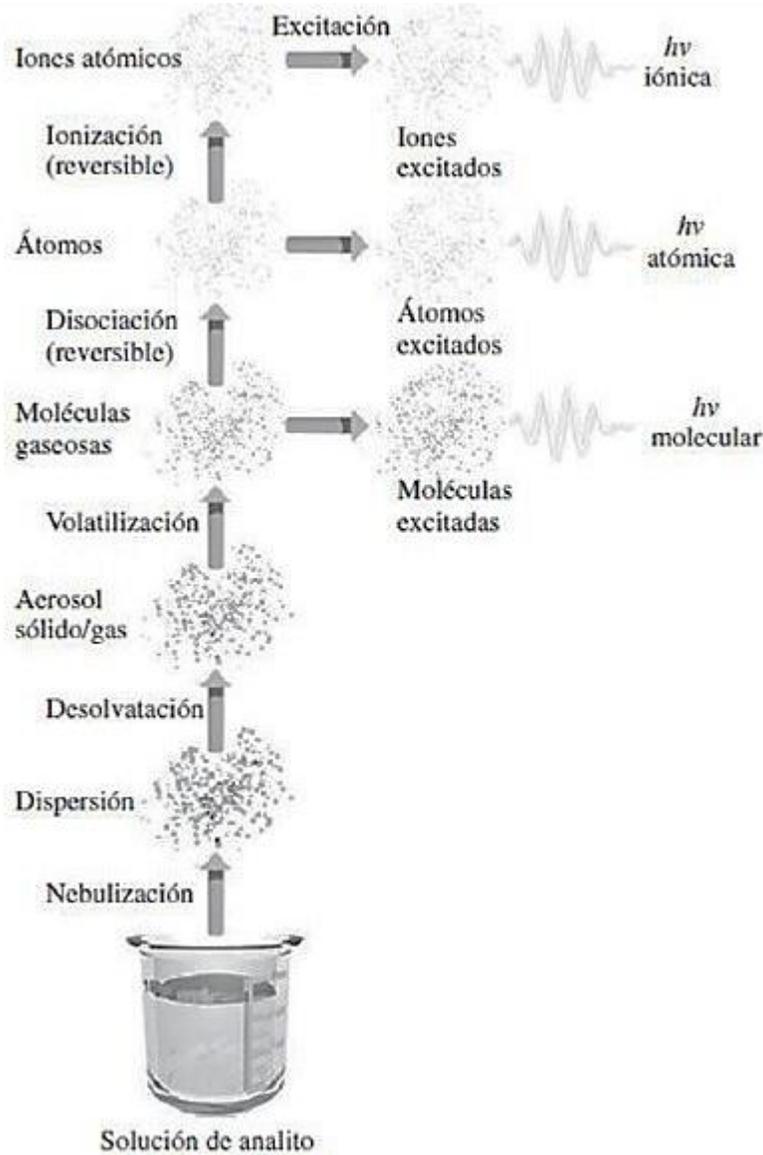


Figura 6. 1 Procesos que ocurren durante la atomización en la llama [44].

Utilizando diferentes mezclas de combustible y oxidante se obtienen llamas de diferente temperatura. La elección dependerá de cuán refractario sea el elemento a determinar. Las llamas más utilizadas son las de acetileno-aire, con una temperatura entre 2100 y 2400 °C. Para elementos refractarios es necesario utilizar una llama más calorífica, como por ejemplo acetileno-óxido nítrico.

Como se ilustra en la **Figura 6.2**, las regiones importantes de una llama incluyen la zona de combustión primaria, la región interzona y la zona de combustión secundaria. La apariencia y tamaño relativo de estas regiones varía en forma considerable con la relación entre combustible y oxidante, así como con la naturaleza de cada uno de ellos.

El equilibrio térmico no se alcanza por lo general en la zona de combustión primaria y, por tanto, rara vez se usa en la espectrometría de llama.

Debido a que en la región interzona predominan átomos libres, es la parte de la llama que más se usa para la espectroscopía. En la zona de reacción secundaria los productos de núcleo interno se convierten en óxidos moleculares estables que son dispersados después hacia los alrededores.

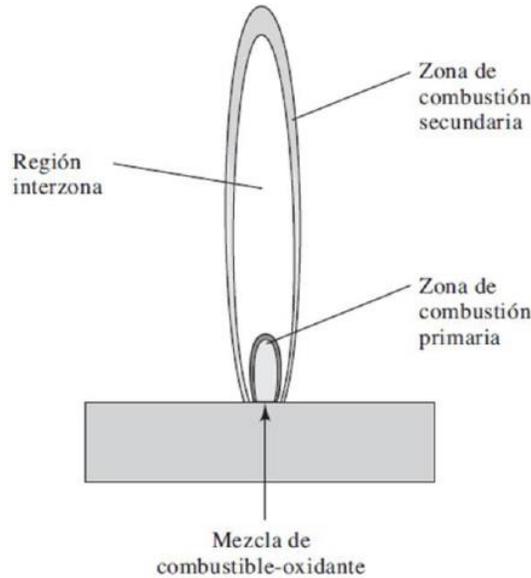


Figura 6. 2 Regiones de la llama [44].

La **Figura 6.3**, muestra el esquema de un quemador de flujo laminar típico que utiliza un nebulizador de tubo concéntrico.

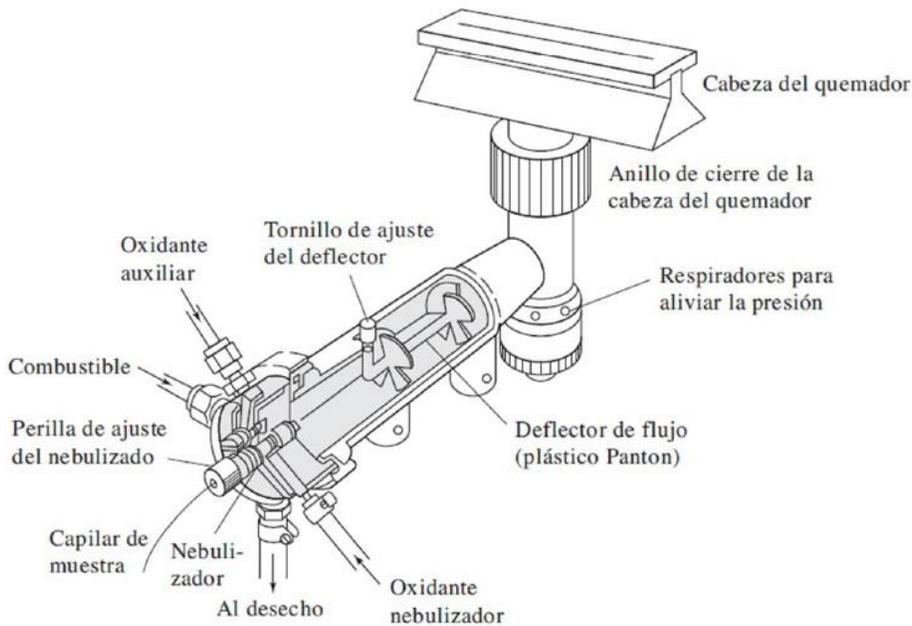


Figura 6. 3 Quemador de flujo laminar [44].

El aerosol, formado por el flujo de oxidante, se mezcla con combustible y pasa por una serie de deflectores que eliminan todo, excepto las gotas de solución más finas. Los deflectores hacen que la mayor parte de la muestra quede en el fondo de la cámara de mezcla donde se drena hacia un recipiente de desechos. El aerosol, el oxidante y el combustible arden en un quemador ranurado que proporciona una llama de 5 a 10 cm de alto. Estos quemadores producen una llama relativamente estática y una longitud de trayecto larga para llevar al máximo la absorción. Estas propiedades tienden a incrementar la sensibilidad y reproductibilidad en la espectrometría de absorción atómica. La cámara de mezcla en este tipo de quemador contiene una mezcla potencialmente explosiva que puede producir un retroceso de la llama si el flujo es demasiado bajo. Está equipado con respiradores de alivio de presión por esta causa [44].

6.1.3.2 Espectroscopía infrarroja (IR)

La espectroscopía infrarroja es una técnica analítica muy difundida, tanto para determinaciones analíticas cualitativas como cuantitativas. Una de las grandes ventajas es que pueden analizarse muestras de todo tipo, ya sean líquidos, sólidos, gases, pastas, polvos, etc. Uno de los avances más significativos de esta técnica fue la introducción de los espectrómetros con transformada de Fourier (FTIR), utilizando las propiedades matemáticas de la transformada de Fourier, para obtener espectros de mejor calidad en menor tiempo. Un espectro IR se obtiene haciendo pasar radiación infrarroja a través de la muestra y determinando la fracción de la radiación incidente que es absorbida a cada valor de energía. La radiación infrarroja no es tan energética como para producir excitación y transición electrónica y las especies que absorben esta radiación son aquellas que presentan estados vibracionales y rotacionales con diferente momento dipolar [44]. Cada banda en el espectro de absorción corresponde entonces a la frecuencia de resonancia de esos modos normales de vibración [192].

Pueden distinguirse dos categorías básicas de vibraciones: de tensión y de flexión. Las vibraciones de tensión son cambios en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos. Las vibraciones de flexión están originadas por cambios en el ángulo que forman dos enlaces.

En la **Figura 6.4** se representan los diferentes tipos de vibraciones moleculares.

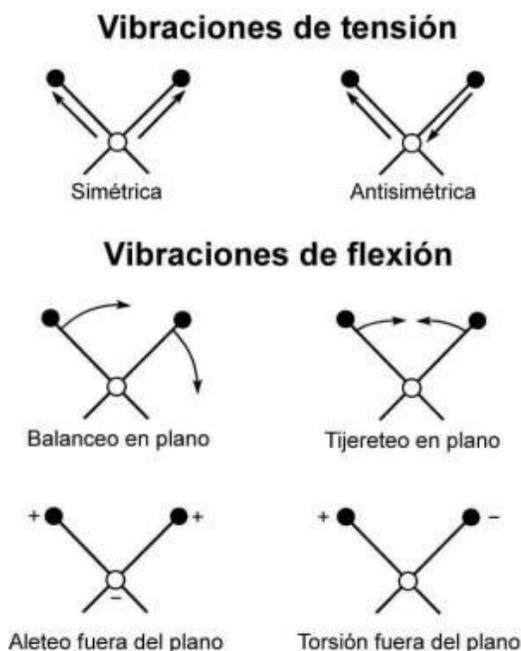


Figura 6. 4 Vibraciones moleculares. (Extraída de <http://www.ehu.es/imacris/PIE06/web/IR.htm>)

En principio, cada sustancia presenta un espectro IR característico (huella dactilar), debido a que todas las especies con enlaces covalentes (excepto las especies diatómicas homonucleares como O₂, N₂, Br₂) tienen algunas vibraciones que, al activarse, provocan la absorción de una determinada energía en la zona del espectro electromagnético correspondiente al infrarrojo. De esta forma, analizando cuáles son los valores de energía que absorbe una sustancia en la zona del infrarrojo, puede obtenerse información cualitativa acerca de su composición.

La aplicación que se da en la tesis es identificar un producto de síntesis. Para ello se realizaron los espectros de los productos sintetizados y se compararon con espectros de los reactivos empleados en los procedimientos de síntesis.

6.2 Desarrollo

6.2.1 Síntesis y caracterización de sólidos

6.2.1.1 Equipos

Para la realización del ajuste de pH de la síntesis se utilizó un pHímetro ADWA AD 1020 (Szeged, Hungría) utilizando un electrodo combinado de pH Thermo Scientific ORION Recorder 9106BNWP.

La determinación de la concentración de Mo fue realizada por medidas directas utilizando calibración externa en espectrómetro de absorción atómica electrotérmica Thermo iCE- 3500 descrito en la sección 2.2.1 y en las condiciones operativas detalladas en 2.2.5.

Las determinaciones de Cu y Cd se llevaron a cabo utilizando un espectrómetro de absorción atómica de llama Perkin Elmer AAnalyst 200 (Norwalk, EUA) equipado con un quemador de 10 cm. Como fuente de radiación para Cu se utilizó una lámpara de cátodo hueco Lumina Perkin Elmer (Norwalk, CT, EUA) operada a 15,0 mA y se utilizó la línea de 324,75 nm. Para Cd se utilizó una lámpara de cátodo hueco Photron (Victoria, Australia) operada a 8,0 mA utilizando la línea de 228,80 nm. La composición de la llama fue acetileno (2,5 L min⁻¹) - aire (10,0 L min⁻¹).

Los espectros IR fueron realizados en un espectrómetro Shimadzu FT-IR Prestige-21 (Japón) en el rango 400 – 4000 cm⁻¹ sobre pastillas de KBr (1 % en muestra).

6.2.1.2 Reactivos

Como fuente de Mo se empleó Na₂MoO₄·2H₂O (Merck, Alemania) y las soluciones de Cu y Cd fueron preparadas a partir de Cu(NO₃)₂·3H₂O (Merck, Alemania) y CdCl₂ (Merck, Alemania) respectivamente. Los ajustes de pH se realizaron con soluciones de HCl y NaOH 0,1 mol L⁻¹.

6.2.1.3 Condiciones de trabajo de síntesis

Para realizar la síntesis se ajustó el pH de las soluciones de molibdato y de los cationes metálicos (se trabajó con volúmenes de 10 mL) a un valor entre 5,5 y 6, rango de valores de pH donde se da la precipitación en las condiciones de las titulaciones potenciométricas. Una vez ajustado el pH, se mezclaron las disoluciones y se dio la formación de los precipitados. Se filtraron utilizando papel de filtro y se lavaron con agua. Las soluciones sobrenadantes se dejaron evaporar por unos días esperando la precipitación de más sólido que se juntó con lo obtenido anteriormente. Los sólidos se secaron al aire y se pesaron para determinar el rendimiento correspondiente.

La **Figura 6.4** muestra los sólidos obtenidos.

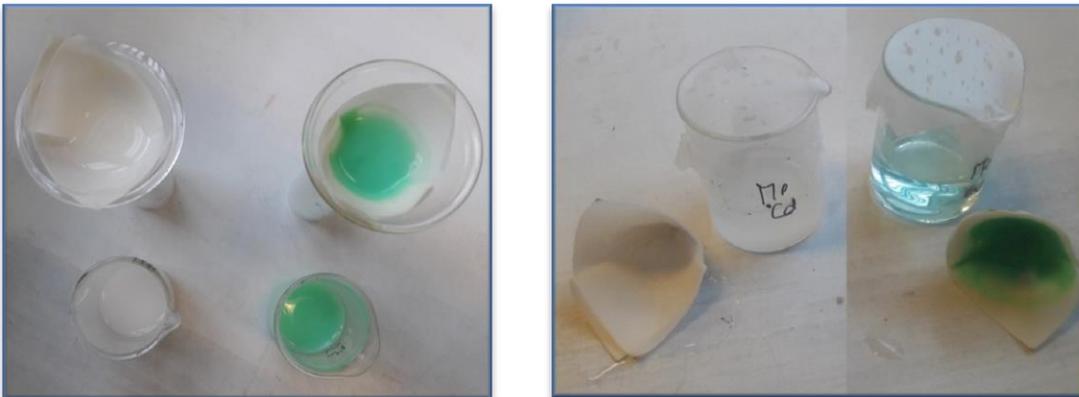


Figura 6. 5 Precipitado de CdMoO_4 (izquierda) y CuMoO_4 (derecha).

6.2.2 Determinación de la solubilidad de molibdatos al estado sólido

6.2.2.1 Equipos

Para la determinación de la solubilidad de los sólidos se montó un sistema de disolución formado por un baño de agua Brookfield (Middleboro, EUA), cinco celdas encamisadas interconectadas entre sí por las que circulaba agua termostatzada y un agitador magnético multipunto MS-MP8 Daihan Scientific (Seúl, Corea).

En las **Figuras 6.6** y **6.7** puede apreciarse el sistema descrito anteriormente.



Figura 6. 6 Sistema para determinación de solubilidad de sólidos.



Figura 6. 7 Celdas termostatzadas con tubos conteniendo los sólidos.

6.2.2.2 Condiciones de trabajo

Las condiciones experimentales de temperatura y fuerza iónica fueron fijadas, al igual que en todos los experimentos anteriores, en 20,0 °C y KNO_3 0,100 mol L^{-1} . En un tubo de vidrio con tapa rosca se colocaron 10 mg de sólido, una pastilla magnética, 10 mL de KNO_3 0,100 mol L^{-1} y 0, 10 o 20 μL de HCl de concentración exactamente conocida (aproximadamente 0,1 mol L^{-1}). El agregado de ácido se utilizó como forma de favorecer la disolución alcanzando distintos puntos del equilibrio. Cada experimento se realizó por triplicado. Se llenaron las celdas con agua y dentro se colocaron los tubos tapados y se agitó constantemente a 455 rpm hasta el establecimiento del equilibrio.

Para realizar el seguimiento del equilibrio se sacaron alícuotas de disolución sobrenadante y se determinó la concentración de los cationes metálicos correspondientes en ellas. Las suspensiones fueron filtradas a través de filtros de membrana de 0,2 μm de diámetro de poro (Sigma-Aldrich, EUA), manteniendo en todo momento el sistema termostatzado a la temperatura de trabajo.

6.3 Resultados y discusión

Se sintetizaron los sólidos correspondientes a los sistemas Mo(VI)-Cu y Mo(VI)-Cd. En la **Tabla 6.1** se presentan los resultados obtenidos de la caracterización química y los rendimientos para ambos sólidos.

Fórmula	Peso fórmula	% teóricos (% experimentales)		% Rend.
		Metal	Mo	
CuMoO₄·3H₂O	277,49	22,9 (23,6)	34,5 (32,1)	55
CdMoO₄	272,35	41,3 (43,7)	35,2 (36,4)	61

Tabla 6. 1 Resultados del análisis elemental, rendimientos y composición química de los sólidos.

El análisis elemental de los sólidos concuerda con fórmulas del tipo $M\text{MoO}_4 \cdot x \text{H}_2\text{O}$, con $x = 3$ para Cu y $x = 0$ para Cd. $\text{CuMoO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ es un sólido amorfo de color verde y CdMoO_4 es de color blanco, amorfo y muy fino.

Para completar la caracterización, se realizó el análisis estructural por espectroscopía infrarroja. Para ello, además de los espectros de los sólidos sintetizados, también se obtuvo el espectro del $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ utilizado como fuente de MoO_4^{2-} en ambos casos.

En la **Tabla 6.2** se presenta un resumen de la asignación de bandas de los espectros.

Tanto en el espectro de $\text{CuMoO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ como el de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ se aprecia una banda ancha a 3331 cm^{-1} y 3333 cm^{-1} respectivamente correspondiente al estiramiento del enlace O-H del agua [193]. También está presente para $\text{CuMoO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ una banda a 1656 cm^{-1} y para $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a 1700 cm^{-1} que corresponden a la flexión del enlace O-H del agua [193]. Esto indica la presencia en ambos casos de moléculas de agua de hidratación. Para CdMoO_4 no se aprecia la banda ancha e intensa en el entorno de los 3000 cm^{-1} ni tampoco a $1600\text{-}1700 \text{ cm}^{-1}$. Lo anteriormente descrito está en línea con las fórmulas determinadas para ambos molibdatos en base al análisis elemental.

Por otra parte, en todos los casos se observa una banda intensa en el entorno de los 800 cm^{-1} . Esta corresponde a la tensión del enlace Mo-O del molibdato [194]. Para $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ se observa a 860 cm^{-1} , para CdMoO_4 a 800 cm^{-1} y para $\text{CuMoO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ a 844 cm^{-1} . Los corrimientos se deben a los distintos enlaces M-Mo que generan un entorno diferente en cada caso.

Compuesto	Bandas del IR (cm ⁻¹)		
	$\nu(\text{O-H})$	$\delta(\text{O-H})$	$\nu(\text{Mo-O})$
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	3333	1700	860
CuMoO ₄ ·3H ₂ O	3331	1656	844
CdMoO ₄	---	---	800

Tabla 6. 2 Asignación de bandas del IR de los sólidos sintetizados.

Como se había indicado anteriormente para sintetizar molibdato de cobre se utilizó como reactivo nitrato de cobre. El anión nitrato cuando está presente como contraion presenta una banda fina e intensa en el entorno de los 1380 cm⁻¹ [195] que no se observa en el espectro del sólido.

Se observó que los molibdatos obtenidos son muy poco solubles en las condiciones experimentales de trabajo. La evaluación de la solubilidad requiere de la determinación de las constantes de producto de solubilidad como $K_s = [\text{M}^{2+}] [\text{MoO}_4^{2-}]$. Para ello es necesario cuantificar las concentraciones totales de las especies M^{2+} y MoO_4^{2-} en equilibrio con las fases sólidas. Mediante la determinación analítica de Cu, Cd y Mo pueden medirse las concentraciones totales del elemento, por lo que se hace necesario tener en cuenta, a los efectos de los cálculos de las concentraciones de las diferentes especies en solución a partir de las constantes ajustadas en la presente tesis, la concentración de H⁺ del medio.

El monitoreo del estado de los equilibrios se realizó en principio determinando la concentración de Mo, Cd y Cu. En las primeras alícuotas analizadas las concentraciones de Mo fueron concordantes con las de Cd y Cu, por lo que posteriormente teniendo en cuenta la estequiometría, el seguimiento continuó solamente a través de estos últimos. Los equilibrios se establecieron en un tiempo de siete días.

Las concentraciones de MoO_4^{2-} total se determinaron a partir de las concentraciones medidas de Cd y Cu y la concentración de H⁺ considerando el volumen total y los volúmenes y concentración del HCl agregado. Las concentraciones de metal y molibdato libres fueron calculadas mediante HySS a partir de los valores anteriores y las constantes de equilibrio de la **Tabla 5.1**.

Los resultados obtenidos una vez alcanzado el equilibrio se resumen en la **Tabla 6.3**.

Metal	$[M]_{\text{tot.}}$ (mol L ⁻¹)	$[\text{MoO}_4^{2-}]_{\text{tot.}}$ (mol L ⁻¹)	$[\text{H}^+]_{\text{tot.}}$ (mol L ⁻¹)	$[M^{2+}]_{\text{libre}}$ (mol L ⁻¹)	$[\text{MoO}_4^{2-}]_{\text{libre}}$ (mol L ⁻¹)	log $K_{s,0}$	Promedio
Cd	0,074	0,074	$1,00 \times 10^{-7}$	$1,84 \times 10^{-4}$	$1,84 \times 10^{-4}$	-7,69	
	0,072	0,072	$1,02 \times 10^{-4}$	$2,34 \times 10^{-4}$	$2,34 \times 10^{-4}$	-7,58	-7,56
	0,074	0,074	$2,02 \times 10^{-4}$	$3,36 \times 10^{-4}$	$3,36 \times 10^{-4}$	-7,41	
Cu	0,072	0,072	$1,00 \times 10^{-7}$	$7,67 \times 10^{-4}$	$7,67 \times 10^{-4}$	-6,34	
	0,072	0,072	$1,02 \times 10^{-4}$	$8,46 \times 10^{-4}$	$8,46 \times 10^{-4}$	-6,30	-6,32
	0,072	0,072	$2,02 \times 10^{-4}$	$9,18 \times 10^{-4}$	$9,18 \times 10^{-4}$	-6,31	

Tabla 6. 3 Constantes de producto de solubilidad y concentraciones totales y en equilibrio de Mo, Cd y Cu en sistemas de estudio de solubilidad de los sólidos.

Para evaluar si las constantes de producto de solubilidad calculadas reflejan los resultados experimentales, se compararon para dos corridas cualesquiera los valores de pH a los que se visualiza la precipitación en las potenciometrías con los valores calculados con HySS a partir de las K_s obtenidas.

Para Cd se seleccionó la corrida que se realizó con concentraciones de Mo y Cd 1,5 mmol L⁻¹ y 1,4 mmol L⁻¹ respectivamente. Para Cu las concentraciones de Mo y Cu fueron 2,9 mmol L⁻¹ y 0,75 mmol L⁻¹ respectivamente. A continuación, en la **Figura 6.8**, se aprecia el pH de precipitación calculado. El molibdato de cadmio se predice en esta simulación precipitando por encima de pH 3,62, siendo la especie predominante a partir de pH 4 aproximadamente. Para molibdato de cobre se predice la precipitación a partir de pH 5,21, hasta un máximo a pH 6. Cabe aclarar que en los diagramas de distribución de especies de la figura solamente se muestran las fases sólidas a efectos de mayor claridad.

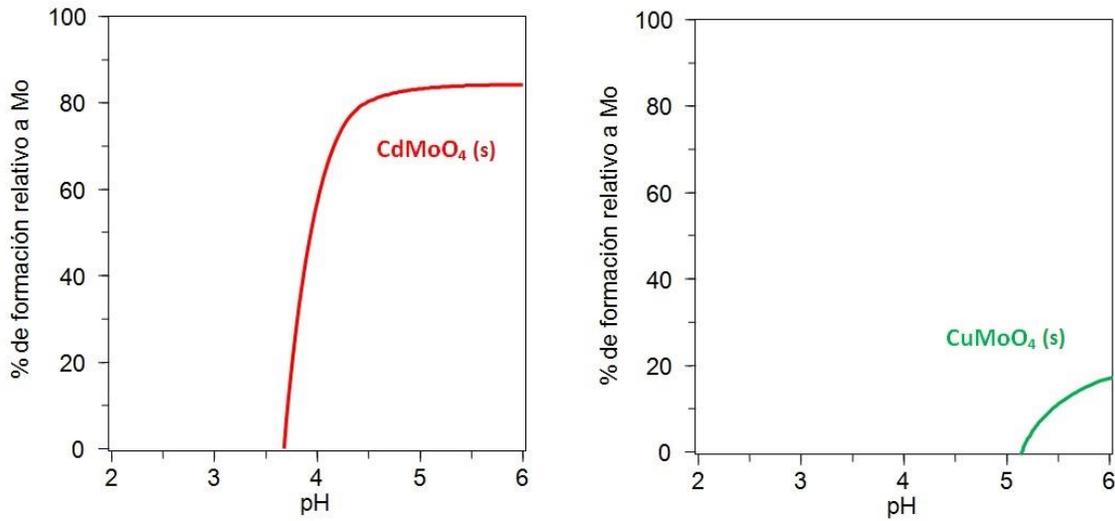


Figura 6. 8 Diagramas de distribución de especies con fases sólidas. Izquierda Mo(VI)-Cd(II). Derecha Mo(VI)-Cu(II). Los valores de pH experimentales a los que comenzó la precipitación de los sólidos surgieron de la observación en el momento de realización de las potenciometrías, lo que coincide con el apartamiento de la curva de titulación experimental de la teórica observado en Hyperquad (Figuras 6.9 y 6.10).

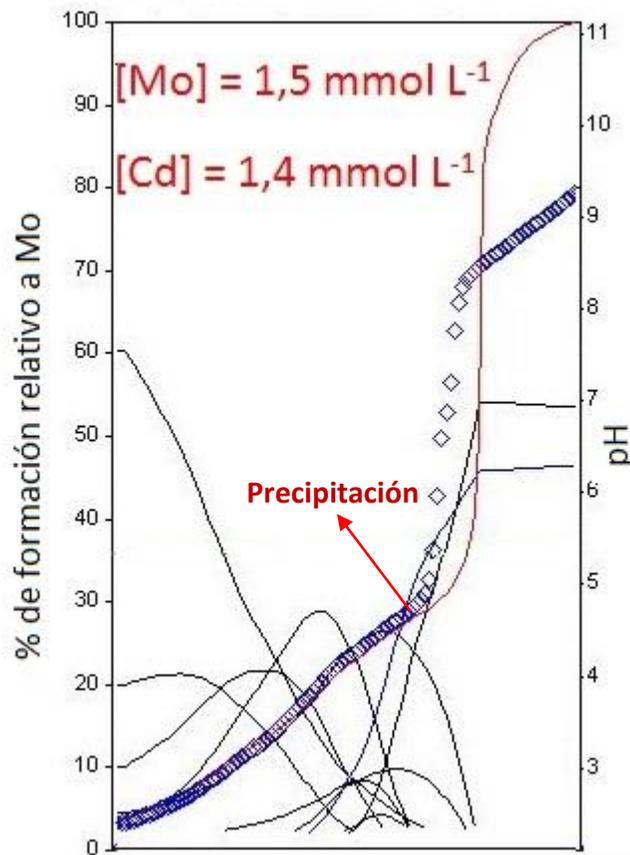


Figura 6. 9 Curva de titulación experimental del sistema Mo(VI)-Cd para concentraciones indicadas.

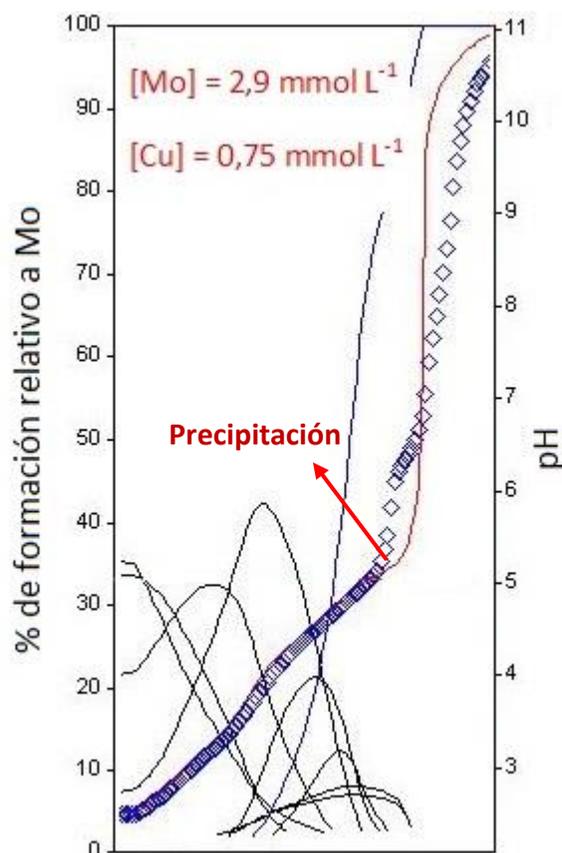


Figura 6. 10 Curva de titulación experimental del sistema Mo(VI)-Cu para concentraciones indicadas.

En la **Tabla 6.4** se indican los pH experimentales y se resume lo discutido anteriormente.

KNO ₃ 0,100 mol L ⁻¹ , 20,0 °C				
Metal	M (mmol L ⁻¹)	Mo (mmol L ⁻¹)	pH _{exp} ^a	pH _{teo} ^b
Cd	1,4	1,5	4,6	3,62
Cu	0,75	2,9	5,2	5,21

Tabla 6. 4 Valores de pH de precipitación experimentales y calculados para las fases sólidas de Mo(VI) con los iones Cd²⁺ y Cu²⁺. ^a pH al cual se visualiza opalescencia en las corridas potenciométricas. ^b pH al cual se predice la formación del sólido correspondiente.

Los resultados teóricos y los experimentales muestran concordancia entre sí, siendo la diferencia máxima de algo más de unidad de pH, lo que es lógico porque la formación del sólido es percibida por el ojo humano un tiempo después de que comenzó a precipitar.

6.4 Conclusiones

Se lograron obtener las fases sólidas de los sistemas Mo(VI)-Cd y Mo(VI)-Cu. Dichos sólidos presentan aspecto amorfo y su estructura corresponde a la fórmula $M\text{MoO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, siendo $x = 3$ para Cu y $x = 0$ para Cd.

El análisis de las bandas de absorción de los espectros de los sólidos está en línea con el análisis elemental y confirma las estructuras propuestas.

Los valores de K_s obtenidos son pequeños, lo que refleja la baja solubilidad de ambos sistemas. El Cd da lugar a un valor de K_s menor que el Cu, por lo que es el menos soluble de los molibdatos (un orden de magnitud).

Se puede decir que la capacidad predictiva del modelo propuesto para el sistema Mo(VI)-M(II), es muy buena en condiciones de saturación. De esta forma, se generó un modelo que con los datos de concentraciones totales de los componentes del sistema, en las condiciones fijadas previamente, puede predecir las especies que coexisten en solución a determinado valor de pH y si hay formación o no de una fase sólida.

Si bien existe la posibilidad de formación de fases sólidas en los sistemas estudiados en las condiciones de las aguas naturales, debido a las bajas concentraciones de los elementos presentes es poco probable que efectivamente precipiten, por lo que predominan las especies solubles que se han determinado anteriormente.



Capítulo 7

Estudio comparativo de distribución de especies de Mo(VI) con otros elementos formadores de aniones en las condiciones de las aguas naturales

En el presente capítulo se realiza un estudio comparativo de la química en solución acuosa de Mo con otros elementos formadores de aniones como W, As, Se y S. Se comparan desde el punto de vista de las especies formadas y de la interacción con cationes metálicos de interés.



El comportamiento químico de los elementos traza que forman cationes es claramente diferente al de aquellos que forman aniones [19, 188]. El análisis de movilidad y reactividad de los elementos traza indica que los cationes tienden a ser retenidos en la corteza terrestre, principalmente por intercambio iónico, sorción y precipitación de minerales y en general no se acumulan en aguas subterráneas en grandes niveles de concentración. En contraste, los elementos traza que forman aniones (principalmente oxoaniones), aunque son retenidos en parte en la corteza terrestre, tienen mayor movilidad. Pueden encontrarse aumentos localizados de la concentración de estos elementos en aguas subterráneas, principalmente causados por actividades antropogénicas. Temperatura, pH y condiciones redox son parámetros a tener en cuenta para determinar su comportamiento [170].

Entre los elementos con capacidad de formar aniones, además de Mo, se destacan W, Se, As y S.

7.1 Tungsteno

Tungsteno es un elemento de interés principalmente por la similitud química con Mo, ya que ambos pertenecen al mismo grupo de la tabla periódica. Al igual que Mo, presenta estados de oxidación variables, siendo +6 el principal. En las aguas naturales está presente en concentraciones promedio de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ [3], encontrándose puntualmente valores mayores en algunos sistemas acuáticos.

La parte experimental del estudio en solución acuosa y el ajuste de las constantes de equilibrio fue realizada por otros miembros del grupo de investigación en el marco del proyecto Fondo Clemente Estable-ANII "Modelado químico de especies aniónicas de elementos traza en aguas naturales". Para esta tesis, a los efectos de realizar la comparación con Mo, se utilizaron los resultados obtenidos para llevar a cabo los estudios de variación de las constantes de equilibrio con la fuerza iónica según la teoría de interacción específica (SIT) y generar los diagramas de distribución de especies correspondientes. Se siguió la metodología general descrita en el capítulo 5 y se utilizó el mismo sistema potenciométrico. Se determinaron las constantes de protonación de W(VI) a 20°C en KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, así como también la variación de estas constantes con la fuerza iónica. También se estudiaron las interacciones de W(VI) con Mg, Ca, Sr, Ba, Mn, Fe(II), Fe(III), Co, Ni, Cu, Zn, Cd y Pb. A los efectos de comparar solamente se tomarán en cuenta las interacciones con los mismos elementos utilizados en el estudio de Mo.

En la **Tabla 7.1** se resumen las especies y constantes de protonación de W(VI) a 20,0°C en KNO_3 0,100 mol L^{-1} [36].

Equilibrio	log K
$\text{WO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HWO}_4^-$	6,355
$2 \text{WO}_4^{2-} + 5 \text{H}^+ \rightarrow \text{HW}_2\text{O}_6^+$	25,13
$6 \text{WO}_4^{2-} + 6 \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{W}_6\text{O}_{22}^{6-} + 2 \text{H}_2\text{O}$	51,56
$6 \text{WO}_4^{2-} + 10 \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_6\text{W}_6\text{O}_{22}^{2-} + 2 \text{H}_2\text{O}$	71,79
$7 \text{WO}_4^{2-} + 9 \text{H}^+ \rightarrow \text{HW}_7\text{O}_{24}^{5-} + 4 \text{H}_2\text{O}$	73,80
$7 \text{WO}_4^{2-} + 11 \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_3\text{W}_7\text{O}_{24}^{3-} + 4 \text{H}_2\text{O}$	82,09
$12 \text{WO}_4^{2-} + 18 \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{W}_{12}\text{O}_{40}^{6-} + 8 \text{H}_2\text{O}$	140,22

Tabla 7. 1 Logaritmos de las constantes de protonación y polimerización de W(VI) determinadas en KNO_3 0,100 mol L^{-1} a 20 °C [36].

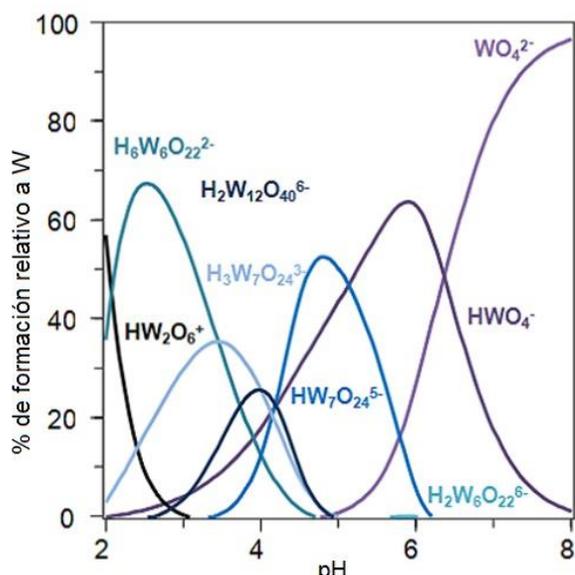


Figura 7. 1 Diagrama de distribución de especies de W(VI) para $[\text{W}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$.

Si se compara el comportamiento de ambos elementos, se observa que WO_4^{2-} (tungstato) es más básico que MoO_4^{2-} y presenta una mayor capacidad de formación de especies polinucleares, incluso a valores de pH mayores a 4, como puede observarse en la **Figura 7.1**. Para W la predominancia de tungstato se da después de pH 7, ya que a valores menores de pH coexiste con HWO_4^- y diversas especies poliméricas. Para Mo la predominancia de molibdato se da de pH 4 en adelante.

[KNO ₃] mol L ⁻¹	log K							
	0,030	0,040	0,050	0,100	0,200	0,300	0,400	0,500
WO ₄ ²⁻ + H ⁺ → HWO ₄ ⁻	6,07	6,135	6,19	6,355	6,15	6,11	6,195	6,274
2 WO ₄ ²⁻ + 5 H ⁺ → HW ₂ O ₆ ⁺	24,50	24,71	24,75	25,13	25,13	24,4	24,48	24,49
6 WO ₄ ²⁻ + 6 H ⁺ → H ₂ W ₆ O ₂₂ ⁶⁻ + 2 H ₂ O	51,14	51,18	51,18	51,56	51,26	50,81	51,18	51,46
6 WO ₄ ²⁻ + 10 H ⁺ → H ₄ W ₆ O ₂₁ ²⁻ + 3 H ₂ O	70,10	71,14	71,52	71,79	71,54	71,08	71,15	71,02
7 WO ₄ ²⁻ + 9 H ⁺ → HW ₇ O ₂₄ ⁵⁻ + 4 H ₂ O	72,31	72,98	73,09	73,80	73,49	73,31	73,61	73,91
7 WO ₄ ²⁻ + 11 H ⁺ → H ₃ W ₇ O ₂₄ ³⁻ + 4 H ₂ O	80,77	81,72	81,80	82,09	81,8	81,12	81,22	81,49
12 WO ₄ ²⁻ + 18 H ⁺ → H ₂ W ₁₂ O ₄₀ ⁶⁻ + 8 H ₂ O	137,75	138,94	139,26	140,22	139,45	138,7	139,06	139,29

Tabla 7. 2 Logaritmos de las constantes de protonación y polimerización de W(VI) determinadas en KNO₃ 0,030-0,500 mol L⁻¹ a 20 °C.

[KNO ₃] mol Kg ⁻¹	log* β ₀ ^H	log K								Δε
		0,030	0,040	0,050	0,101	0,202	0,305	0,409	0,510	
WO ₄ ²⁻ + H ⁺ → HWO ₄ ⁻	6,46	6,07	6,135	6,19	6,360	6,16	6,11	6,204	6,283	1,0
2 WO ₄ ²⁻ + 5 H ⁺ → HW ₂ O ₆ ⁺	25,75	24,50	24,71	24,75	25,16	25,16	24,5	24,54	24,54	2,0
6 WO ₄ ²⁻ + 6 H ⁺ → H ₂ W ₆ O ₂₂ ⁶⁻ + 2 H ₂ O	50,56	51,14	51,18	51,18	51,61	51,31	50,89	51,29	51,56	3,7
6 WO ₄ ²⁻ + 10 H ⁺ → H ₄ W ₆ O ₂₁ ²⁻ + 3 H ₂ O	73,44	70,10	71,14	71,52	71,85	71,6	71,19	71,30	71,15	6,9
7 WO ₄ ²⁻ + 9 H ⁺ → HW ₇ O ₂₄ ⁵⁻ + 4 H ₂ O	73,83	72,31	72,98	73,09	73,86	73,56	73,42	73,76	74,03	4,8
7 WO ₄ ²⁻ + 11 H ⁺ → H ₃ W ₇ O ₂₄ ³⁻ + 4 H ₂ O	83,76	80,77	81,72	81,80	82,16	80,91	81,25	81,39	81,64	6,4
12 WO ₄ ²⁻ + 18 H ⁺ → H ₂ W ₁₂ O ₄₀ ⁶⁻ + 8 H ₂ O	141,20	137,75	138,94	139,26	140,35	139,57	138,9	139,34	139,54	7,6

Tabla 7. 3 Logaritmos calculados por SIT de las constantes de protonación y polimerización de W(VI) en KNO₃ 0,030-0,501 mol Kg⁻¹ a 20 °C. *Constante de protonación a dilución infinita calculada por SIT.

Para evaluar la variación de las constantes de protonación con la fuerza iónica, se determinaron las constantes de protonación y polimerización de W(VI) a 20,0 °C en KNO₃ 0,03-0,5 mol L⁻¹ [36] y se realizaron los cálculos según SIT. En las **Tablas 7.2 y 7.3** se resumen los resultados obtenidos.

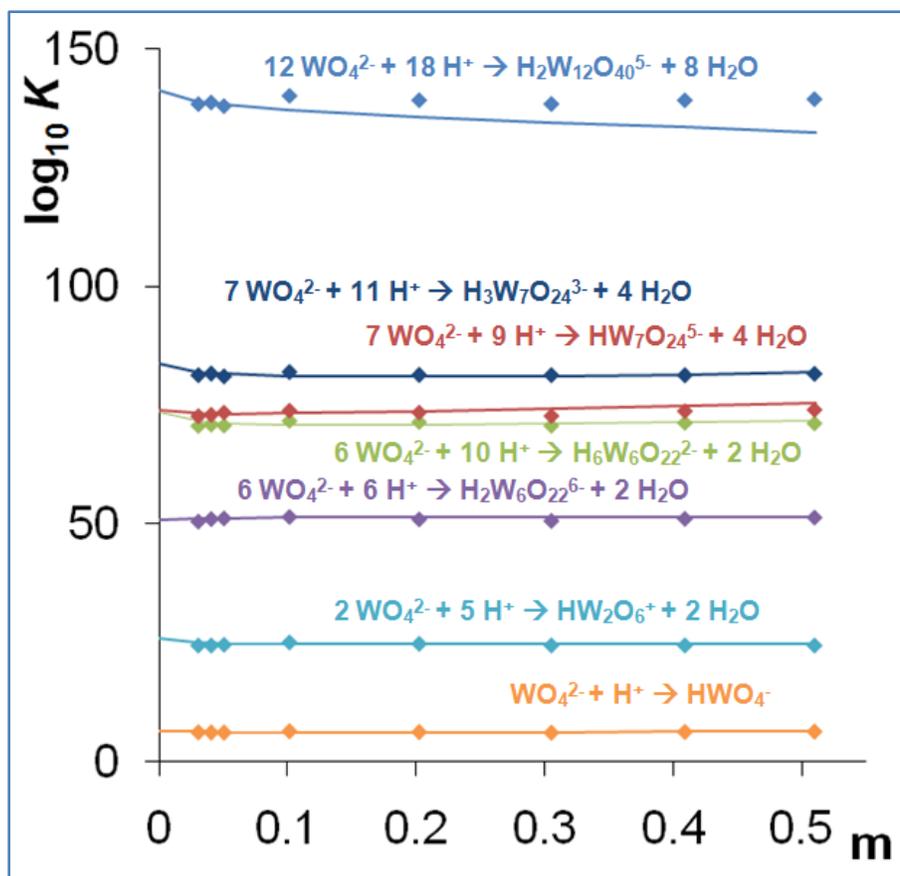


Figura 7. 2 Constantes experimentales y calculadas de W(VI) a diferentes concentraciones de KNO₃ a 20,0 °C.

En la **Figura 7.2** se presentan los valores de las constantes en función de la concentración de electrolito soporte. La línea continua corresponde a los valores calculados según el modelo y los puntos corresponden a los valores experimentales. De la observación y análisis de los datos se desprende que W presenta un comportamiento similar al Mo(VI). Las constantes de protonación y polimerización muestran dependencia con la concentración de fuerza iónica así como también un buen ajuste al modelo SIT.

En la **Tabla 7.4** se muestran los logaritmos de las constantes de asociación de M(II)-W(VI) y Fe(III)-W(VI) a 20,0 °C en KNO₃ 0,100 mol L⁻¹ [36].

log K						
M(II)	[M(WO ₄)]	[M(HWO ₄)] ⁺	[M(H ₂ W ₆ O ₂₂)] ⁴⁻	[M(H ₆ W ₆ O ₂₂)]	[M(HW ₇ O ₂₄)] ³⁻	[M(H ₃ W ₇ O ₂₄)] ⁻
Mg	6,06	11,18	67,12		85,0	
Ca	5,57	10,75	65,33		83,99	
Fe	5,4	11,45			84,8	96,5
Cu	4,23		59,9	83,1	81,7	93,3
Zn	4,8	11,72	59,4		82,1	93,9
Cd	12,6			91,1	89,8	102,1
	[M(WO ₄)] ⁺		[M(H ₂ W ₆ O ₂₂)] ³⁻			[M(H ₃ W ₇ O ₂₄)]
Fe(III)	9,34		70,5			91,0

Tabla 7. 4 Logaritmos de constantes de formación M(II)-W(VI) y Fe(III)-W(VI) a 20,0 °C en KNO₃ 0,100 mol L⁻¹ [36]

La comparación de las interacciones de las especies de Mo(VI) y W(VI) con cationes metálicos se realiza por un lado con los alcalinotérreos y por el otro con los metales de transición de una misma serie. El gráfico de la **Figura 7.3** fue construido en base a los datos de constantes de formación de las especies [M(MoO₄)]/[M(WO₄)] y [M(HWO₄)]⁺ para Ca y Mg de las **Tablas 5.4 y 7.4**.

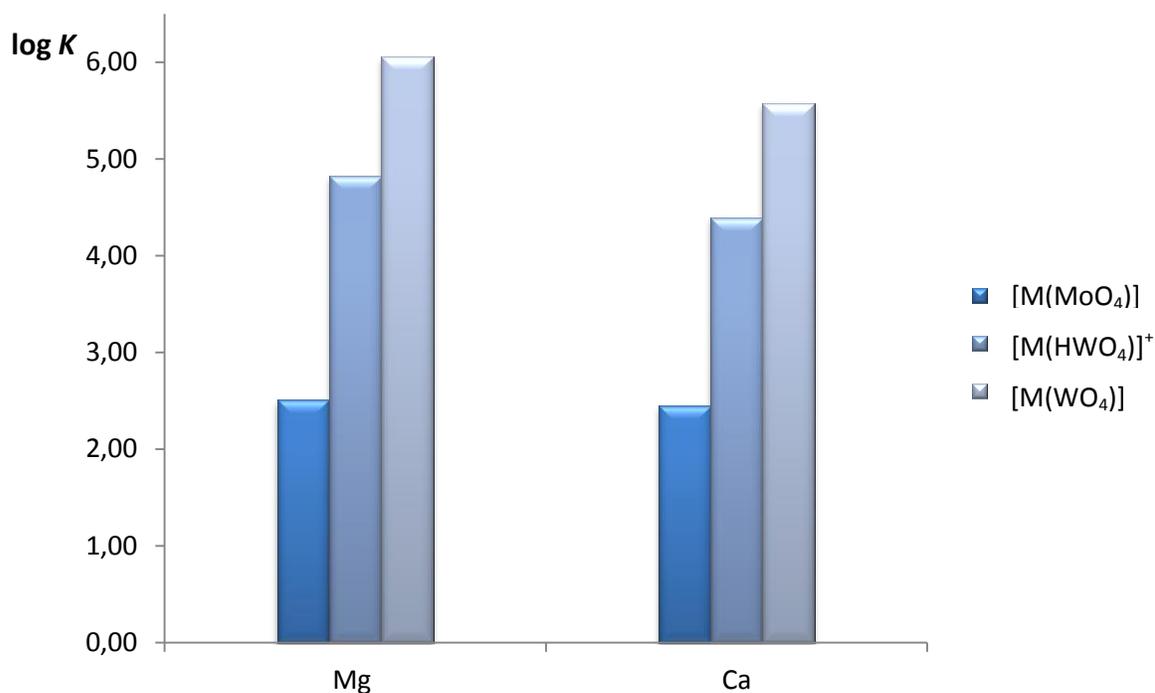


Figura 7. 3 Constantes de formación de especies M(II)-Mo(VI) y M(II)-W(VI) a 20,0 °C en KNO₃ 0,100 mol L⁻¹.

La constante de formación efectiva de la especie $[M(\text{HWO}_4)]^+ / [M(\text{HMoO}_4)]^+$ mostrada en las Figuras 7.3 y 7.4 corresponde a la reacción



que representa mejor la interacción del catión alcalinotérreo con la forma química aniónica de W o Mo.

Teniendo en cuenta el radio iónico, se cumple tanto para Mo como para W que las especies de Mg son levemente más estables que las de Ca, por ser éste último de mayor tamaño lo que da lugar a una menor interacción con el anión. Puede observarse para el caso de W, que la interacción entre M^{2+} y WO_4^{2-} es más fuerte que la de M^{2+} y HWO_4^- debido nuevamente a que están involucradas especies más cargadas. Para especies de la misma estequiometría siempre es mayor la constante de la especie de W, lo que muestra la mayor estabilidad de las especies formadas, en acuerdo con su mayor basicidad respecto a Mo.

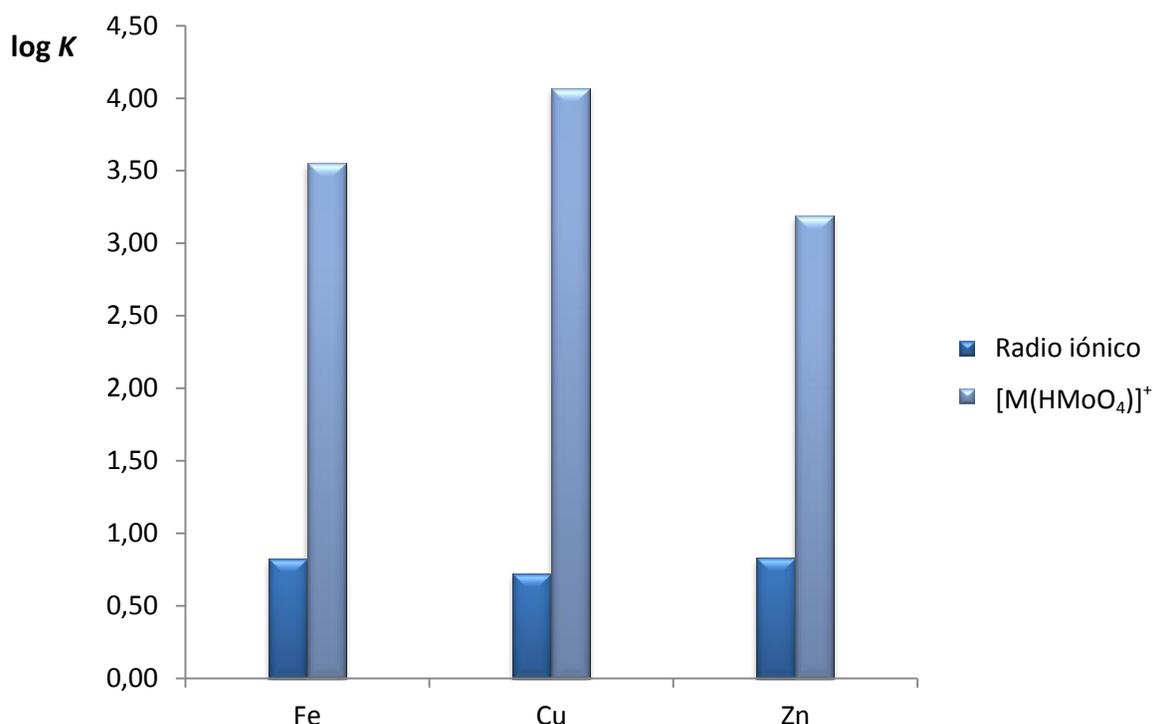


Figura 7. 4 Constantes de formación de especies M(II)-Mo(VI) a 20,0 °C en KNO_3 0,100 mol L^{-1} .

En la Figura 7.4 se muestra como varían las constantes de formación efectivas de la especie $[M(\text{HMoO}_4)]^+$ en elementos de la primera serie de transición. Dichas constantes fueron calculadas de la misma forma que se describió anteriormente para $[M(\text{HMoO}_4)]^+$.

Al avanzar en la serie de izquierda a derecha en la tabla periódica el radio iónico disminuye hasta Cu, y tiene un leve aumento en el Zn. En base a esto se espera que la estabilidad de la especie $[M(HMoO_4)]^+$ aumente de Fe a Cu y tenga una leve disminución para Zn, lo que efectivamente ocurre. Para W se observa la misma tendencia.

A modo de resumen puede decirse, observando los valores de las constantes, que las interacciones de los cationes metálicos +2 son más fuertes con W, generando especies más estables que con Mo. También se observa la formación de más especies con W debido al mayor grado de polimerización que éste presenta. Tanto el aumento de la carga del catión metálico, como la del anión o polianión de Mo o W aumentan la estabilidad de la especie formada. En acuerdo con lo anterior, el ion Fe(III) por ser más cargado forma asociaciones más fuertes que los cationes +2, mostrando así un comportamiento similar al caso de Mo.

A continuación, para evaluar comparativamente el comportamiento con elementos de transición y alcalino térreos, se presentan los diagramas de especies para concentraciones totales 1 mmol L^{-1} de W, Cu y Ca realizados en base a los datos de las **Tablas 7.1 y 7.4 (Figuras 7.5 y 7.6)**.

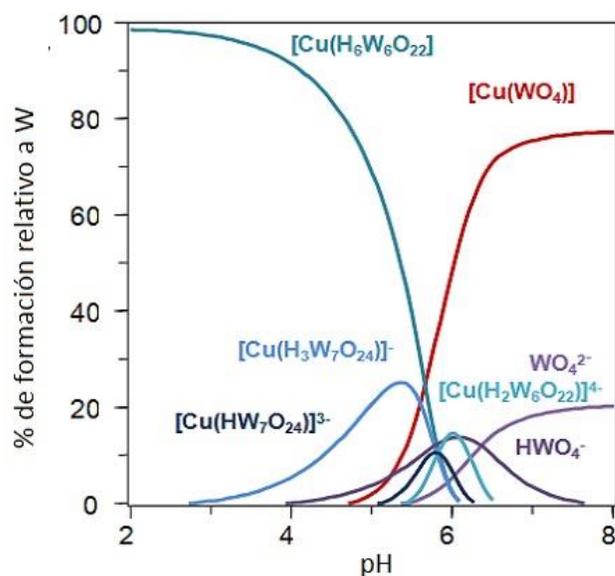


Figura 7. 5 Diagrama de distribución de especies realizado a partir de las constantes de las Tablas 7.1 y 7.4. $[W] = [Cu(II)] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$.

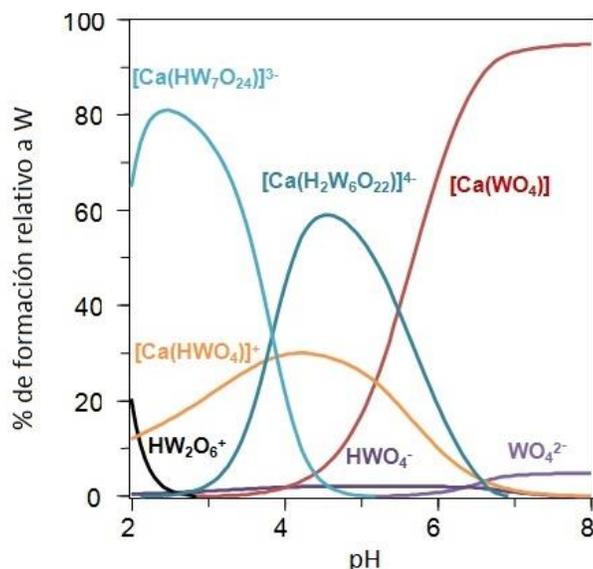


Figura 7. 6 Diagrama de distribución de especies realizado a partir de las constantes de las Tablas 7.1 y 7.4. $[W] = [Ca(II)] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$.

Las especies predominantes de W en presencia de cationes metálicos en condiciones ácidas son las especies monoméricas $[M(HWO_4)]^+$ y los complejos hexa o heptatungstato dependiendo de la concentración total de W. El par iónico $[M(WO_4)]$ predomina en condiciones de pH alcalino o neutro.

En líneas generales, W presenta un comportamiento similar a Mo, siendo la especie que gobierna en las condiciones de las aguas naturales el anión WO_4^{2-} . También se verifica que la interacción con Ca es la más relevante en aguas naturales. A diferencia de Mo, en estas condiciones pueden encontrarse especies poliméricas (**Figura 7.7**).

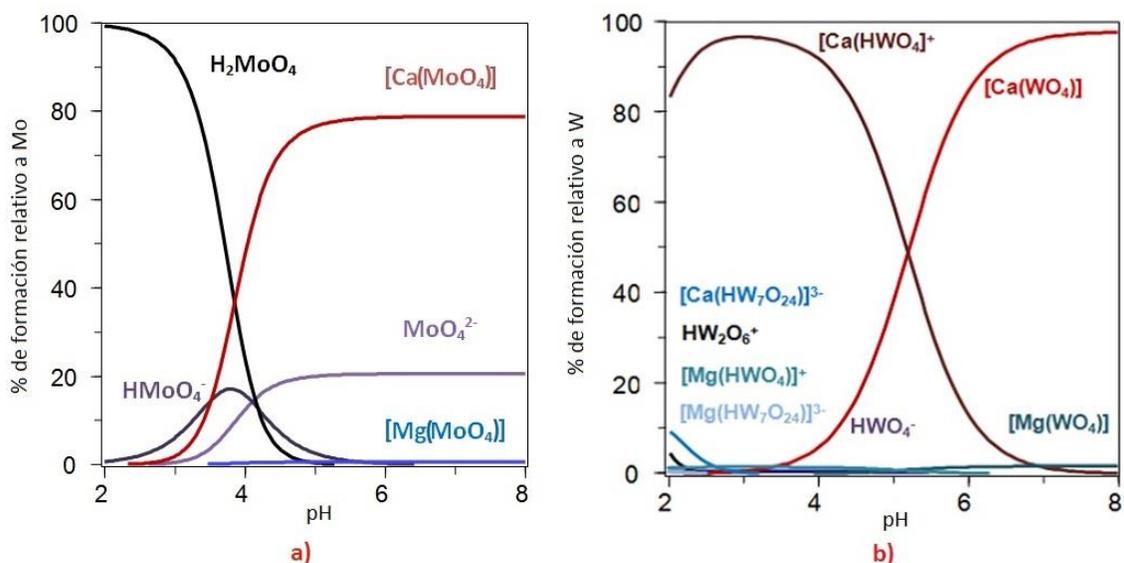


Figura 7. 7 Diagramas de distribución de especies realizados a partir de datos de Tablas 5.4 y 7.4. $[Ca] = 13,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $[Mg] = 0,092 \text{ mmol L}^{-1}$. a) $[Mo] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, b) $[W] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

7.2 Selenio

Selenio es un elemento traza esencial, tanto para animales como para vegetales. El margen de concentraciones en que este elemento pasa de esencial a tóxico es muy estrecho, por lo que también es de interés conocer su comportamiento en las aguas naturales. En agua las especies más importantes son los aniones de Se(IV) o Se(VI), en condiciones reductoras u oxidantes respectivamente, con diferentes grados de protonación según el pH del medio.

Para Se(IV) se han reportado las especies SeO_3^{2-} , $HSeO_3^-$, H_2SeO_3 , $HSe_2O_6^{3-}$, $H_2Se_2O_6^{2-}$, $H_3Se_2O_6^-$, $H_4Se_2O_6$ y $H_5Se_2O_6^+$. Para Se(VI), SeO_4^{2-} , $HSeO_4^{2-}$ y H_2SeO_4 [26].

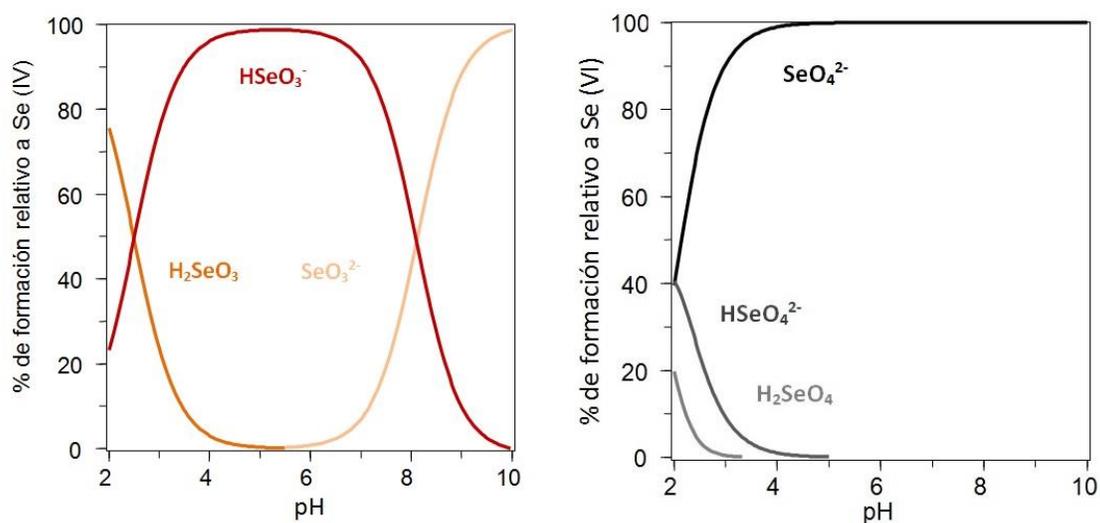


Figura 7. 8 Diagramas de distribución de especies de Se(IV) (izquierda) y Se(VI) (derecha) para $[Se] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

En base a los datos termodinámicos en NaClO_4 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ a $20,0^\circ\text{C}$ reportados en [26] se realizaron los diagramas de distribución de especies de Se(IV) y Se(VI) (**Figura 7.8**) para una concentración media de Se en aguas naturales de $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ [3]. Para Se(VI), selenato (SeO_4^{2-}) tiene predominancia absoluta (prácticamente un 100%) por encima de pH 4, pero en el caso de Se(IV) se forman especies parcialmente protonadas, siendo HSeO_3^- predominante hasta pH 6 y de ahí en adelante prevalece selenito (SeO_3^{2-}). A diferencia de Mo y W, Se no forma especies poliméricas, a lo sumo Se(IV) tiene la capacidad de formar dímeros dependiendo de su concentración total. A su vez, la distribución de estas especies también se ve influenciada por la interacción con cationes metálicos [26].

Para Se(IV) se han detectado, para la mayoría de los cationes metálicos +2, las especies $[\text{M}(\text{HSeO}_3)]^+$ y $[\text{M}(\text{SeO}_3)]$ [26].

A modo de ejemplo, se eligió Ca como catión mayoritario para ilustrar las diferentes situaciones. Para el sistema Se(IV)-Ca(II), considerando concentraciones de ambos elementos igual a 1 mmol L^{-1} , se han detectado las especies $[\text{Ca}(\text{HSeO}_3)]^+$ y $[\text{Ca}(\text{SeO}_3)]$ como se ilustra en la **Figura 7.9** [26]. Se aprecia que hasta pH 6 la especie mayoritaria es $[\text{Ca}(\text{HSeO}_3)]^+$ y a partir de pH 8 en adelante lo es $[\text{Ca}(\text{SeO}_3)]$. Es de destacar, que en estos niveles de concentración, entre un 70 – 80 % de Ca se encuentra asociado a Se(IV).

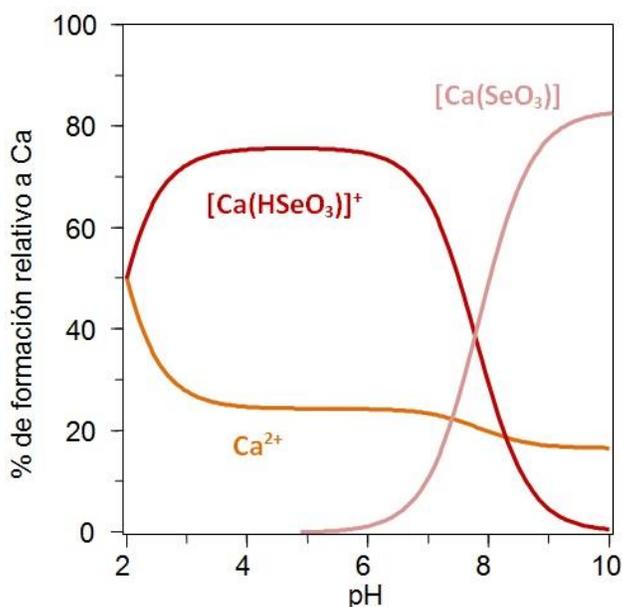


Figura 7.9 Diagrama de distribución de especies Se(IV)-Ca. $[\text{Se}] = [\text{Ca}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$ [26].

Si se realiza el mismo diagrama con las concentraciones promedio de Ca y Se en aguas naturales [3], puede apreciarse que prácticamente la totalidad de Se se asocia con Ca (**Figura 7.10**), pero al estar en una concentración mucho menor, desde el punto de vista de Ca parece que éste estuviera 100 % libre.

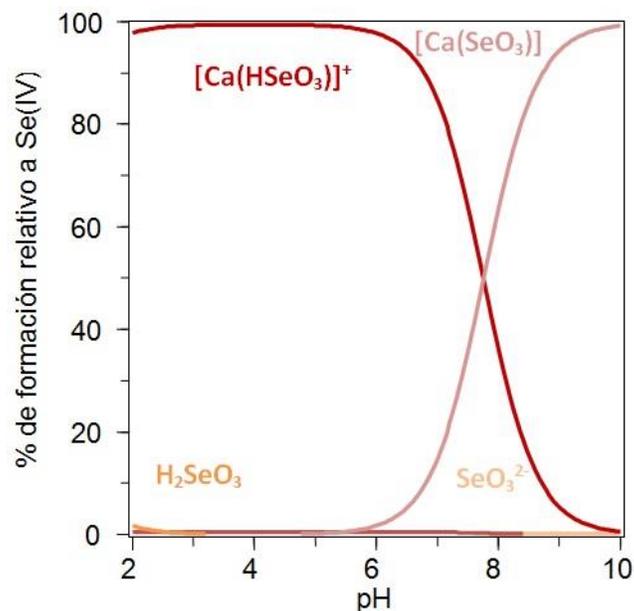


Figura 7. 10 Diagrama de distribución de especies Se(IV)-Ca. $[Se] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $[Ca] = 0,0136 \text{ mol L}^{-1}$.

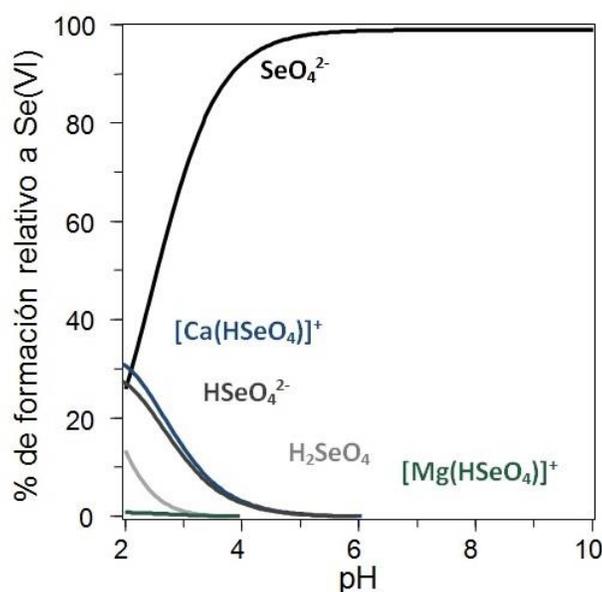


Figura 7. 11 Diagrama de distribución de especies de Se(VI)-Ca y Se(VI)-Mg. $[Se] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $[Ca] = 0.0136 \text{ mol L}^{-1}$, $[Mg] = 9.2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Para los sistemas Se(VI)-M(II) ha sido reportada la formación de especies neutras (pares iónicos) $[M(SeO_4)]$ y $[M(HSeO_4)_2]$ y además $[M(SeO_4)_2]^{2-}$ para Cu(II) y Cd(II). Para los cationes alcalinotérreos (Ca y Mg) se forma también la especie $[M(HSeO_4)]^+$ [26]. A partir de los valores de las constantes, se verifica al igual que para Mo y W, que las asociaciones de Se(VI) con cationes de metales de transición son las más estables [26].

En la **Figura 7.11** se muestran las especies de Ca y Mg para concentraciones medias de los elementos que componen el sistema en aguas subterráneas [3]. Puede observarse, que en las condiciones de pH de las aguas naturales claramente predomina selenato libre, ya que las formas con Ca y Mg aparecen a valores de pH muy bajos y en proporciones no muy altas, a diferencia de lo que ocurre con Se(IV).

En el caso de Se(VI), la interacción con los cationes de los elementos mayoritarios no tienen una influencia fuerte en la especiación en aguas naturales tal como ocurre para Mo o W. Es importante recordar que para Mo, en las mismas condiciones, casi el 80% de este elemento se encuentra formando el molibdato de calcio. Para W a partir de pH 6 casi el 100% está como forma de $[Ca(WO_4)]$ [36]. También se aprecia para Se, que por un tema de mayor abundancia natural de Ca respecto a Mg, las especies de Ca están en mayor proporción que las de Mg.

Para la especiación de Se, es muy importante el pE, o sea las condiciones redox de las aguas naturales, sobre todo cuando se trata de aguas subterráneas ya que la especiación puede verse bastante afectada por el estado redox (**Figura 7.12**). En condiciones oxidantes, Se se encuentra como Se(VI), siendo la especie mayoritaria el selenato libre, con una asociación muy baja con Ca y Mg. En cambio, en condiciones reductoras aumenta la fracción de Se total que se encuentra como Se(IV) y pasan a ser más relevantes las asociaciones con Ca y Mg.

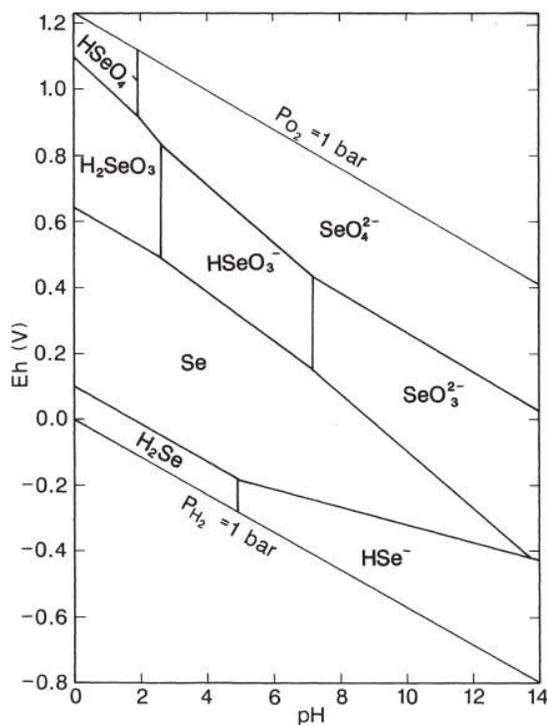


Figura 7. 12 Diagrama de E en función de pH para Se [202].

La influencia del estado redox es menos marcada para Mo y W que permanecen en estado de oxidación +6 hasta valores de pE mucho menores.

7.3 Azufre

Otro elemento que tiene la capacidad de formar aniones es azufre, elemento esencial tanto para animales como para vegetales. Este elemento, a diferencia de los anteriores no está en niveles de traza, sino que es mayoritario con una concentración media en aguas naturales de $0,12 \text{ mmol L}^{-1}$ [3]. Es importante considerarlo en los estudios de especiación porque al estar presente en mayor concentración puede alterar la distribución de especies de los otros formadores de aniones.

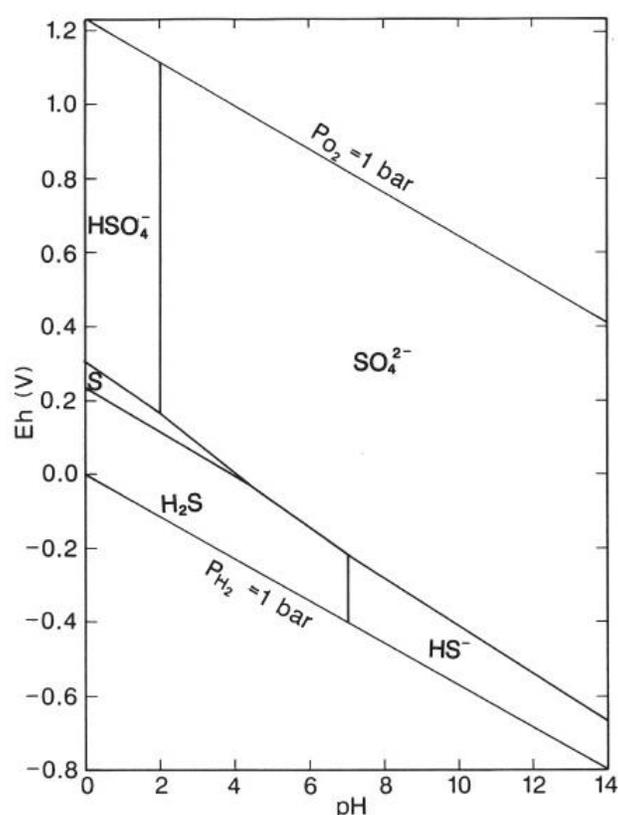


Figura 7. 13 Diagrama de E en función de pH para S [202].

En condiciones oxidantes (ver **Figura 7.13**) predomina como SO_4^{2-} , siendo la especie termodinámicamente estable en el rango de pH de las aguas naturales. A valores de pH muy bajos predomina la especie monoprotonada HSO_4^- y no se observa la formación de especies poliméricas.

Aunque pertenece al mismo grupo que Se, existen diferencias importantes en su especiación. En la **Figura 7.14** se presenta el diagrama de distribución de especies para S realizado en base a datos termodinámicos previamente reportados [19]. Presenta un

comportamiento más uniforme, siendo la única especie predominante en las aguas naturales el anión SO_4^{2-} .

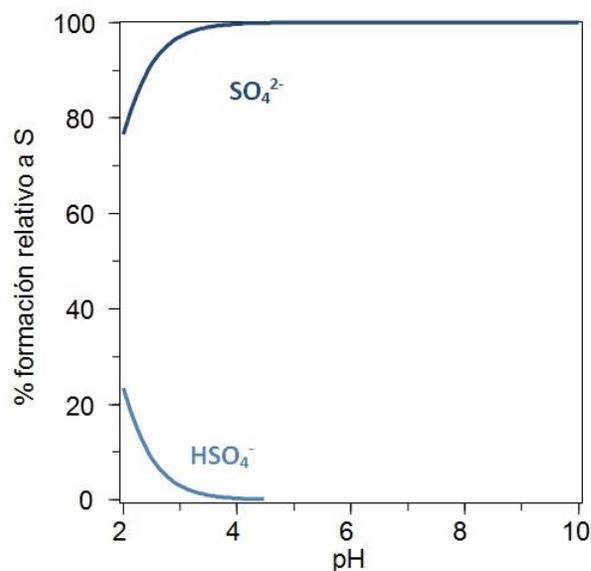


Figura 7. 14 Diagrama de distribución de especies de S para $[\text{S}] = 1 \text{ mmol L}^{-1}$.

Al igual que los otros elementos formadores de aniones se asocia con cationes de alcalino térreos formando pares iónicos como $[\text{Ca}(\text{SO}_4)]$ y $[\text{Mg}(\text{SO}_4)]$ [170]. En la **Figura 7.15** se presenta el diagrama de distribución de especies para concentraciones medias de S y Ca en aguas naturales [3]. Puede observarse que la especie que predomina es sulfato libre.

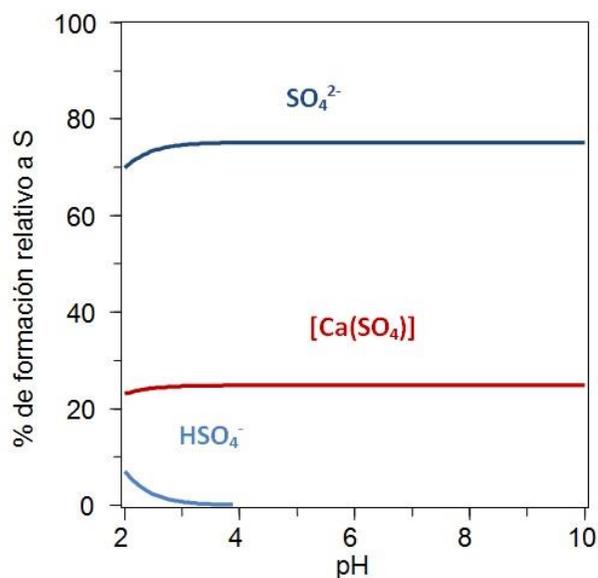


Figura 7. 15 Diagrama de distribución de especies de S para $[\text{S}] = 1,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{Ca}] = 0.0136 \text{ mol L}^{-1}$.

7.4 Arsénico

Arsénico es un elemento traza formador de aniones que se caracteriza principalmente por su toxicidad, asociada en gran parte al consumo de agua contaminada. En agua puede encontrarse bajo la forma de As(III) o As(V) y es capaz de formar tanto especies orgánicas como inorgánicas, siendo éstas últimas las más tóxicas, sobre todo las especies de As(III) [159].

Para As la especiación, además de las propiedades redox del medio, también depende del pH y de la concentración total del elemento. En la **Figura 7.16** pueden apreciarse las diferentes especies de As en agua según el potencial del medio.

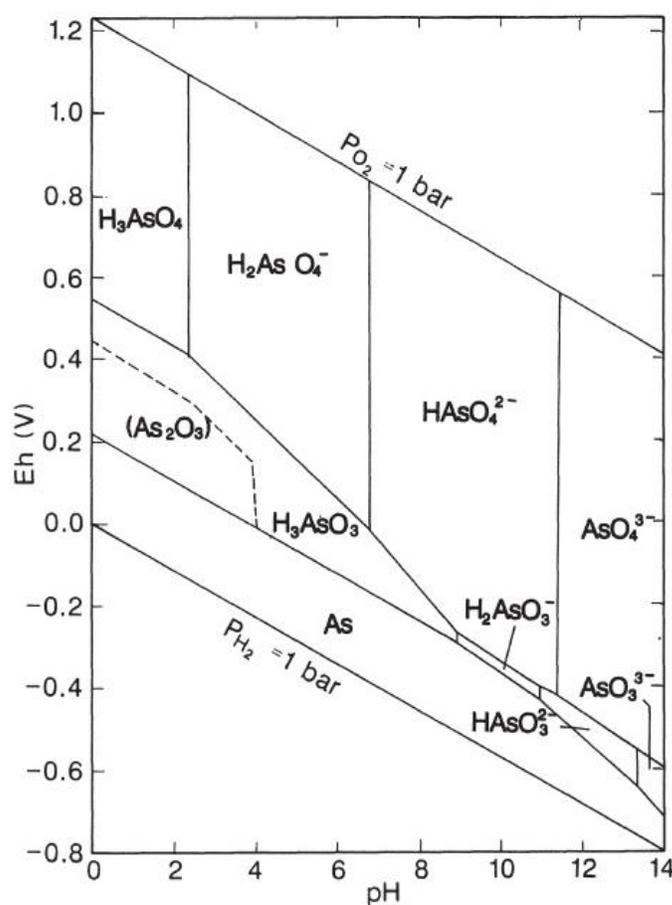


Figura 7. 16 Diagrama de E en función de pH para As [202].

En ausencia de cationes metálicos, las formas químicas de As(V) son los oxoaniones arsenato (AsO_4^{3-}) o sus formas protonadas (HAsO_4^{2-} o H_2AsO_4^-). Las especies de As(III), genéricamente llamadas arsenitos (H_2AsO_3^- y H_3AsO_3), también pueden estar presentes porque la oxidación a As(V) es un proceso muy lento. En solución acuosa y en

condiciones oxidantes H_2AsO_4^- predomina a pH menor a 7, mientras que HAsO_4^{2-} lo hace a valores de pH mayores. Por otro lado, en condiciones reductoras, se espera que la especie neutra H_3AsO_3 predomine hasta pH 7 y a valores de pH mayores H_2AsO_3^- [196, 197]. En la **Figura 7.17**, puede observarse lo comentado anteriormente en los diagramas de distribución de especies de As(III) y As(V) para concentraciones medias ($7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$) de As en aguas naturales no contaminadas [3] realizados a partir de datos termodinámicos generados por el grupo de investigación.

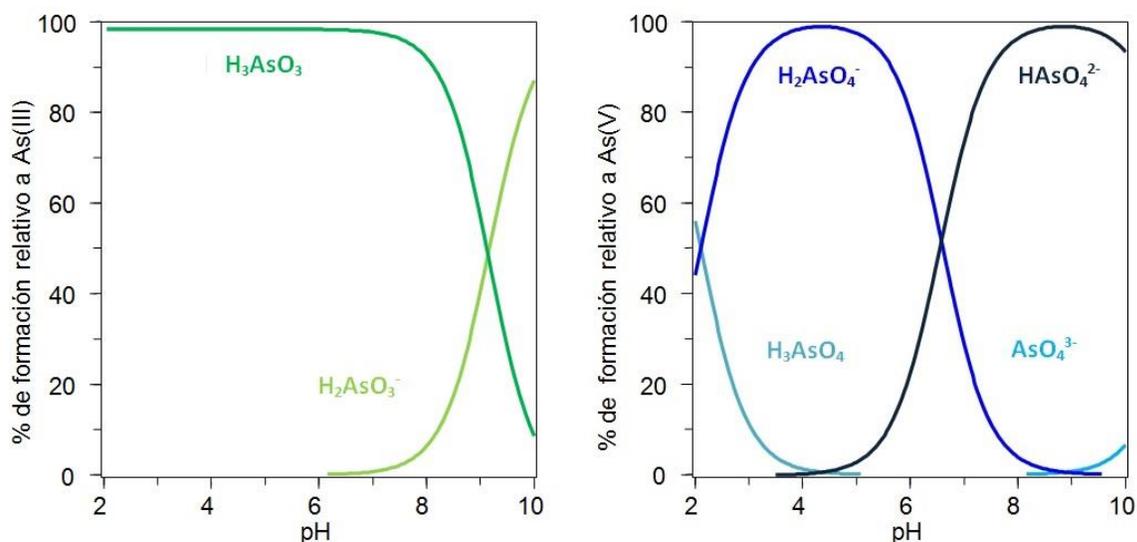


Figura 7. 17 Diagramas de distribución de especies de As(III) (izquierda) y As(V) (derecha). $[\text{As}] = 7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$.

Para As, a diferencia de Mo y W, no hay evidencia de formación de especies poliméricas, aún estando en niveles de concentración mayores a 1 mol L^{-1} [198]. La interacción de As con los cationes mayoritarios (alcalino térreos), es débil si se comparan los valores de las constantes de asociación con los otros elementos formadores de aniones vistos anteriormente.

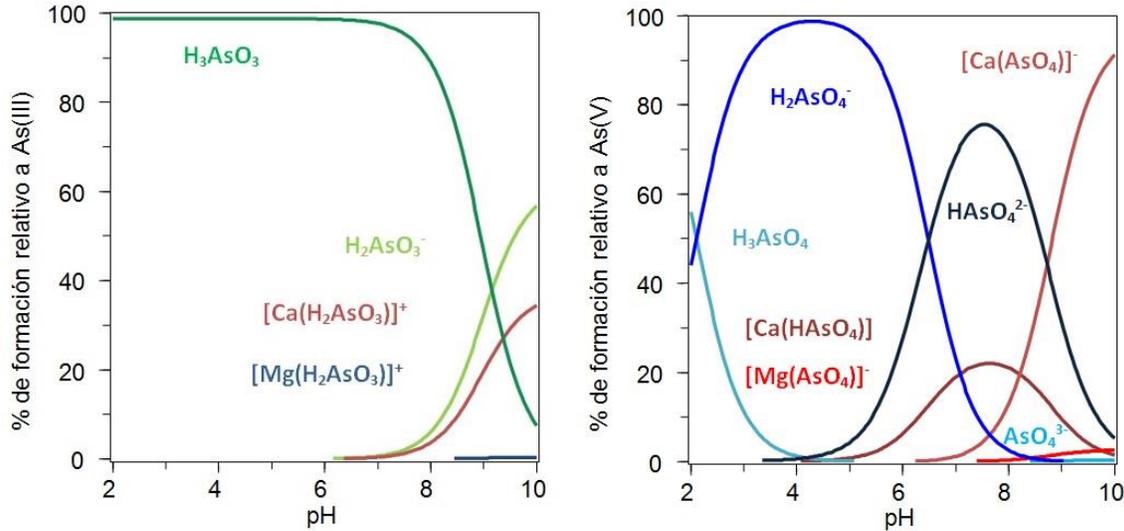


Figura 7. 18 Diagramas de distribución de especies de As(III) (izquierda) y As(V) (derecha). $[As] = 7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, $[Ca] = 0.0136 \text{ mol L}^{-1}$, $[Mg] = 9.2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

En la **Figura 7.18** se presentan los diagramas de distribución de especies de As(III) y As(V) con alcalino térreos (Ca y Mg) en concentraciones medias en aguas subterráneas no contaminadas [3]. Para As(III), se forma únicamente la especie $[M(H_2AsO_3)]^+$. Puede verse que la interacción As(III)-Ca comienza a evidenciarse a pH 6 y aumenta con el pH y para Mg recién comienza a pH mayor que 8. Para As(V) se observa un comportamiento similar, los cationes alcalinotérreos interactúan con el arsenato formando $[M(AsO_4)]$ y $[M(HAsO_4)]^+$ a pH por encima de 6. Para este elemento, a diferencia de Mo y W, los cationes alcalinotérreos no son de gran influencia en la especiación en las condiciones de pH de las aguas naturales, ya que comienzan a tener cierta predominancia a pH muy básico.

7.5 Comparación de la química en solución acuosa de Mo(VI) con elementos formadores de aniones

Los medios acuáticos naturales son sistemas complejos formados por múltiples componentes, por lo que hay que considerar todos los equilibrios a la vez para tener un panorama completo del comportamiento de los elementos en aguas naturales. Asimismo para realizar el modelado completo, es necesario contemplar todas las interacciones entre especies simultáneamente.

Si se toma en consideración un sistema acuático que contenga a todos los elementos formadores de aniones mencionados anteriormente, al realizar el diagrama de distribución de especies se observa que la especiación no cambia respecto a las situaciones en las que están solos. Incluso estando azufre presente no se observan cambios, porque a pesar de estar en niveles altos de concentración interacciona

débilmente [19], sobre todo con Ca que es el elemento que más influye en la especiación.

Por otro lado, si se incluye Ca en el sistema en concentraciones promedio, la especiación tampoco cambia debido a que el exceso de Ca es tan grande en relación a los formadores de aniones que alcanza para interactuar con todos y formar todas las especies correspondientes. Es más, si se realiza el diagrama de distribución de especies desde el punto de vista de Ca, es tan poca la cantidad que reacciona con los aniones que aparece como 100 % libre.

Esta situación cambia al disminuir la concentración de Ca. Por ejemplo, si se toma la mínima concentración de Ca reportada en aguas naturales, $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ [3] se ven cambios notorios en la distribución de las especies fundamentalmente para Mo y W, mientras que para los otros elementos los cambios no son significativos. Para visualizar lo anterior se muestran los diagramas de distribución de especies para Mo(VI)-Ca en presencia de W(VI), As(V) y Se(VI) para distintas concentraciones de Ca (**Figura 7.19**).

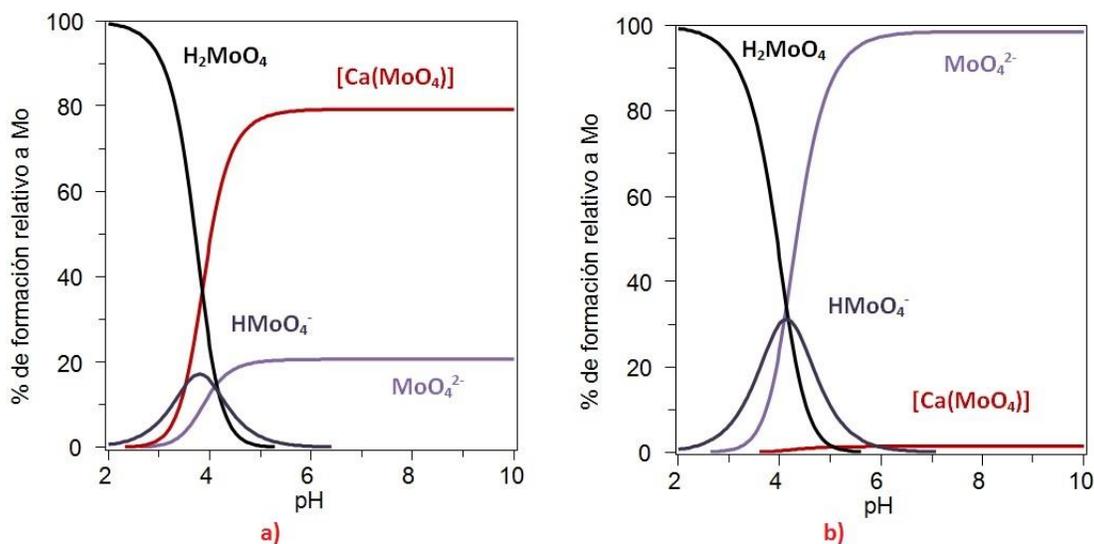


Figura 7. 19 Diagramas de distribución de especies de Mo(VI)-Ca en presencia de W(VI), As(V) y Se(VI) para $[\text{Mo}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{W}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{As}] = 7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{Se}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. a) $[\text{Ca}] = 0,0136 \text{ mol L}^{-1}$ b) $[\text{Ca}] = 5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

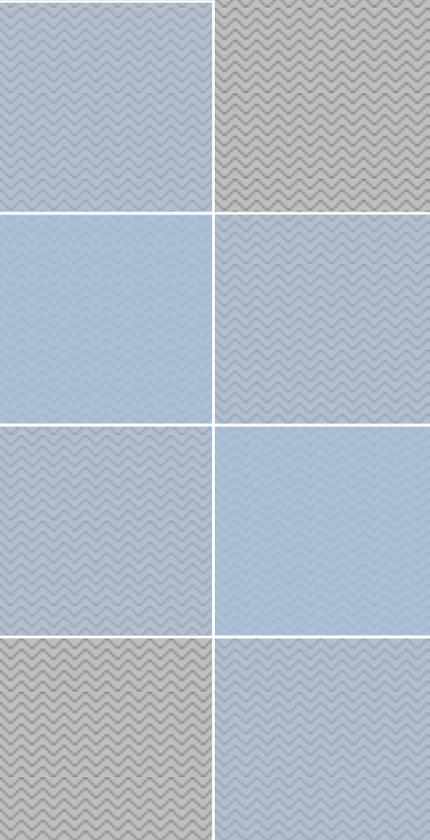
7.6 Conclusiones

La especiación de los elementos que se consideraron anteriormente en aguas naturales está influenciada en diferentes grados por el potencial redox del medio. Mientras que para Mo, W y S predominan las especies oxidadas, en los casos de Se y As dependiendo del potencial pueden coexistir especies oxidadas y reducidas. Esto último tiene más trascendencia para los elementos mencionados en último lugar en aguas subterráneas, donde a medida que aumenta la profundidad disminuye el oxígeno haciéndose las condiciones más reductoras.

En lo que refiere a polimerización, solamente Mo y W tienen la capacidad de formar polianiones, mientras que Se(IV) puede formar dímeros. El grado de polimerización depende además del pH del medio, de la concentración total del elemento. Según lo discutido, en los niveles de concentración de Mo en aguas naturales no hay polimerización, mientras que para W sí se detectan especies poliméricas.

Todos se asocian con cationes +2, siendo estas interacciones de carácter electrostático, y en todos los casos se verifican asociaciones más fuertes con los cationes +2 de los elementos de transición. También se verifica la interacción más fuerte con Fe(III) por ser un catión de carga mayor.

Todos interaccionan con los cationes mayoritarios Ca^{2+} y Mg^{2+} , pero estos elementos y en particular Ca por ser el más abundante, no influyen de la misma forma en la especiación de los diferentes elementos. Para Mo y W, la asociación con Ca es determinante en la distribución de especies, mientras que los demás cationes estudiados al estar en niveles de concentración muy bajos no afectan a la distribución de especies. Para Se(VI), la asociación con Ca no es relevante para la especiación, mientras que para Se(IV) tiene más influencia. En el caso de As(III) y As(V), las asociaciones con Ca^{2+} comienzan a ser relevantes a valores de pH muy básico, fuera del rango de las aguas naturales. Para S también se verifica interacción con Ca, pero no es muy relevante en la especiación, siendo la especie predominante en las condiciones de las aguas naturales el anión sulfato libre.



Capítulo 8

Aplicaciones analíticas de los estudios de especiación

En el siguiente capítulo se detallan aplicaciones de los estudios de especiación mostrando su utilidad en el desarrollo de métodos analíticos y en la descripción de la distribución de especies en las muestras analizadas.



8.1 Aplicación de los estudios de especiación al desarrollo de nuevas metodologías de análisis

Cuando se desarrolla una metodología de análisis nueva, es necesario estudiar el efecto de otros elementos que pueden estar presentes en la matriz analizada, ya que pueden ser potenciales interferentes.

En este trabajo en particular, para el desarrollo de la metodología DLLME-ETAAS empleando EX como ligando, las interferencias podrían surgir a causa de reacciones de Mo con otros elementos que puedan competir con la formación del complejo Mo-EX o por complejación de EX con otros elementos, lo que disminuiría la cantidad de ligando disponible para Mo.

Hay que considerar, como se ha visto en el Capítulo 5, que en aguas naturales las especies aniónicas de Mo interactúan con todos los cationes +2 formando complejos detectables en disolución. La carga del catión metálico es de gran influencia en la intensidad de la interacción, lo que se ve reflejado en los valores de las constantes de estabilidad. También es determinante la concentración del interferente, en la medida de que las especies que pueda formar con Mo en las condiciones de la reacción durante el análisis depende también de ello [35, 36].

Es así que los estudios de especiación pueden ser de gran utilidad en la evaluación y predicción del comportamiento de los posibles interferentes. Cabe aclarar que esta evaluación es utilizada como referencia en cuanto a qué elemento puede interferir y de qué manera, pero no sustituye al análisis de la muestra en presencia de los interferentes.

A partir de los resultados de los estudios de la química en solución acuosa de Mo descritos en el Capítulo 5 surgieron como posibles interferentes a evaluar Ca, Pb y Cd. Ca es relevante no sólo por su abundancia, sino también porque es determinante en la especiación de Mo en las condiciones de las aguas naturales. Al cambiar la forma química en la que el elemento se encuentra en la muestra, podría modificarse el resultado del análisis. Por otra parte, elementos como Pb y Cd, aunque no son abundantes, presentan las interacciones más fuertes con aniones de Mo(VI) en solución acuosa, por lo que podrían influir en el análisis a pesar de encontrarse en bajas concentraciones.

Para ilustrar y racionalizar lo discutido anteriormente se generaron diagramas de distribución de especies de Mo con los posibles interferentes en concentraciones medias en aguas naturales utilizando el software HySS [179] y datos termodinámicos generados en esta tesis y reportados en [36].

En la **Figura 8.1** se presentan dichos diagramas.

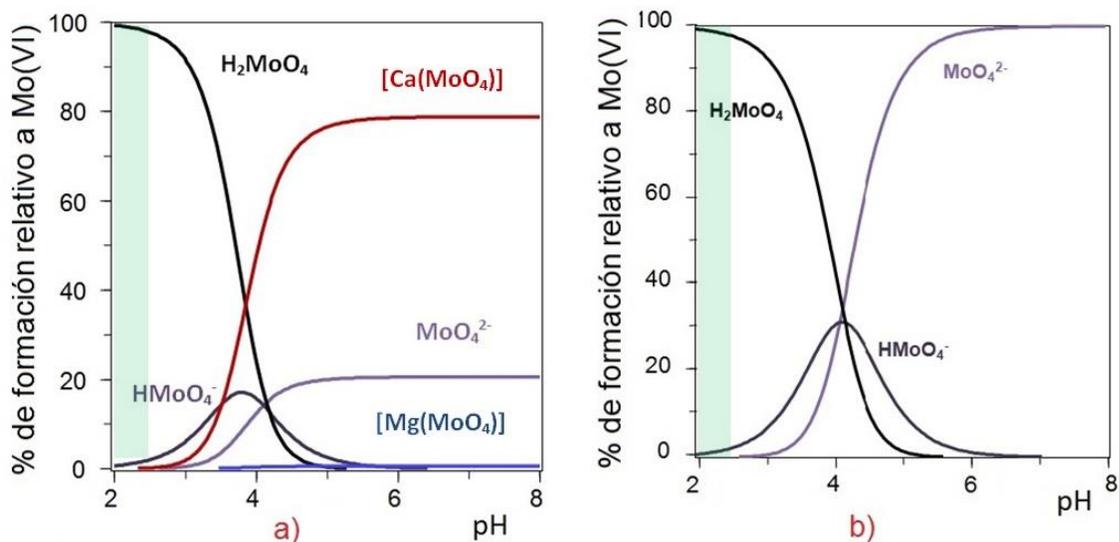


Figura 8. 1 Diagramas de distribución de especies realizados a partir de datos termodinámicos de [35]. $[\text{Mo(VI)}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. a) $[\text{Ca(II)}] = 13,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{Mg(II)}] = 0,092 \text{ mmol L}^{-1}$. b) $[\text{Cd(II)}] = 9 \times 10^{-7} \text{ mmol L}^{-1}$.

La Figura 8.1a muestra el diagrama de distribución de especies de Mo(VI) en presencia de concentraciones medias de calcio y magnesio en aguas subterráneas [3]. Puede apreciarse que Ca ejerce una mayor influencia en la especiación de Mo(VI) por encima de pH 4, siendo la especie más relevante el par iónico $[\text{Ca}(\text{MoO}_4)]$. El pH de trabajo de la extracción (menor a 2,5) impide la interacción de Mo(VI) con Ca^{2+} y Mg^{2+} , ya que como se indica en el diagrama en esas condiciones Mo forma predominantemente H_2MoO_4 con un pequeño porcentaje de HMoO_4^- . Por lo tanto, en las condiciones de trabajo, la interacción con los cationes más abundantes no sería posible.

Los cationes menos abundantes generalmente no influyen en la especiación porque están en concentraciones muy bajas en las aguas naturales [35]. En la Figura 8.1b se muestra el diagrama de distribución de especies de Mo en presencia de concentraciones medias de Cd en aguas naturales. Puede verse en el diagrama que como las concentraciones de Cd son tan bajas no se forman especies Mo(VI)-Cd(II) detectables. Asimismo puede apreciarse que al pH de trabajo para la determinación de la concentración de Mo no se espera ningún tipo de interacción. El diagrama de especies Mo(VI)-Pb(II) es casi idéntico al de Cd, por lo que tampoco se espera interacción.

También se realizaron estudios de interferencias considerando elementos formadores de aniones como W y As. En particular W, como se vio en el Capítulo 7, presenta un comportamiento químico muy similar a Mo por lo que podría también reaccionar con el agente complejante.

Una vez estudiado el posible efecto de cada elemento se procedió a la realización del análisis en presencia de un exceso de interferente para evaluar realmente su influencia. Para este desarrollo metodológico en particular se comprobó que estos elementos no ejercen una interferencia en la determinación de Mo por DLLME-ETAAS utilizando EX como agente complejante.

8.2 Distribución de especies de Mo(VI) en muestras de aguas subterráneas del Uruguay

Los valores de concentración total y eventualmente la acumulación de elementos traza en aguas subterráneas están influenciados mayormente por su especiación y reactividad, que determinan a la vez su movilidad y transporte. Solamente midiendo la concentración total no es suficiente para comprender el comportamiento en los diferentes sistemas de aguas naturales. El modelado químico es una herramienta muy útil para abordar este análisis cuando la especiación necesita ser considerada [170, 199]. Para poder utilizar esta herramienta es necesario disponer de los datos termodinámicos para el elemento de interés (constantes de equilibrios de protonación y de asociación con otros elementos) para predecir las especies predominantes en una muestra determinada, una vez conocidas las concentraciones totales de todos los elementos involucrados.

Para predecir la distribución de especies de Mo(VI) en las muestras de aguas subterráneas analizadas durante el desarrollo del trabajo de tesis se cuenta con las concentraciones totales de Mo, las constantes de equilibrios de protonación y asociación con diferentes elementos y la dureza total ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) como estimativo de la concentración de la fuerza iónica (ver Capítulos 4 y 5). En primer lugar, como se carecen de datos de pH de cada una de las muestras, se realizaron los cálculos que se discuten a pH 7. Otra consideración es que teniendo en cuenta la relación de concentración de Ca y Mg en aguas subterráneas (3), de los valores de dureza medidos se infiere la concentración de cada uno de ellos.

La selección de las muestras para el análisis se realizó en base a la concentración total de Mo y a los niveles de dureza. Se eligieron tres muestras que reflejaran las características generales de las aguas analizadas: contenido alto de Mo en aguas duras y contenido medio de Mo en aguas de baja dureza. Los cálculos y los diagramas de distribución de especies se realizaron utilizando el programa HySS [179].

En la **Tabla 8.1** se muestran las concentraciones de Mo, Ca y Mg para las muestras seleccionadas para el estudio de distribución de especies.

Muestra	[Mo] (mol L ⁻¹)	[Ca] (mol L ⁻¹)	[Mg] (mol L ⁻¹)
2-1	1,93 x 10 ⁻⁸	3,19 x 10 ⁻⁴	2,17 x 10 ⁻⁶
2-14	4,49 x 10 ⁻⁸	3,04 x 10 ⁻³	2,07 x 10 ⁻⁵
2-16	9,05 x 10 ⁻⁸	2,25 x 10 ⁻³	1,53 x 10 ⁻⁵

Tabla 8. 1 Concentraciones de Mo, Ca y Mg de muestras de aguas subterráneas.

En la **Figura 8.2** se muestran los diagramas de distribución de las especies Mo(VI)-Ca y Mo(VI)-Mg construidos a partir de los datos termodinámicos de la **Tabla 5.4** y las concentraciones de los elementos que se indican en la **Tabla 8.1**. Además se realizaron los cálculos de los porcentajes de las especies de calcio y magnesio en las diferentes muestras.

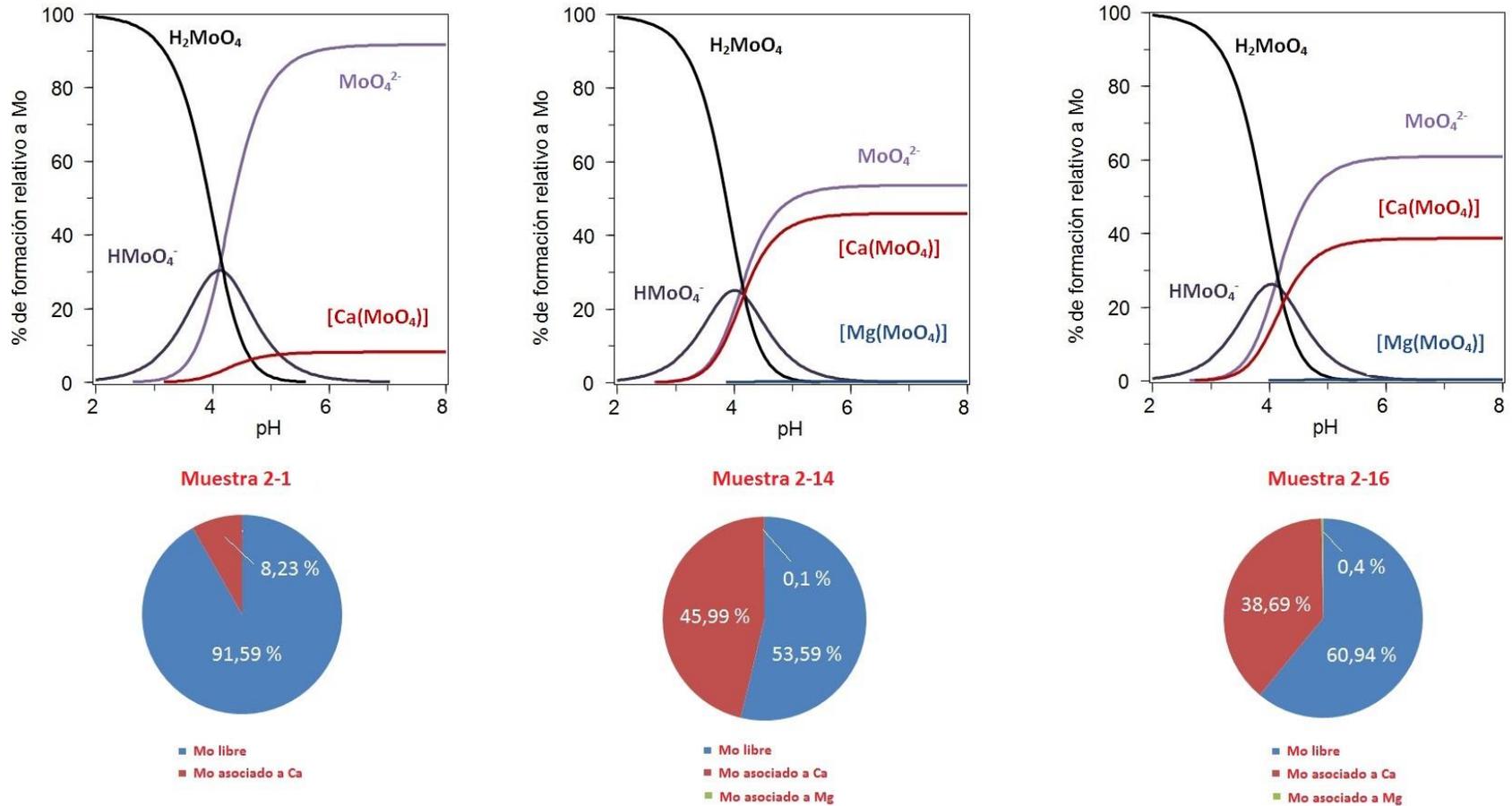


Figura 8. 2 Diagramas de distribución de especies de Mo(VI) en muestras de aguas subterráneas seleccionadas para estudio y cálculos de porcentajes de especies a pH 7.

Del análisis de los resultados se desprende que además de la concentración total de Mo, la concentración de Ca es un parámetro relevante y determinante en la especiación. En la muestra 2-1, que es la que presenta los menores niveles de Ca, predomina básicamente molibdato libre. Al ir aumentando la concentración de Ca, éste se asocia con molibdato para formar el par iónico correspondiente, disminuyendo las cantidades de molibdato libre. También se desprende del análisis de los resultados que Mg, a pesar de asociarse a molibdato de forma similar que Ca (ver constantes de asociación en Capítulo 5), no tiene influencia en la formación de las diferentes especies en solución. La diferencia de ambos está en la abundancia.

El pH es un parámetro importante a considerar, si bien no está medido en las muestras, pueden hacerse algunas consideraciones en base a los diagramas de distribución de especies. Teniendo en cuenta que el pH de las aguas naturales está comprendido en un rango entre 4 y 9 aproximadamente, puede decirse que entre pH 4 y pH 5,5 aproximadamente este parámetro es importante en la especiación porque pequeños cambios de pH originan cambios importantes en la distribución de las especies. A pH mayores a 5,5 la distribución de las especies se hace constante, por lo que en ese rango pequeñas diferencias de pH entre una muestra y otra no va a tener significancia en la especiación.

Es importante tener en cuenta lo que sucede a pH menor a 4, por ejemplo considerando lo que sucede en aguas con desequilibrios localizados de acidez debido a las explotaciones mineras. Estos aumentos de acidez se deben al drenaje ácido de las minas de metales y se produce por la reacción de oxidación de sulfuros minerales en presencia de oxígeno y agua. Esto trae como consecuencia además, aumentos de concentración de determinados elementos como Cd, Pb, Zn, Ni, As, entre otros, resultando en episodios de contaminación [200]. Para Mo pueden darse dos situaciones en las que cambia su especiación, que el anión molibdato esté parcialmente protonado y no se encuentre asociado a cationes metálicos o que esté parcialmente protonado y además por un aumento muy brusco de la concentración de cationes metálicos pueden aparecer especies que en condiciones normales no se forman. Por ejemplo para Cd está reportado un episodio de contaminación en Perú en el Río Moche, donde en el año 1980 se llegó a niveles de Cd de $4,55 \text{ mg L}^{-1}$ ($4,05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) [201].

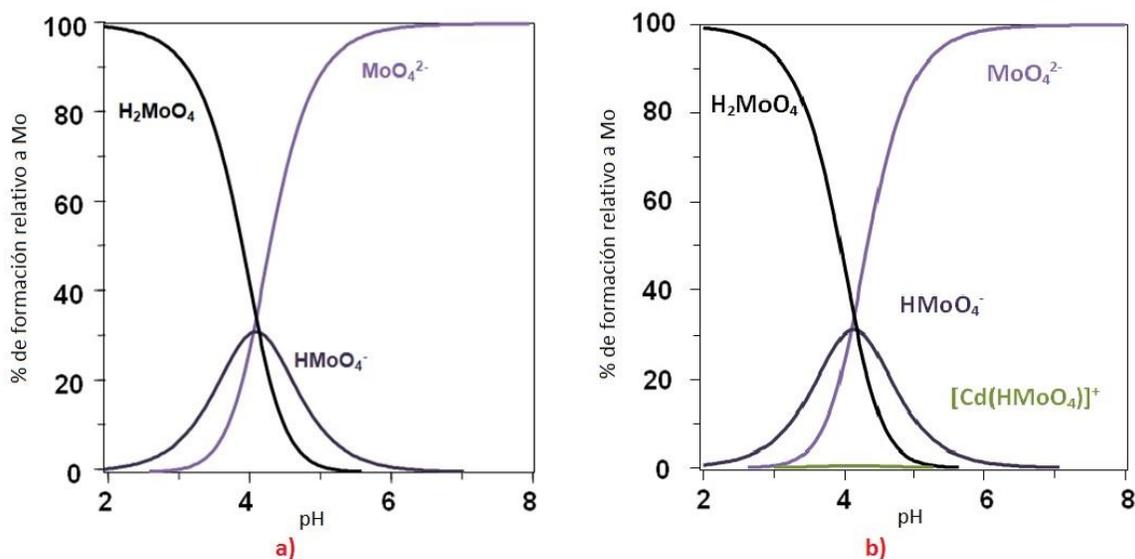
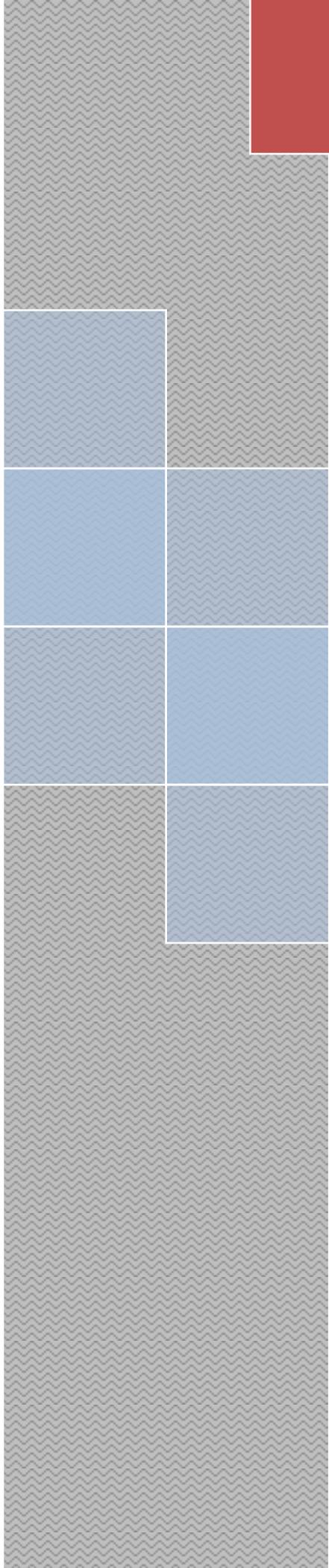


Figura 8. 3 Diagramas de distribución de especies Mo(VI)-Cd construido a partir de datos de Tabla 5.4 para $[Mo] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. a) $[Cd] = 9 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. b) $[Cd] = 4,05 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Si se realizan los diagramas de distribución de especies en condiciones de aguas naturales no contaminadas (a) y contaminadas (b), como se muestra en la **Figura 8.3** se aprecia que al aumentar la concentración de Cd se forma en baja proporción la especie $[Cd(HMoO_4)]^+$.

Es posible concluir que la utilización de los datos termodinámicos además de las concentraciones totales de los elementos y parámetros fisicoquímicos como pH y pE, permite comprender de forma más profunda el comportamiento de los elementos en los sistemas acuáticos. Si bien la concentración es importante, por sí sola no explica el complejo comportamiento de los elementos en los diferentes sistemas de aguas naturales. El uso de los parámetros termodinámicos permite crear un modelo químico que a partir de las concentraciones totales de los elementos permite predecir la formación y distribución de las distintas especies.

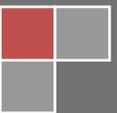
Considerando que los sistemas acuáticos son multicomponente, es importante destacar la utilidad del modelado químico conjunto, donde es posible predecir el comportamiento de un elemento en presencia de otros que pueden afectar su especiación.



Capítulo 9

Conclusiones generales

En el capítulo final se presentan las conclusiones generales del trabajo desarrollado en esta tesis.



Todos los objetivos planteados fueron cumplidos y los resultados obtenidos se han difundido en publicaciones internacionales con referato y en eventos científicos nacionales e internacionales de las áreas de investigación involucradas en la presente tesis.

Es destacable la importancia y el valor del trabajo interdisciplinario, que permitió integrar conocimientos de química analítica y de química inorgánica, en particular química en solución acuosa, para realizar el relevamiento y estudio completo de la química de Mo en aguas naturales. Desde el punto de vista analítico se realizó un aporte valioso desarrollando una nueva metodología de análisis sensible, rápida y económica para un elemento traza. También se realizaron aportes al conocimiento de la química en solución acuosa mediante la obtención de nuevos datos termodinámicos de Mo en condiciones simuladas de las aguas naturales.

Se realizó un relevamiento primario de la concentración de Mo total en muestras de agua subterránea de diferentes regiones del país mediante medidas directas por espectrometría de absorción atómica electrotermica (ETAAS), haciéndose evidente la necesidad de preconcentración para utilizar esta técnica de detección, ya que la mayoría de las muestras presentaba niveles de Mo no cuantificables.

A partir del estudio y evaluación de diferentes métodos de preconcentración se optó por utilizar microextracción dispersiva líquido-líquido (DLLME). Se llevó a cabo el desarrollo, optimización y validación de una nueva metodología para la determinación de la concentración de Mo en agua basada en la preconcentración por DLLME y detección por ETAAS utilizando etilxantato (EX) como agente complejante, tetracloruro de carbono como solvente de extracción y acetonitrilo como dispersante. Es importante destacar que el nuevo método desarrollado es simple, rápido y amigable con el ambiente al trabajar con cantidades reducidas de solventes orgánicos, siguiendo los principios de la Química Verde. Asimismo, resultó ser una alternativa analítica más económica que ICP-MS, con una sensibilidad del mismo orden o incluso mejor para Mo.

Se realizó el análisis del contenido de Mo en muestras de aguas subterráneas poco profundas de diferentes zonas del país aplicando la metodología desarrollada. También se realizó la determinación de la dureza de las muestras de agua para evaluar la fuerza iónica como parámetro de posible influencia en la especiación del elemento. A partir de los resultados obtenidos se establecieron las zonas del país donde se encuentra este elemento estableciendo un punto de partida para el estudio de la distribución de Mo en los principales acuíferos. En relación a la dureza, los resultados muestran como tendencia que las aguas que contienen Mo son aquellas con altos valores de este parámetro. Para establecer una correlación sería necesario obtener un mayor número de datos para realizar el tratamiento estadístico de los mismos.

También se llevó a cabo un estudio completo de la química en solución acuosa de Mo en el que se determinaron las constantes de protonación de Mo(VI) en condiciones experimentales similares a las de las aguas naturales (20 °C y baja fuerza iónica). Además fue realizado el estudio de la variación de las constantes de protonación con la concentración de fuerza iónica según la teoría de interacción específica (SIT). Este estudio mostró que existe dependencia de los valores de las constantes de equilibrio con la concentración de la fuerza iónica. Asimismo se demostró que los valores experimentales de las constantes se ajustan el modelo propuesto por la teoría, por lo que es posible establecer los valores de las constantes en numerosos escenarios de aguas naturales realizando un número reducido de medidas experimentales.

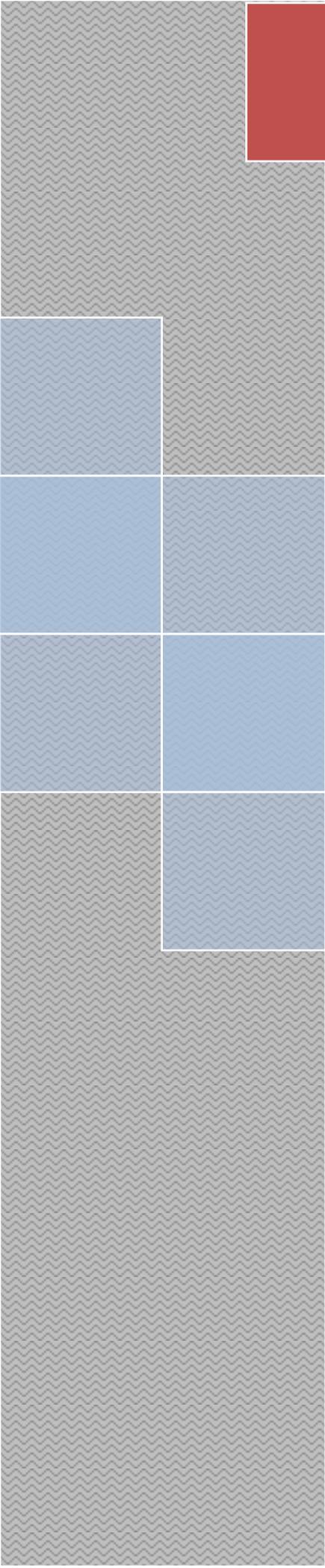
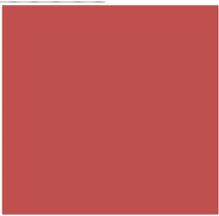
Fueron determinadas las constantes de asociación de las especies de Mo(VI) con los cationes metálicos más representativos, ya sea por su carga, abundancia, carácter esencial o tóxico: Na, Ca, Mg, Fe(II), Fe(III), Cu, Zn, Cd .

Se identificaron los sistemas y las condiciones en las que se detecta la formación de especies poco solubles (Fe, Cu y Cd principalmente). A partir de lo anterior se realizaron estudios de solubilidad de los molibdatos de Cu y Cd. Se sintetizaron y caracterizaron dichos sólidos por análisis elemental (Mo, Cu y Cd) y espectroscopía infrarroja (IR), se determinaron los valores de las constantes de producto de solubilidad (K_s) y se demostró la validez del modelo químico establecido para los sistemas Mo(VI)-Cd y Mo(VI)-Cu que permite predecir la formación de fases sólidas.

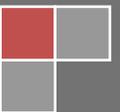
Los resultados de la nueva metodología analítica no solo fueron utilizados para realizar una evaluación de la situación de las aguas subterráneas de nuestro país en lo que respecta a niveles de Mo, sino que también esos datos en conjunto con los datos termodinámicos, permitieron realizar el estudio de distribución de especies de Mo identificando las formas químicas predominantes y las principales interacciones con elementos de interés.

A partir de datos termodinámicos reportados y los obtenidos en la presente tesis, se realizó un estudio comparativo de la química en solución acuosa de Mo con otros elementos formadores de aniones como W, As, Se y S. A partir del análisis anterior fue posible establecer un modelo completo para establecer las especies de los elementos formadores de aniones en diferentes muestras de agua para poder predecir el comportamiento y destino de estos elementos en el ambiente.

Los estudios de especiación en solución han demostrado ser una herramienta de gran utilidad para la química analítica. Pueden utilizarse en los estudios de selectividad de diferentes metodologías a modo de orientación, para la evaluación y predicción del comportamiento de los posibles elementos interferentes que se encuentran en la matriz analizada.



Referencias bibliográficas



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Manahan, E.S.** *Fundamentals of Environmental Chemistry, Second Edition, CRC Press, Boca Ratón, 2001.*
2. **Kabata-Pendias, A., Mukherjee, A.** *Trace elements from soils to humans, Springer, Berlin, 2007.*
3. **Bodek, I., Lyman, W.J., Reehl, W.F., Rosenblatt, D.H.** *Environmental Inorganic Chemistry, Pergamon Press, New York, 1988.*
4. **Cox, P.A.** *The Elements on Earth, Oxford University Press, Oxford, 1995.*
5. **Holland, H.D., Turekian, K.K. (Editors)** *Treatise on Geochemistry, Elsevier, 2003, 5, 119-132.*
6. **Decreto 235/79.** *Normas para prevenir la contaminación ambiental mediante el control de las aguas.*
7. **Norma UNIT 833:2008 reimpresión 2010.** *Agua potable-Requisitos.*
8. **Stumm, W., Morgan, J.** *Aquatic Chemistry: Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters, Third Edition, Wiley, Londres, 1996.*
9. **Holland, H.D., Turekian, K.K. (Editors)** *Treatise on Geochemistry, Elsevier, 2003, 5, 225-272.*
10. **Cotton, F.A., Wilkinson, G., Murillo, C.A., Buchmann, M.** *Advanced Inorganic Chemistry, Sixth Edition, Wiley, Nueva York, 1999.*
11. **Seyler, P., Boaventura, G.** *Trace metals in the mainstem river. In The Biogeochemistry of the Amazon Basin and its Role in a Changing World, Oxford University Press, Oxford, 2001.*
12. **Edmunds, W.M.** *Geochemistry's vital contribution to solving water resource problems. Applied Geochemistry, 2009, 24, 1058-1073.*
13. **Selinus, O. (Editor)** *Essentials of Medical Geology, Elsevier, Burlington, 2005.*
14. **Zhenli, L., Xiaoe, E., Stoffella, P.** *Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2005, 19, 125-140.*
15. **Templeton, D., Ariese, F., Cornelis, R., Danielsson, L.G., Muntanu, H., Van Leeuwen, H., Lobinsky, R.** *Guidelins for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Pure Applied Chemistry, 2000, 72, 1543-1470.*
16. **Martell, A.E., Hancock, R.D.** *Metal complexes in aqueous solution, Springer, New York, 1996.*
17. **Castellán, G.W.** *Fisicoquímica, Segunda Edición, Pearson, México, 1998.*
18. **Harvey, D.** *Modern Analytical Chemistry, Mc.Graw-Hill, New York, 2000.*

19. **Stability Constants Database.** IUPAC, 2007.
20. **Ibáñez, M., Sancho, J., Hernández, F., McMillan, D., Rao, R.** *Rapid non-target screening of organic pollutants in water by ultraperformance liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry.* *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2008, 27, 481-489.
21. **Buchberger, W.** *Novel analytical procedures for screening of drug residues in water, waste water, sediment and sludge.* *Analytica Chimica Acta*, 2007, 593, 129-139.
22. **Chang, H. S., Choo, K. H., Lee, B., Choi, S. J.** *The methods of identification, analysis, and removal of endocrine disrupting compounds (EDCs) in water.* *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 172, 1-12.
23. **Kaiser, B.N., Gridley, K.N., Brady, J.N., Phillips, T., Tyerman, S.** *The Role of Molybdenum in Agricultural Plant Production.* *Annals of Botany*, 2005, 96, 745-754.
24. **Lemly, A.D.** *Aquatic selenium pollution is a global environmental safety issue.* *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2004, 59, 44-56.
25. **Parkman, H., Hultberg, H.** *Ocurrence and effects of selenium in the environment: a literature review.* IVL Swedish Environmental Research Institute Report, 2002.
26. **Torres, J., Pintos, V., Domínguez, S., Kremer, C., Kremer, E.** *Selenite and selenate speciation in natural waters: interaction with +2 metal ions.* *Journal of Solution Chemistry*, 2010, 39, 1-10.
27. **Adriano, D.C.** *Trace Elements in Terrestrial Environments, Second Edition,* Springer-Verlag, Nueva York, 2001.
28. **Mendel, R., Bittner, F.** *Cell biology of molybdenum.* *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006, 1763, 621-635.
29. **Alloway, B.J. (Editor)** *Heavy Metals in Soils, Third Edition,* Springer, Nueva York, 2010.
30. **Kabata-Pendias, A., Pendias, H.** *Trace elements in soils and plants, Third Edition,* CRC Press, Boca Raton, 2001.
31. **Cruywagen, J.J., Draaijer, A.G., Heyns, J.B.B., Rohwer, E.A.** *Molybdenum(VI) equilibria in different ionic media. Formation constants and thermodynamic quantities.* *Inorganica Chimica Acta*, 2002, 331, 322-329.
32. **Cruywagen, J.J., de Wet, H.** *Equilibrium study of the adsorption of molybdenum(VI) on activated carbon.* *Polyhedron*, 1988, 7, 547-556.
33. **Cruywagen, J.J.** *Protonation, oligomerization and condensation reactions of vanadate(V), molybdate(VI) and tungstate(VI).* *Advanced Inorganic Chemistry*, 2000, 49, 127-182.

34. **Murata, K., Ikeda, S.** *Studies on polynuclear molybdates in the aqueous solution by laser Raman spectroscopy. Spectrochimica Acta A*, 1983, 39, 787-794.
35. **Torres, J., Gonzatto, L., Peinado, G., Kremer, C., Kremer, E.** *Interaction of Molybdenum(VI) Oxyanions with +2 Metal Cations. Journal of Solution Chemistry*, 2014, 43, 1687–1700.
36. **Torres, J., Tissot, F., Ferrari, C., Santos, P., Kremer, C., Kremer, E.** *Interactions of W(VI) and Mo(VI) Oxyanions with Metal Cations in Natural Waters. Journal of Solution Chemistry*, 2016, 45, 1598–1611.
37. **Felmy, A., Rai, D., Mason, M.** *The solubility of $\text{CaMoO}_4(s)$ and an aqueous thermodynamic model for Ca^{2+} – MoO_4^{2-} ion-interactions. Journal of Solution Chemistry*, 1992, 21, 525–532.
38. **Cornelis, G., Johnson, C.A., Gerven, T., Vandecasteele, C.** *Leaching mechanisms of oxyanionic metalloids and metal species in alkaline solid wastes: A review. Applied Geochemistry*, 2008, 23, 955-976.
39. **Johannesson, K.H., Tang, J.** *Conservative behavior of arsenic and other oxyanion-forming trace elements in an oxic groundwater flow system. Journal of Hydrology*, 2009, 378, 13-28.
40. **Leybourne, M., Cameron, E.M.** *Source, transport, and fate of rhenium, selenium, molybdenum, arsenic, and copper in groundwater associated with porphyry–Cu deposits, Atacama Desert, Chile. Chemical Geology*, 247, 2008, 208-228.
41. **Welz, B., Sperling, M.** *Atomic Absorption Spectrometry, Third Edition, Wiley-VCH, Weinheim, 1999.*
42. **Montaser, A., Golightly, D. W. (Editores)** *Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry, Second Edition, Wiley-VCH, Weinheim, 1992.*
43. **Montaser, A. (Editor)** *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, Wiley-VCH, Weinheim, 1998.*
44. **Skoog, D.A., Holler, F.J., Crouch, S.R.** *Principios de Análisis Instrumental, Sexta Edición, Cengage Learning Editores, México D.F., 2008.*
45. **Filik, H., Tütem, E., Apak, R.** *Use of the molybdenum–thiocyanate–rhodamine 6G ternary complex for spectrophotometric molybdenum determination without extraction. Analytica Chimica Acta*, 2004, 505, 77-82.
46. **Pelit, L., Koçak S., Pelit, F., Turkmen, H., Ertas, F.** *A spectrophotometric method for determination of molybdenum in water samples by using pyrogallol red and water soluble ionic liquid. Analytical Methods*, 2013, 5, 5792-5798.

47. **Soylak, M., Şahin, U., Elçi, L.** Spectrophotometric determination of molybdenum in steel samples utilizing selective sorbent extraction on Amberlite XAD-8 resin. *Analytica Chimica Acta*, 1996, 322, 111-115.
48. **Alkan, M., Kharun, M. and Chmilenko, F.** Spectrophotometric determination of molybdenum with Alizarin Red S in the presence of poly (sulfonypiperidinylmethylene hydroxide). *Talanta*, 2003, 59, 605-611.
49. **Kostova, D.** Triphenyltetrazolium chloride as a new analytical reagent for molybdenum (VI): Application to plant analysis. *Journal of Analytical Chemistry*, 2011, 66,384-388.
50. **Ensafi, A., Haghghi, A.** Spectrophotometric reaction rate method for the determination of molybdenum by its catalytic effect on the oxidation of pyrogallol red with hydrogen peroxide. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 1998, 360, 535-538.
51. **Mubarak, A., Mohamed, A., Fawy, K., Al-Shihry, A.** Highly sensitive catalytic determination of molybdenum. *Talanta*, 2007, 71, 632-638.
52. **Mansouri, A., Mirzaei, M., Afzali, D.** Catalytic spectrophotometric determination of Mo(VI) in water samples using 4-amino-3-hydroxy-naphthalene sulfonic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 2016, 9, S1105-S1109.
53. **Micic, R., Simonovic, R., Petkovic, B.** Kinetic Spectrophotometric Determination of Traces of Molybdenum(VI) by Its Inhibitory Effect on the Oxidation of 4-Hydroxycoumarine by Potassium Permanganate. *Analytical Sciences*, 2006, 22, 793-796.
54. **Carrilho, E., Krug, F., Zagatto, E.** Correction of iron interface in the spectrophotometric flow injection catalytic determination of molybdenum in plants. *Talanta*, 1995, 42, 2021-2026.
55. **Nakano, S., Kamaguchi, C., Hirakawa, N.** Flow-injection catalytic spectrophotometric determination of molybdenum(VI) in plants using bromate oxidative coupling of p-hydrazinobensenesulfonic acid with N-(1-naphthyl)ethylenediamine. *Talanta*, 2010, 81, 786-791.
56. **de Godoi Pereira, M., Zezzi Arruda, M.A.** Trends in preconcentration procedures for metal determination using atomic spectrometry techniques. *Microchimica Acta*, 2003, 141, 115-131.
57. **Pyrzinska, K.** Determination of molybdenum in environmental samples. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 590, 40-48.
58. **Ferreira, S., dos Santos, H., Costa, A., de la Guardia, M.** Procedures for separation and preconcentration for molybdenum using atomic spectrometry. A review. *Applied Spectroscopy Reviews*, 2004, 39, 457-474.
59. **Huang, S., Lai, W., Shih, K.** Direct determination of molybdenum, chromium and manganese in seawater by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, 1995, 50, 1237-1246.

60. **Chen, C., Danadurai, K., Huang, S.** *Direct and simultaneous determination of copper, manganese and molybdenum in seawater with a multi-element electrothermal atomic absorption spectrometer.* *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2001, 16, 404-408.
61. **Khan, N., Jeong, I.S., Hwang, I.M., Kim, J.S., Choi, S.H., Nho, E.Y., Choi, J.Y., Kwak, B.M., Ahn, J.H., Yoon, T., Kim, K.S.** *Method validation for simultaneous determination of chromium, molybdenum and selenium in infant formulas by ICP-OES and selenium in infant formulas by ICP-OES and ICP-MS.* *Food Chemistry*, 2013, 141, 3566-3570.
62. **Reid, H.J., Bashammakh, A.A., Goodall, P.S., Landon, M.R., O'Connor, C., Sharp, B.L.** *Determination of iodine and molybdenum in milk by quadrupole ICP-MS.* *Talanta*, 2008, 75, 189-197.
63. **Rusk, B.G., Reed, M.H., Dilles, J.H., Klemm, L.M. and Heinrich, C.A.** *Compositions of magmatic hydrothermal fluids determined by LA-ICP-MS of fluid inclusions from the porphyry copper-molybdenum deposit at Butte, MT.* *Chemical Geology*, 2004, 210, 173-199.
64. **Rodushkin, I., Ödman, F., Olofsson, R. and Axelsson, M.D.** *Determination of 60 elements in whole blood by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry.* *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 200, 15, 937-944.
65. **Wang, J., Hansen, E.H., Gammelgaard, B.** *Flow injection on-line dilution for multi-element determination in human urine with detection by inductively coupled plasma mass spectrometry.* *Talanta*, 2001, 55, 117-126.
66. **Bellato, A.C.S., Gervasio, A.P.G., Giné, M.F.** *Cloud-point extraction of molybdenum in plants and determination by isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry.* *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2005, 20, 535-537.
67. **Wang, J.** *Analytical electrochemistry, Second Edition, Wiley -VCH, New York, 2001.*
68. **Zarębski, J., Bobrowski, A., Królicka, A., Bobrowski, R., Kwaśniewska, K.** *Ultrasensitive catalytic-adsorptive stripping voltammetric determination of molybdenum using a Mo (VI)-chloranilic acid-chlorate system.* *Electrochimica Acta*, 2016, 208, 267-272.
69. **Afkhami, A., Moradi, M., Bahiraei, A., Madrakian, T.** *A sensitive method for electrochemical determination of molybdenum (VI) in plant foodstuff samples using $Ni_{0.5}Zn_{0.5}Fe_2O_4$ nanocomposite modified carbon paste electrode.* *Nanochemistry Research*, 2016, 1, 249-257.
70. **Amorello, D., Orecchio, S.** *Vanadium and molybdenum concentrations in particulate from Palermo (Italy): analytical methods using voltammetry.* *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2015, 9, 605-614.
71. **Rojas, C., Arancibia, V., Gómez, M., Nagles, E.** *Simultaneous Determination of Antimony(III) and Molybdenum(VI) by Adsorptive Stripping Voltammetry Using Quercetin as Complexing Agent.* *Electroanalysis*, 2013, 25, 439-447.

72. **Piech, R., Baś, B., Kubiak, W.** *The cyclic renewable mercury film silver based electrode for determination of molybdenum(VI) traces using adsorptive stripping voltammetry.* *Talanta*, 2008, 76, 295-300.
73. **Ensafi, A., Khaloo, S.** *Determination of traces molybdenum by catalytic adsorptive stripping voltammetry.* *Talanta*, 2005, 65, 781-788.
74. **Ensafi, A., Khayamian, T., Atabati, M.** *Simultaneous voltammetric determination of molybdenum and copper by adsorption cathodic differential pulse stripping method using a principal component artificial neural network.* *Talanta*, 2002, 57, 785-793.
75. **Sun, Y.C., Yang, J.Y., Tzeng, S.R.** *Rapid determination of molybdate in natural waters by coprecipitation and neutron activation analysis.* *Analyst*, 1999, 124, 421-424.
76. **Kuathilake, A. I., Chat A.** *Determination of molybdenum in sea and estuarine water with BETA-naphthoin oxime and neutron activation.* *Analytical Chemistry*, 1980, 52, 828-833.
77. **Murthy, R. S., Ryan, D. E.** *Determination of arsenic, molybdenum, uranium and vanadium in seawater by neutron activation analysis after preconcentration by colloid flotation.* *Analytical Chemistry*, 1983, 55, 682-684.
78. **Mok, W., Wai, C.** *Preconcentration with Dithiocarbamate Extraction for Determination of Molybdenum in Seawater by Neutron Activation Analysis.* *Analytical Chemistry*, 1984, 56, 27-29.
79. **Ruzicka, J., Hansen, E.** *Flow Injection Analysis, Second Edition, Wiley, New York, 1989.*
80. **Trojanowicz, M.** *Flow Injection Analysis: Instrumentation and Applications, World Scientific, Singapore, 2000.*
81. **Yu, Y.L., Jiang, Y., Chen, M.L., Wang, J.H.** *Lab-on-valve in the miniaturization of analytical systems and sample processing for metal analysis.* *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2011, 30, 1649-1658.
82. **Ríos, A., Zougagh, M., Ávila, M.** *Miniaturization through lab-on-a-chip: Utopia or reality for routine laboratories? A review.* *Analytica Chimica Acta*, 2012, 740, 1-11.
83. **Phansi, P., Henríquez, C., Palacio, E., Nacapricha, D., Cerdá, V.** *Automated in-chip kinetic-catalytic method for molybdenum determination.* *Talanta*, 2014, 119, 68-74.
84. **Ríos, A., Zougagh, M.** *Sample preparation for micro total analytical systems (μ -TASs).* *Trends in Analytical Chemistry*, 2013, 43, 174-188.
85. **Alfassi, Z. B., Wai, C. M. (Editores)** *Preconcentration Techniques for Trace Elements, CRC Press, Boca Raton, 1992.*
86. **Fritz, J.** *Analytical Solid-Phase Extraction, Wiley-VCH, New York, 1999.*

87. **Thurman, E.M., Mills, M.S.** *Solid-Phase Extraction*, Wiley, New York, 1998.
88. **Ardestani, F., Hosseini M.H., Taghizadeh M., Pourjavid M.R., Rezaee M.** *Synthesis and characterization of nanopore MoVI imprinted polymer and its application as solid phase extraction, separation and preconcentration of molybdenum ions from water samples. Journal of Brazilian Chemistry Society*, 2016, 26, 1279-1289.
89. **Poursheikhi, N., Hashemi, P., Safdarian, M., Serenjah, F., Hesami, F.** *Agarose Based Magnetic Solid-Phase Extraction-Magnetic Field Agitation for Determination of Trace Amounts of Molybdenum in Beans, J ournal of Brazilian Chemistry Society*, 2016, 27, 670-676.
90. **Bazán C., Gil R., Smichowski P., Paceco P.** *Multivariate optimization of a solid phase extraction system employing L-tyrosine immobilized on carbon nanotubes applied to Mo analysis by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with ultrasound nebulization. Microchemical Journal*, 2014, 117, 40-45.
91. **Nomngongo, P., Ngila, J., Kamau, J., Msagati, T., Moodley, B.** *Preconcentration of Mo, Sb and V in gasolsine samples using Dowex 1-x8 resin and their determination with inductively coupled plasma–optical emission spectrometry. Talanta*, 2013, 110, 156-159.
92. **Sharma, R., Pandey, A., Gulati, S., Adholeya, A.** *Silica modified with 2,6-diacetylpyridine-monosalicyloylhydrazone: A novel and selective organic–inorganic sorbent for separation of Mo ions in a newly designed reactor. Chemical Engineering Journal*, 2012, 210, 490-499.
93. **Escudero, L., Gil, R., Gásquez, J., Martínez, L.** *Trace molybdenum determination in drinking waters by USN-ICP-OES after solid phase extraction on ethyl vinyl acetate turnings-packed minicolumn. Atomic Spectrometry*, 2008, 29, 21-26.
94. **Li, Q., Zhao, X., Guan, X., Liu, G.** *A novel method of the separation/preconcentration and determination of trace Mo(VI) in water samples using microcrystalline triphenylmethane loaded with salicyl fluorone. Analytica Chimica Acta*, 2006, 562, 44-50.
95. **Gil, R., Pasini-Cabello, S., Takara, A., Smichowski, P., Olsina, R., Martínez, L.** *A novel on line preconcentration method for trace Mo determination by USN-ICP-OES with biosorption on immobilized yeasts. Microchemical Journal*, 2007, 86, 156-160.
96. **Ferreira, S., dos Santos, H., Campos, R.** *The determination of molybdenum in water and biological samples by graphite furnace atomic spectrometry after polyurethane foam column separation and preconcentration. Talanta*, 2003, 61, 789-795.
97. **Jiménez, M., Velarte, R., Castillo, J.** *Performance of different preconcentration columns used in sequential injection analysis and ICP-MS for multielemental determination in seawater. Spectrochimica Acta Part B*, 2002, 57, 391-402.

98. **Boaventura, G.R., Hirson, J.R. , Santelli, R.E.** *Determination of molybdenum in silicates by flame atomic absorption spectrometry exploiting activated carbon as collector. Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 1994, 350, 651-652.*
99. **Hall, G., Pelchat, J.C., de Silva ,K.N.** *Determination of Low Concentrations of W and Mo in Geological Materials Using Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry with Pre-concentration on Activated Charcoal. Analyst, 1987, 112, 631-635.*
100. **Okutani, T., Noshiro, K., Sakuragawa, A.** *Determination of a Trace Amount of Mo(VI) by Graphite-Furnace Atomic Absorption Spectrometry after Adsorption and Elution as a Mo-Pyrocatechol Violet Complex on Activated Carbon. Analytical Science., 1998, 14,621-625.*
101. **Ghiavsand, A.R., Shadabi, S., Mohagheghzadeh, E., Hashemi, P.** *Homogeneous liquid-liquid extraction method for the selective separation and preconcentration of ultra trace molybdenum. Talanta, 2005, 66, 912-916.*
102. **Comitre, A. L., Reis, B. F.** *Liquid-liquid extraction procedure exploiting multicommutation in flow system for the determination of molybdenum in plants. Analytica Chimica Acta, 2003, 479, 185-190.*
103. **Agrawal Y., Sharma K.** *Speciation, liquid-liquid extraction, sequential separation, preconcentration, transport and ICP-AES determination of Cr(III), Mo(VI) and W(VI) with calix-crown hydroxamic acid in high purity grade materials and environmental samples. Talanta, 2005, 67,112-120.*
104. **Lajunen, L., Kubin, A.** *Determination of trace amounts of molybdenum in plant tissue by solvent extraction atomic absorption and direct current plasma emission spectrometry. Talanta, 1986, 33, 265-270.*
105. **Agrawal, Y., Menon, S., Patel, K.** *Solvent extraction and spectrophotometric including GFAAS after solvent extraction of molybdenum in the environment. Microchimica Acta, 1996, 122, 259-265.*
106. **Madrakian, T., Ghazizadeh, F.** *Cloud-point preconcentration and spectrophotometric determination of trace amounts of molybdenum(VI) in steels and water samples. Journal of Hazardous Materials, 2008, 153, 695-700.*
107. **Filik, H., Cengel, T., Apak, R.** *Selective cloud point extraction and graphite furnace atomic absorption spectrometric determination of molybdenum (VI) ion in seawater samples, Journal of Hazardous Materials, 2009, 169, 766-771.*
108. **Gürkan, R., Aksoy, U., Ulusoy, H.I., Akcay, M.** *Determination of low levels of molybdenum (VI) in food samples and beverages by cloud point extraction coupled with flame atomic absorption spectrometry. Journal of Food Composition and Analysis, 2013, 32, 74-82.*

109. **Pena-Pereira, F., Lavilla, I., Bendicho, C.** *Miniaturized preconcentration methods based on liquid–liquid extraction and their application in inorganic ultratrace analysis and speciation: A review. Spectrochimica Acta Part B*, 2009, 64, 1-15.
110. **Han, D., Row, K.H.** *Trends in liquid-phase microextraction, and its application to environmental and biological samples. Microchimica Acta*, 2012, 176, 1–22.
111. **Rezaee, M., Mozaffari, M., Haddadi, H., Pourjavid, M., Semnani, A.** *Extraction and Separation of Molybdenum by Using Homogeneous Liquid-Liquid Microextraction via Flotation Assistance. Journal of Brazilian Chemistry Society.*, 2015, 26, 880-886.
112. **Oviedo, J., Fialho, L., Nóbrega, J. A.** *Determination of molybdenum in plants by vortex-assisted emulsification solidified floating organic drop microextraction and flame atomic absorption spectrometry. Spectrochimica Acta Part B.*, 2013, 86, 142-145.
113. **Gharehbaghi, M., Shemirani, F.** *Ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction and enhanced spectrophotometric determination of molybdenum (VI) in water and plant leaves samples by FO-LADS. Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49, 423–428.
114. **Shamsipur, M., Habibollahi, S.** *A highly sensitive procedure for determination of ultra trace amounts of molybdenum by graphite furnace atomic absorption spectrometry after dispersive liquid-liquid microextraction. Microchimica Acta*, 2010, 171, 267-273.
115. **Dos Santos Silva, E., Azevedo Lemos, V.** *Sensitive determination of trace molybdenum in natural waters using dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. Analytical Methods*, 2013, 5, 2098-2103.
116. **Mansouri, A., Afzali, D., Ganjavi, F.** *Dispersive liquid-liquid of trace amounts of molybdenum prior to electro-thermal atomic absorption spectrometry determination. International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2014, 94, 247-254.
117. **Liawruangrath, S., Som-aum, W., Townshend, A.** *A comparison of enrichment factor of knotted and serpentine reactors using flow injection sorption and preconcentration for the off-line determination of some trace elements by inductively coupled plasma mass spectrometry. Talanta*, 2002, 58, 1177-1184.
118. **Chen, H., Xu, S., Fang, Z.** *Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of molybdenum in water, human hair and high-purity reagents with flow injection on-line coprecipitation preconcentration. Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 1995, 10, 533-537.
119. **Benkhedda, K., Infante, H.G., Ivanova, E., Adams, F.C.** *Trace metal analysis of natural waters and biological samples by axial inductively coupled plasma time of flight mass spectrometry (ICP-TOFMS) with flow injection on-line adsorption preconcentration using a knotted reactor. Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2000, 15, 1349-1356.

120. Shimizu, T., Ito, H., Kawaguchi, H., Shijo, Y. *Determination of trace molybdenum in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry after preconcentration with miniaturized coprecipitation. Bulletin of the Chemical Society of Japan, 1999, 72, 43-46.*
121. López-García, I., Viñas, P., Romero-Romero, R., Hernández-Córdoba, M. *Liquid chromatography–electrothermal atomic absorption spectrometry for the separation and preconcentration of molybdenum in milk and infant formulas. Analytica Chimica Acta, 2007, 597, 187-194.*
122. Bednar, A. J., Mirecki, J.E., Inouye, L.S., Winfield, L.E., Larson, L., Ringelerg, D.B. *The determination of tungsten, molybdenum, and phosphorus oxyanions by high performance liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry. Talanta, 2007, 72, 1828-1832.*
123. Sun, H.L., Liu, H.M, Tsai, S.J.J. *Quantitative analysis of manganese, chromium and molybdenum by ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatography with pre-column derivatization and UV-visible detection. Journal of Chromatography A, 1999, 857, 351-357.*
124. Magnusson, B., Örnemark, B.(Editores) *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, Second Edition, 2014. www.eurachem.org (consultado en marzo 2017).*
125. Taverniers, I., De Loose, M., Van Bockstaele, E. *Trends in Quality in the Analytical Laboratory. II. Analytical Method Validation and Quality Assurance. Trends in Analytical Chemistry, 2004, 23, 535-552.*
126. Vessman, J., Stefan, I., van Staden, J., Danzer, K., Lindner, W., Burns, D., Fajgelj, A., Müller, H. *Selectivity in analytical chemistry (IUPAC recommendations 2001), Pure Applied Chemistry, 2001, 73, 1381.*
127. Ramis Ramos, G., García Alvarez-Coque, M.C. *Quimiometría, Síntesis, Madrid, 2001.*
128. Beaty, R., Kerber, J. *Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry, Second Edition, The Perkin Elmer Corporation, Norwalk, 1993.*
129. Butcher, D.J., Sneddon, J. *A practical guide to Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry, Wiley, Nueva York, 1998.*
130. Rice, E.W., Baird, R.B., Eaton, A.D., Clesceri, L.S. (Editores) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, Edición 22, American Public Health Association, Washington DC, 2-44, 2012.*
131. Tanji, K., Valoppi, L. *Groundwater Contamination by Trace Elements. Agriculture, Ecosystems and Environment, 1989, 26, 229- 274.*

132. **Su, P., Huang, S.** *Direct and simultaneous determination of molybdenum and vanadium in sea-water using a multielement electrothermal atomic absorption spectrometer. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 1998, 13, 641-645.*
133. **Shaole, W., Chakrabarti, C., Marcantonio, F., Hwdiuck, K.** *Mechanisms of atomization of molybdenum in graphite furnace atomic absorption spectrometry. Spectrochimica Acta, 1986, 41, 651-667.*
134. **Prell, L., Styrist, D., Redfield, D.** *Comparison of atomization mechanisms for group IIA elements in electrothermal atomic absorption spectrometry. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 1991, 6, 25-32.*
135. **Miller, J.N., Miller, J.C.,** *Statistics and chemometrics for analytical chemistry, Fifth Edition, Pearson, Essex, 2005.*
136. **Hanrahan, G., Zhu, J., Gibani, S., Patil, D.** *Chemometrics and statistics, Elsevier, California, 2005.*
137. **Breton, R.G.** *Chemometrics : data analysis for the laboratory and chemical plant, Wiley, Londres, 2003.*
138. **Massart, D.L., Vandeginste, B.G.M., Buydens, L.M.C., De Jong, S., Lewi, P.J., Smeyers-Verbeke, J.** *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A, Data Handling in Science and Technology Volume 20A, Elsevier Science, Amsterdam, 1997.*
139. **Rezaee, M., Assadi, Y., Milani, M.R., Aghaee, H.E., Ahmadi, F., Berijani, S.** *Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. Journal of Chromatography A, 2006, 1116, 1-9.*
140. **Rezaee, M., Yamini, Y., Faraji, M.** *Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method, Journal of Chromatography A, 2010, 1217, 2342-2357.*
141. **Zanjani, M.R.K., Yamini, Y., Shariati, S., Jönsson, J.A.** *A new liquid-phase microextraction method based on solidification of floating organic drop. Analytica Chimica Acta, 2007, 585, 286-293.*
142. **Shi, Z.G., Lee, H.K.** *Dispersive liquid-liquid microextraction coupled with solid-phase extraction for the fast determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water. Analytical Chemistry, 2010, 82, 1540-1545.*
143. **Kocurova, L., Balogh, I., Skrlíkova, J., Posta, J., Andruch, V.** *A novel approach in dispersive liquid-liquid microextraction based on the use of an auxiliary solvent for adjustment of density. Talanta, 2010, 82, 1958-1964.*
144. **Pham, T.P.T., Cho, C.W., Yun, Y. S.** *Environmental fate and toxicity of ionic liquids: A review. Water Research, 2010, 44, 352-372.*

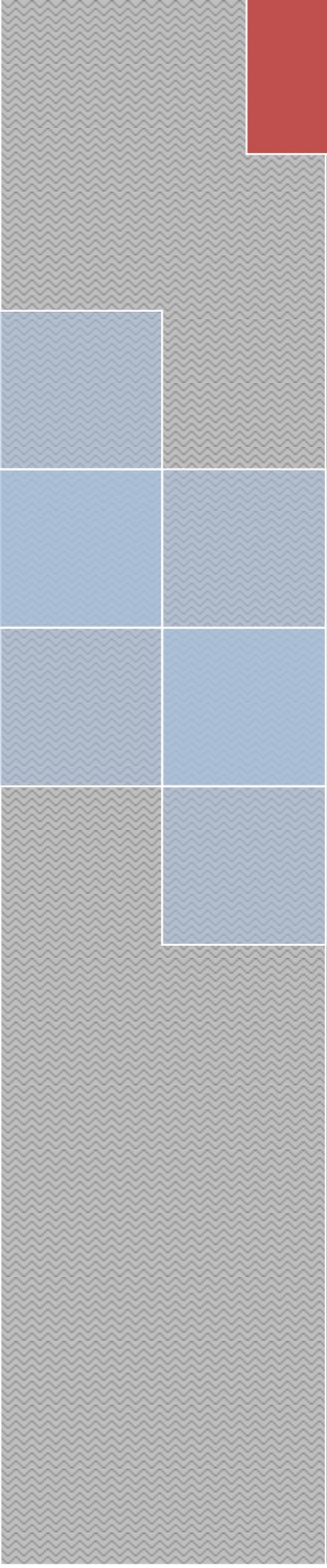
145. **Skoog, D.A., Holler, F.J., West, J., Crouch S.R.** *Fundamentals of Analytical Chemistry, Eight Edition, Thomson, Belmont, 2004.*
146. **El-Shahawi, H.S., Al-Saidi, H.M.** *Dispersive liquid-liquid microextraction for chemical speciation and determination of ultra-trace concentrations of metal ions. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2013, 44, 12-24.*
147. **Flaschka, H. A., Barnard Jr., A. J.** *Chelates in Analytical Chemistry. A collection of Monographs Volume 1, Marcel Dekker INC, New York, 1967.*
148. **Crystallographic Structures Database, versión 5.36, 2014.**
149. **Berg, J., Hodgson, K.** *Redetermination of the structure of $\text{MoO}_2(\text{S}_2\text{CN}(\text{C}_2\text{H}_5)_2)_2$: confirmation of the usual MoO_2^{2+} geometry. Inorganic Chemistry, 1980, 19, 2180–2181.*
150. **Blake, A. B., Cotton, F. A., Wood, J. S.,** *The Crystal, Molecular, and Electronic Structures of a Binuclear Oxomolybdenum(V) Xanthate Complex. Journal of American Chemistry Society, 1964, 86, 3024–3031.*
151. **Yamanouchi, K., Enemark, J.H.** *Monomeric Molybdenum(V) Complexes. Inorganic Chemistry, 17, 1978, 1981-1986.*
152. **Donaldson, E.** *Chloroform extraction of metal ethyl xanthates from hydrochloric acid media. Talanta, 1976, 23, 411-416.*
153. **Yatirajam, V., Ram, J.** *Extractive separation of molybdenum as Mo(V) xanthate from iron, vanadium, tungsten, cooper, uranium and other elements. Talanta, 1974, 21, 439-443.*
154. **Hill, S.J.** *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications, Second Edition, Blackwell Publishing, Londres, 2007.*
155. **Mandel, J., Linnig, F. J.** *Study of Accuracy in Chemical Analysis Using Linear Calibration Curves. Analytical Chemistry, 1957, 29, 743-749.*
156. **Altesor, C., Dol, I., Knochen, M.** *Aplicación de técnicas estadísticas para la comprobación de la exactitud en el desarrollo de métodos analíticos farmacéuticos, Acta Farmacéutica Bonaerense, 1994, 13, 49-52.*
157. **Rice, E. W., Baird, R. B., Eaton, A. D., Clesceri, L. S. (eds)** *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22 Edition, American Public Health Association, Washington DC, 3-46, 2012.*
158. **Miller, J.N, Miller, J.C.** *Estadística para Química Analítica, Segunda Edición, Addison-Wesley Iberoamerican S.A., Wilmington, 1993.*
159. **Welch, H., Stollenwerk, K. G. (Editores)** *Arsenic in ground water. Occurrence and Geochemistry, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2003.*

160. **Dos Santos, H. C., Korn, M. G. A., Ferreira, S. L. C.** *Enrichment and determination of molybdenum in geological samples and seawater by ICP-AES using calmagite and activated carbon.* *Analytica Chimica Acta*, 2011, 426, 79–84.
161. **Tissot, F., Torres, J., Knochen, M.** *Sensitive method for determination of molybdenum in natural groundwater at sub-ppb levels using DLLME coupled to ETAAS.* *Analytical Methods*, 2017, 9, 1755-1761.
162. **Deng, P.H., Fei, J.J., Feng, Y.L.** *Trace determination of molybdenum by anodic adsorptive stripping voltammetry using a multi-walled carbon nanotubes modified carbon paste electrode.* *Sensors and Actuators B*, 2010, 148, 214–220.
163. **FiliK, H., Tütem, E., Apak, R.** *Use of the molybdenum–thiocyanate–rhodamine 6G ternary complex for spectrophotometric molybdenum determination without extraction.* *Analytica Chimica Acta*, 2004, 505, 77-82.
164. **Lešková, M., Sklenářová, H., Bazel, Y., Chocholouš, P., Solich, P., Andruch, V.** *A non-extractive sequential injection method for determination of molybdenum.* *Talanta*, 2012, 96, 185-189.
165. **Madrakian, T., Ghazizadeh, F.** *Cloud-point preconcentration and spectrophotometric determination of trace amounts of molybdenum(VI) in steels and water samples,* *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 153, 695–700.
166. **Ferreira, S. L. C., Dos Santos, H. C., Campos, R. C.** *The determination of molybdenum in water and biological samples by graphite furnace atomic spectrometry after polyurethane foam column separation and preconcentration.* *Talanta*, 2003, 61, 789-795.
167. **Saran, R., Basu Baul, T., Srinivas, P., Khathing, D.** *Simultaneous determination of trace heavy metals in waters by atomic absorption spectrometry after preconcentration by solvent extraction.* *Analytical Letters*, 1992, 25, 1545-1557.
168. **Mañay, N., Goso, C., Pistón, M., Fernández-Turiel, J.L., García-Vallés, M., Rejas, M., Guerequiz, R.** *Arsenic content in Raigón aquifer system (San José, Uruguay),* *Sociedad Uruguaya de Geología*, 2013, 18, 20-38.
169. **Manganelli, A., Goso, C., Guerequiz, R., Fernández Turiel, J. L., García Vallés, M., Gimeno, D., Pérez, C.** *Groundwater arsenic distribution in South-western Uruguay,* *Environmental Geology*, 2007, 53, 827–834.
170. **Torres, J., Gonzatto, L., Goso, C., Fernández-Turiel, J., Rejas, M., García-Vallés, M., Kremer, C., Kremer, E.** *Using Chemical Modeling to Assess Water Quality in the Raigón Aquifer System in Southern Uruguay.* *Journal of Environmental Pollution and Human Health*, 3, 2015, 31-38.
171. **Yee, H.S., Measures, C.I., Edmond, J.M.** *Selenium in the tributaries of the Orinoco in Venezuela,* 1987, *Nature*, 326, 686–689.

172. **Elbaz-Poulichet, F., Seyler, P., Maurice-Bourgoin, L., Guyot, J.L., Dupuy, C.** *Trace element geochemistry in the upper Amazon drainage basin (Bolivia).* *Chemical Geology*, 1999, 157, 319-334.
173. **Biedermann, G., Sillen, L.G.** *Studies on the hydrolysis of metal ions 5: the hydrolysis of the Thallium(III) ion.* *Arkiv for Kemi*, 1953, 5, 441-455.
174. **Gans, P., O'Sullivan, B.** *Glee, a new computer program for glass electrode calibration.* *Talanta*, 2000, 51, 33-37.
175. **Braibanti, A., Ostacoli, G., Paoletti, P., Pettit, L., Sammartano, S.** *Recommended procedure for testing the potentiometric apparatus and technique for the pH-metric measurement of metal-complex equilibrium constants.* *Pure and Applied Chemistry*, 1987, 59, 1721-1728.
176. **Saito, A., Tomari, H., Choppin, G.** *Spectrophotometric studies of metal cation interaction with nanomolybdomanganate(IV) anion.* *Inorganic. Chimica Acta.*, 1997, 258, 145-153.
177. **Cotton, F.A., Wilkinson, G., Murillo, C.A., Bochman, M.** *Inorganic chemistry, Sixth Edition, Wiley, New York, 1999.*
178. **Gans, P., Sabatini, A., Vacca, A.** *Investigation of equilibria in solution. Determination of equilibrium constants with the HYPERQUAD suite of programs.* *Talanta*, 1996, 43, 1739-1753.
179. **Alderighi, L., Gans, P., Ienco, A., Peters, D., Sabatini, A., Vacca, A.** *Hyperquad simulation and speciation (HySS): a utility program for the investigation of equilibria involving soluble and partially soluble species.* *Coordination Chemistry Reviews*, 1999, 184, 311-318.
180. **Grenthe, I., Mompean, F., Spahiu, K., Wanner, H.** *Guidelines for the extrapolation to zero ionic strength, OECD Nuclear Energy Agency, France, 2013.*
181. **Torres, J., Pintos, V., Gonzatto, L., Domínguez, S., Kremer, C., Kremer, E.** *Selenium chemical speciation in natural waters.* *Chemical Geology*, 2011, 288, 32-38.
182. **Bretti, C., De Stefano, C., Millero, F.J., Sammartano, S.G.** *Modeling of protonation constants of linear aliphatic dicarboxylates containing -S-groups in aqueous chloride salt solutions, at different ionic strengths, using the SIT and Pitzer equations and empirical relationships.* *Journal of Solution Chemistry*, 2008, 37-763-784.
183. **Bretti, C., Crea, F., De Stefano, C., Foti, C., Materazzi, S., Vianelli, G.** *Thermodynamic properties of dopamine in aqueous solution. Acid-base properties, distribution, and activity coefficients in NaCl aqueous solutions at different ionic strengths and temperatures.* *Journal of Chemical & Engineering Data*, 2013, 58, 2835-2847.
184. **Sipos, P.** *Application of the Specific Ion Interaction Theory (SIT) for the ionic products of aqueous electrolyte solutions of very high concentrations.* *Journal of Molecular Liquids*, 2008, 143, 13-16.

185. **Schwarzenwach, G., Flaschka H.** *Complexometric Titrations, Second Edition, Methuen, London, 1969.*
186. **Kolthoff M., Sandell E.B., Meetran E.J., Bruckenstein S.** *Análisis Químico Cuantitativo, Sexta Edición, Niger, Buenos Aires, 1956.*
187. **Fischer R.B., Peters D.G.** *Análisis Químico Cuantitativo, Segunda Edición, Interamericana, México, 1970.*
188. **May, P.M., Murray, K.** *JESS: a joint expert speciation system. Talanta, 1991, 38, 1409–1417.*
189. **Petterson, L., Andersson, I., Ohman, L.O.** *Multicomponent Polyanions 31P NMR study of aqueous molybdophosphates. Acta Chemica Scandinavica A, 1985, 39, 53-58.*
190. **Martire, D., Feliz, M., Capparelli, A.** *Kinetic study of the molybdenum(VI)-L-histidine and molybdenum(VI)-imidazole systems. Polyhedron, 1989, 8, 2225-2232.*
191. **Crea, F., De Stefano, C., Irto, A., Milea, D., Pettignano, A., Sammartano, S.** *Modeling the acid-base properties of molybdate(VI) in different ionic media, ionic strengths and temperatures, by EDH, SIT and Pitzer equations. Journal of Molecular Liquids, 2017, 229, 15-26.*
192. **Stuart, B.** *Infrared spectroscopy: fundamentals and applications, Wiley, London, 2004.*
193. **Nakamoto, K.** *Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds, Fifth Edition, Wiley - Interscience, New York, 1997.*
194. **Belhekar, A., Ayyappan, S., Ramaswamy, A.** *FT-IR Studies on the Evolution of Different Phases and Their Interaction in Ferric Molybdate-Molybdenum Trioxide Catalysts. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 1994, 59, 395-402.*
195. **Gulyan, M., Kurtikyan, T., Ford, P.** *Six-Coordinate Nitrate Complexes of Iron(III) Porphyrins. Inorganic Chemistry, 2008, 47, 787-789.*
196. **Sharma, V. K., Sohn, M.** *Aquatic arsenic: Toxicity, speciation, transformations, and remediation. Environment International, 2009, 35, 743-759.*
197. **Zakaznova-Herzog, V.P., Seward, T.M., Suleimenov, O.M.** *Arsenic speciation in natural sulfidic geothermal waters. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2006, 70, 1928-1938.*
198. **Gout, R., Pokrovski, G., Schott, J., Zwick, A.** *Raman spectroscopic study of arsenic speciation in aqueous solutions up to 275°C. Journal of Raman Spectroscopy, 1997, 28, 725.*
199. **Groenenberg, J. E., Lofts, S.** *The use of assemblage models to describe trace elements partitioning, speciation and fate: a review. Environmental Toxicology and Chemistry, 2014, 33, 2181-2196.*

200. **Fu, F., Wang, Q.** *Removal of heavy metals ions from wastewaters: a review. Journal of Environmental Management*, 2011, 92, 407-418.
201. **Moreno, F., García, E., León, V., Arévalo, F.** *Pollution by heavy metals in the Moche River Basin, 1980-2010, La Libertad, Perú. Scientia Agropecuaria*, 2012, 3, 235-247.
202. **Brookings, D.G.** *Eh-pH Diagrams for Geochemistry*, Springer Verlag, Berlin, 1988.



ANEXO I

Publicaciones y presentaciones

Se presentan las publicaciones en revistas arbitradas internacionales y las presentaciones en congresos, simposios y encuentros a nivel nacional, regional e internacional, a que ha dado lugar hasta el momento el trabajo desarrollado en la presente tesis.



10.1 Artículos publicados

Sensitive method for the determination of molybdenum in natural groundwater at sub-ppb levels using DLLME coupled with ETAAS. Tissot F., Torres J., Knochen M., *Analytical Methods*, 2017, 9, 1755-1761.

Interactions of W(VI) and Mo(VI) oxyanions with metal cations in natural waters. Torres J., Tissot F., Santos P., Ferrari C., Kremer C., Kremer E., *Journal of Solution Chemistry*, 2016, 45, 1598-1611.

10.2 Trabajos presentados en eventos

Desarrollo de una nueva metodología de alta sensibilidad para la determinación de molibdeno en aguas naturales basada en micro extracción dispersiva líquido – líquido y ETAAS. Tissot F., Knochen M. Presentado en modalidad póster en el XII Simposio Latinoamericano de Química Analítica y Ambiental, Manizales, Colombia, 24-27 abril de 2017.

Determinación de Molibdeno en aguas subterráneas por microextracción dispersiva líquido-líquido y espectrometría de absorción atómica electrotrémica. Tissot F., Knochen M. Presentado en modalidad de póster en el 4to Congreso Uruguayo de Química Analítica, Montevideo, 25-28 setiembre de 2016.

Interactions of W(VI) oxyanions with metal cations: thermodynamic modeling in natural waters. Kremer E., Tissot F., Ferrari C., Santos P., Gonzatto L., Kremer E., Torres J. Presentado en modalidad de póster en la 34th International Conference on Solution Chemistry, realizada en Praga, República Checa, del 30 de agosto al 6 de setiembre de 2015.

Especiación química de Molibdeno (VI) en aguas naturales y estudio de la interacción con iones de relevancia ambiental y toxicológica. Tissot F., Torres J., Kremer C., Kremer E. Presentado en modalidad póster en el Tercer Encuentro Nacional de Ciencias Químicas, Montevideo, 4-6 noviembre de 2013.

Interactions of Mo(VI) oxyanions with metal cations: thermodynamic modeling in natural waters. Kremer E., Gonzatto L., Tissot F., Peinado G., Torres J., Kremer C. Presentado en modalidad poster en la 33rd International Conference on Solution Chemistry, Kyoto, Japón, 7-12 de julio de 2013.

Interactions of Mo(VI) oxyanions with environmentally relevant metal cations in natural ground water. Gonzatto L., Tissot F., Torres J., Kremer C., Kremer E. Presentado en modalidad póster el 12th International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine, Punta del Este, Uruguay, 11-13 de marzo de 2013.

Especiación química de Mo(VI) en aguas naturales. Torres J., Gonzatto L., Tissot F., Kremer C., Kremer E., 5to. Presentado en modalidad póster en el Congreso Iberoamericano de Química Analítica 2do. Congreso Uruguayo de Química Analítica, Montevideo, Uruguay, octubre de 2012.

Cite this: *Anal. Methods*, 2017, 9, 1755

Sensitive method for the determination of molybdenum in natural groundwater at sub-ppb levels using DLLME coupled with ETAAS†

Florencia Tissot,^a Julia Torres^b and Moisés Knochen^{*a}

Molybdenum is an essential trace element of biological and environmental relevance. Monitoring its content in water sources is very important from the standpoint of health and environment. Given the very low concentrations of Mo in water, it is necessary to use highly sensitive techniques such as ICP-MS or elaborate methods including preconcentration prior to detection. In this work, a new method for the determination of molybdenum in groundwater was developed, incorporating a preconcentration step based on dispersive liquid–liquid microextraction (DLLME) prior to detection by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). After the injection of a ternary mixture formed by an aqueous solution of the complexing agent (potassium ethyl xanthate) and extraction and dispersion solvents (carbon tetrachloride, acetonitrile), the formation of the Mo–xanthate complex occurs followed by its extraction in fine droplets of carbon tetrachloride. After separating the phases the molybdenum content is measured by ETAAS. Several experimental parameters were optimised and the method was validated, presenting a detection limit ($3s/b$) of $0.017 \mu\text{g L}^{-1}$, a quantification limit ($10s/b$) of $0.062 \mu\text{g L}^{-1}$, and an enrichment factor of 165 for a sample volume of 6.0 mL. The calibration curve was linear in the range of $0.06\text{--}1.1 \mu\text{g L}^{-1}$, the precision (repeatability, s_r (%), $n = 10$) was 2.98% at $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ and the recovery of spiked samples was 98.5–103%. This method was successfully applied to the determination of molybdenum in groundwater and the results were found to be equivalent to those obtained by ICP-MS.

Received 23rd December 2016
Accepted 13th February 2017

DOI: 10.1039/c6ay03435g

rsc.li/methods

Introduction

Molybdenum is a trace element of biological and environmental relevance whose mobility in the earth's crust depends largely on the hydrological cycle. It has variable oxidation states, ranging from +2 to +6. These oxidation states are easily convertible into each other, providing the basis for its essential character, since it forms the active sites of many enzymes that catalyse redox reactions in microorganisms, plants and animals.^{1–5} In plants, Mo is essential because it is a co-factor of nitrate reductase which is responsible for the reduction of nitrate to allow it to be assimilated and aldehyde oxidase for the synthesis of growth hormones. It is also a component of the bacterial enzyme nitrogenase implicated in the fixation of nitrogen in legume root nodules. In animals, molybdenum is required for several enzymes participating in the metabolism of C, N and S. It is a co-

factor in the enzymes sulfite oxidase, xanthine oxidase and aldehyde oxidase. Sulfite oxidase is very important in humans because it is involved in the metabolism of S-containing amino acids.

Although molybdenum is an essential element, at high concentrations it can be toxic to animals and humans. In livestock, Mo, Cu and S are related in the condition called molybdenosis which is a Mo-induced Cu deficiency causing digestive and reproductive disorders among others.

The natural sources of molybdenum in the aquatic environment include the weathering of ores from igneous and sedimentary rocks and subsequent runoff to streams and lakes. It may also enter the aquatic environment through leaching processes near molybdenum mines and burning of fossil fuels. An important anthropogenic source of Mo in aquatic systems is the use of fertilizers, lubricants and other industrial products containing molybdenum.^{6–8} In water, where its prevailing oxidation state is +6, it forms oxo/hydroxo species including polyanions that interact with the most abundant cations.^{9,10}

Monitoring the molybdenum content in natural water samples is of utmost importance. However the concentration levels in these kinds of samples are usually very low, in the microgram-per-litre range. Thus highly sensitive techniques are required, for instance, inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) or electrothermal atomic absorption

^aUniversidad de la República (UdelAR), Facultad de Química, Departamento Estrella Campos, Área de Química Analítica, Av. Gral. Flores 2124 – 11800, Montevideo, Uruguay. E-mail: mknochen@fq.edu.uy

^bUniversidad de la República (UdelAR), Facultad de Química, Departamento Estrella Campos, Área de Química Inorgánica, Av. Gral. Flores 2124 – 11800, Montevideo, Uruguay

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/c6ay03435g

spectrometry (ETAAS).¹¹ In order to enhance detectability these techniques are often employed in association with preconcentration steps.

In natural fresh waters, the total molybdenum concentrations range from 0.03 to 10 $\mu\text{g L}^{-1}$.^{12,13} At such low concentration levels, preconcentration becomes necessary. Among the preconcentration techniques available, homogeneous liquid–liquid extraction,¹⁴ solid phase extraction,^{15,16} and cloud-point extraction¹⁷ have been reported.

Recently, dispersive liquid–liquid microextraction (DLLME) has been developed for the preconcentration of organic substances¹⁸ and later used also for the determination of inorganic substances.¹⁹

DLLME is a miniaturized liquid–liquid extraction process, where usual volumes of organic solvents are in the order of microliters. It is faster, cheaper and more environmentally friendly than conventional liquid–liquid extraction because it generates less chemical waste thus minimizing the environmental impact.

In a typical DLLME method an appropriate mixture of solvents (extraction and dispersive) is rapidly injected into an aqueous sample solution containing the analyte. In the case of the metal ions, a ligand is normally added to form a complex that should be soluble in the extraction solvent. After injection of the solvent mixture, opalescence immediately appears due to the dispersion of the extraction solvent in the form of droplets. Thus, the extraction of the metal complex is usually very efficient due to the high contact surface area, and thus high mass transfer efficiency. After centrifugation and separation, the remaining organic phase (typically in the microlitre range) is analysed by conventional techniques. DLLME has been successfully applied to many different matrices.^{20,21}

In particular for water samples, DLLME combined with ETAAS has been successfully used for the preconcentration and determination of ultra-trace levels of metals.^{22–24} The coupling of DLLME with AAS has been reviewed recently.²⁵ In the case of molybdenum however, only three reports were found on the use of DLLME-ETAAS for the analysis of water samples. In these papers sodium diethyldithiocarbamate (DDTC),²⁶ ammonium pyrrolidinedithiocarbamate (APDC)²⁷ and quinalizarin (QA)²⁸ were used as chelating agents. Thus further exploration of this useful combination of preconcentration/extraction and measurement techniques seems necessary.

Potassium ethyl xanthate (PEX) is a substance that has been studied in the past as a ligand for several metals. The molybdenum complex with this ligand is known to be formed in a very acidic medium (pH lower than 2.5) only by Mo(v), although the same complex can be formed starting from Mo(vi). In the latter reaction, PEX has been reported to act both as a reducing agent and as a ligand.²⁹ The ethyl xanthate–molybdenum complex is soluble in ethanol, carbon tetrachloride, chloroform and 1-pentanol,³⁰ allowing its possible extraction in one of these solvents. In fact, the determination of molybdenum has been carried out by extraction of the Mo(v) ethyl xanthate complex in chloroform followed by reaction with thiocyanate and measurement by visible absorption spectrometry.³⁰ So far

however, the use of this reagent has not been reported in connection with DLLME.

In this work, we present the development of a novel method for the determination of molybdenum in groundwater samples based on the use of DLLME using PEX as a ligand, combined with ETAAS. The results obtained are critically compared to those of previous reports.

Experimental

Reagents

All chemicals were of analytical reagent grade. Solutions were prepared using ASTM type I water obtained from a Millipore Direct-Q5 system. The molybdenum standard (1000 mg L^{-1}) was prepared from $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Baker). This stock solution was used to prepare daily working standards by dilution with purified water. Ethyl xanthate solutions were prepared by dissolving appropriate amounts of potassium ethyl xanthate (Sigma-Aldrich) in water. Acetone (Dorwill), acetonitrile (Merck) and methanol (Merck) were employed as dispersive solvents, whereas carbon tetrachloride (Merck) and chloroform (Merck) were used as extraction solvents. The acidity of the samples and working solutions was adjusted with 1 mol L^{-1} HCl.

All labware and sampling vessels were previously decontaminated overnight with 10% (v/v) HNO_3 and rinsed thoroughly with purified water.

Samples

Shallow groundwater samples were obtained from wells situated in the southwest region of Uruguay, where samples with measurable levels of Mo were found in the past.

Samples were collected in 500 mL polyethylene bottles pre-dosed with 1.5 mL of 50% (v/v) HNO_3 and stored at 4 °C until analysis.

Instrumentation

In order to attain a partial mechanisation of the extraction process, the ternary mixture (ligand solution and dispersive and extraction solvents) was injected with a syringe pump (Tecan Cavro XP 3000) fitted with a 5 mL syringe and controlled from a notebook *via* the RS-232 serial port and terminal software.

The phase separation process was carried out using a centrifuge (Luguimac LC-15).

All determinations were performed at 313.3 nm on a graphite-furnace atomic absorption spectrometer with Zeeman background correction (Thermo Scientific iCE-3500). A Mo hollow cathode lamp (Photron) operated at 7.0 mA was used as the radiation source. Pyrolytically coated graphite tubes were used in all measurements. The sample (20 μL) was injected manually. In order to avoid contact of the liquid with the metallic needle, the injection was carried out by means of a 100 μL syringe with a short piece of 0.5 mm ID polyethylene tubing tightly fitted to the needle.

The peak area was used as the analytical response. The conditions for ETAAS measurements are summarized in Table 1.

Table 1 Temperature program of ETAAS for Mo determination

Step	Temperature (°C)	Ramp (°C s ⁻¹)	Hold (s)	Ar flow (L min ⁻¹)
Drying	70	10	15	0.2
Drying	100	15	15	0.2
Pyrolysis	1200	100	10	0.2
Atomisation	2750	—	5	0.0
Tube cleaning	2850	—	2	0.2

Determinations by the reference ICP-MS method were carried out on a Perkin-Elmer SCIEX (Thornhill, Canada) ELAN DRC-e spectrometer, fitted with a HF-resistant sample introduction system. High purity argon (99.996%) was used as a plasma support gas.

The operating conditions are listed in Table 2.

General procedure

6 mL of sample or standard and 1000 μL of 1 mol L⁻¹ HCl were added into a 15 mL conical-bottom test tube. A ternary mixture containing 150 μL of 0.30 mol L⁻¹ PEX (chelating agent), 50 μL of carbon tetrachloride (extraction solvent) and 1 mL of acetonitrile (dispersive solvent) was rapidly injected with a syringe pump (flow rate = 2.6 mL s⁻¹).

A cloudy mixture was immediately formed and the ethyl xanthate–molybdenum complex was extracted into fine droplets of carbon tetrachloride. After that, the mixture was centrifuged at 3000 rpm for 3 min. Most of the aqueous phase layer was separated with a pipette and finally, 20 μL of the organic phase was manually injected into the graphite tube. DLLME-ETAAS determinations were carried out in triplicate. Blank determinations were also carried out in triplicate.

Results and discussion

Optimisation

In order to optimise the process, the following variables were considered: acidity of the test solution (*i.e.* volume of the added HCl solution), PEX concentration, and the nature and volume of the dispersive and extraction solvents. Three separate experiments were devised; all employing a 0.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ molybdenum solution, and the peak area was kept as the analytical response.

Table 2 ICP-MS operating conditions

Sample flow rate ($\mu\text{L min}^{-1}$)	400
RF power (W)	1100
Nebuliser gas flow rate (mL min^{-1})	0.95
Interface	Ni cones (sampler and skimmer)
Standard mode	⁹⁸ Mo
Scan mode	Peak hopping
Dwell time (ms)	50 in standard mode
Number of repetitions	3
Detector mode	Dual

In separate experiments, the effect of the injection speed (flow rate) and centrifugation time was also investigated.

Acetone, acetonitrile and methanol were tested as dispersive solvents and carbon tetrachloride and chloroform as extraction solvents. For this purpose the response was recorded for each solvent combination. Fig. 1 shows the results obtained.

Regarding dispersive solvents, sensitivity follows the order acetonitrile > acetone > methanol for all the employed extraction solvents. In the case of methanol, the cloudiness after injection was barely noticeable and a very small volume of the organic phase was recovered, in line with the poor performance of this solvent. On the other hand, sensitivity was higher when carbon tetrachloride was used as a solvent for extraction, whichever the dispersive solvent used. In summary, the best results were obtained with carbon tetrachloride as the extraction solvent and acetonitrile as the dispersive solvent.

Both the acidity of the sample solution and the employed excess of the complexing agent are very important for optimal complex formation.²⁹ A nine-point, three-level central composite experimental design was used to study these variables in the molybdenum extraction procedure. To acidify the mixture, HCl solution (1 mol L⁻¹) was used. The tested HCl volumes ranged from 50 to 2000 μL . Additionally, PEX concentrations between 0.16 and 0.44 mol L⁻¹ were tested.

Three repetitions were performed for each of the following condition sets: 6 mL of 0.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ Mo test solution + x μL 1 mol L⁻¹ HCl + 150 μL PEX y mol L⁻¹ + 50 μL CCl₄ + 1 mL CH₃CN, where x and y stand for the volume of HCl solution and the concentration of PEX respectively.

The results are shown in Fig. 2.

The highest sensitivity was obtained with 0.3 mol L⁻¹ PEX and 1000 μL of 1 mol L⁻¹ HCl. Increasing the volume of HCl beyond 1000 μL did not show a significant improvement in sensitivity.

Tests were also performed with varying volumes of carbon tetrachloride while keeping the rest of the conditions constant. When 30 or 40 μL of carbon tetrachloride were used, a very small volume of the organic phase was recovered after centrifugation, hindering the injection into the graphite furnace. When 50 μL were added, the recovered organic phase was enough to allow injection. On the other hand, volumes such as 60 or 70 μL showed a signal loss possibly due to excessive

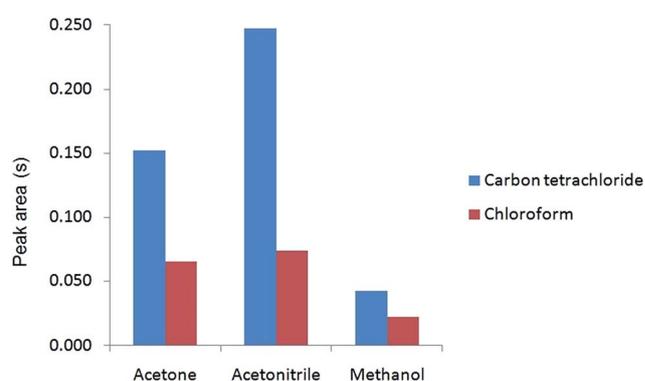


Fig. 1 Influence of dispersive and extraction solvents on the response.

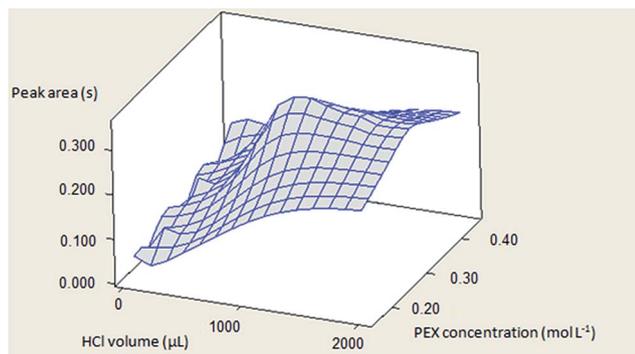


Fig. 2 Influence of the HCl volume and PEX concentration on the analytical response.

dilution. Based on these results, carbon tetrachloride volume was set to 50 μL for all experiments.

In order to evaluate the effect of volume of the chelating agent and the dispersive solvent, a nine-point, three-level central composite design was used. The volume of the PEX solution was varied between 79 and 221 μL , while acetonitrile volume was varied between 0.5 and 1.7 mL.

Three repetitions were performed for each of the following condition sets: 6 mL of 0.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ Mo test solution + x μL 1 mol L^{-1} HCl + 150 μL PEX y mol L^{-1} + 50 μL CCl_4 + 1 mL CH_3CN , where x and y stand for the volume of the HCl solution and the concentration of PEX respectively.

The results are shown in Fig. 3. The highest sensitivity was obtained for 150 μL of PEX solution and 1 mL of acetonitrile.

Different injection speeds (measured as flow rate) in the range 1.5–2.6 mL s^{-1} were tested directly by controlling the syringe pump. The highest flow rates produced a more intense cloudiness suggesting a more efficient formation of the droplets. Flow rates higher than 2.6 mL s^{-1} could not be attained with this particular mixture because the overpressure triggered the safety device stopping the pump altogether.

Centrifugation times of 1, 2, 3, 4 and 5 min at 3000 rpm were tested. The results showed that 3 min was enough to obtain the maximum volume of the separated organic phase, and this value was chosen for all experiments.

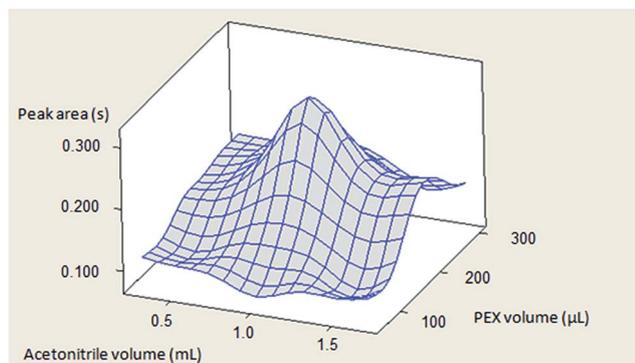


Fig. 3 Influence of the acetonitrile volume and PEX volume on the analytical response.

Other elements present in the water samples could conceivably produce multiplicative and even additive interference. The former could have originated either in the involvement of Mo in competing reactions or in reactions of PEX with other elements resulting in a decrease of the available ligand. Thus the effect of interfering ions which are usually present in natural waters needs further discussion. For example, in natural waters molybdenum anionic species interact with all +2 cations, forming detectable complexes in solution. The charge of the metal cation has a major influence on the stability constants.^{9,10} The influence of interfering cations during the determination of molybdenum using the proposed procedure was accordingly investigated. To do so, 6.00 mL of sample solution containing 0.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ of molybdenum and an interfering cation-to-molybdenum molar ratio of 1×10^4 (1×10^6 for calcium), was measured by the proposed method and the response compared to that obtained when the second element was absent. The results obtained are summarized in Table 3.

The results show the quantitative recovery of molybdenum in the presence of the selected cations: Ca, Pb and Cd. These ions were selected in order to have the most abundant cations (alkaline earth metal ions) and those forming the most stable associations with molybdenum ions (Pb and Cd).¹⁰ In the case of calcium, a higher excess was used due to the natural higher abundance of this cation. Notwithstanding, no interference was observed. To rationalize this, a species distribution diagram was produced

Table 3 Effect of potentially interfering ions on the determination of molybdenum

Ion	Ion/Mo molar ratio	Recovery (%)
Ca	1×10^6	96
Pb	1×10^4	94
Cd	1×10^4	102
As(III)	1×10^4	76
As(V)	1×10^4	98
W(VI)	1×10^4	101

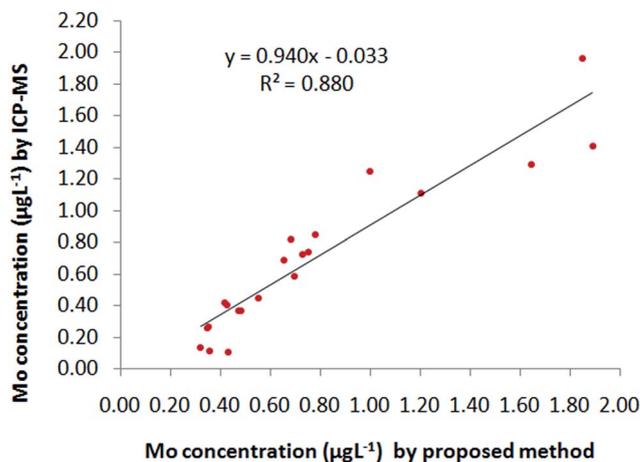


Fig. 4 Regression line between the results obtained by ICP-MS and by the proposed method.

Table 4 Recovery of the fortified samples. Values between parentheses are standard deviations for three replicate analyses

Sample	Added ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Found ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recovery (%)
1	0.000	0.350 (0.041)	98.5
	0.384	0.723 (0.012)	
2	0.000	0.319 (0.010)	99
	0.384	0.699 (0.016)	
3	0.000	0.287 (0.015)	103.5
	0.510	0.825 (0.0030)	

Table 5 Analytical figures of merit of the method

Limit of detection ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0.017
Limit of quantification ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0.062
Linear range ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0.06–1.1
Repeatability as s_r (%) ($n = 10$, $C = 0.1 \mu\text{g L}^{-1}$)	2.98
Recovery of spiked samples (%)	98.5–103.5
Enrichment factor	165

using the HySS software³¹ and the previously reported thermodynamic values¹⁰ (more information can be found in the ESI†).

On the other hand, the anion forming element arsenic, both as As(III) or As(V), has been reported to form relatively stable complexes with PEX.³⁰ Thus, some experiments were also carried out including this element. W(VI) was also included due to its great chemical similarity with Mo(VI).^{9,30} The results (Table 2) show that only As(III) has an influence on the recovery of molybdenum when it is present in a very high excess. Therefore the total arsenic concentrations normally encountered in natural uncontaminated waters are not expected to influence the measurements significantly. Neither As(V) nor W(VI) interacts with the measurements even when present in a high excess.

The high concentration of the complexing agent PEX used in the proposed method ensures the complete complexation of molybdenum and of the other ions present. Due to the selective determination of molybdenum by ETAAS, these complexing reactions should not result in additive interference.

Validation of the method

After the optimisation, the method was validated and the following figures of merit were estimated: detection and quantification limits, linear range, precision and trueness. The enrichment factor (EF) (calculated as the ratio of the slope of the calibration curve of the proposed method and that of the direct determination by ETAAS) was also determined.

The limit of detection was calculated to be $3s_b/b$, where s_b is the standard deviation of 10 determinations of the reagent blank, and b is the slope of the calibration curve. Analogously, the limit of quantification was determined to be $10s_b/b$. Precision was evaluated from the relative standard deviation of 10 measurements corresponding to a solution of $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ of molybdenum.

Linearity was assessed by measuring eight Mo standard solutions in the range $0\text{--}2 \mu\text{g L}^{-1}$ and evaluating linearity both visually and by means of the values of the R^2 determination coefficients. A linear response was observed up to $1.1 \mu\text{g L}^{-1}$.

To evaluate trueness, 20 samples were analysed by the proposed method as well as by the APHA reference method based on ICP-MS.³² The results obtained by the two methods were compared by means of linear regression.

Fig. 4 shows the regression line obtained. The proposed method was plotted on the x -axis because it was found to be the most precise.

The equivalence of the results obtained by the two methods was verified by statistically testing the hypothesis that the regression line had a slope equal to 1 and an intercept equal to zero.

For this purpose, the hypothesis test of the joint confidence region for slope and intercept³³ was applied. This allows the simultaneous testing of both slope and intercept taking into account the interaction existing between these parameters (more on this test can be found in the ESI†).

For a significance level $\alpha = 0.05$, the value of F determined with the experimental data (F_{exp}) was 2.45, lower than the critical value $F_{(0.05,2,18)} = 3.55$. Thus there is no reason to reject the hypothesis that the values of the regression parameters (slope and intercept) are within the confidence ellipse, and the results obtained by the methods can be considered equivalent.

Table 6 Figure of merit of methods for the determination of molybdenum in water samples. SPE: solid phase extraction; ICP-AES: inductively coupled plasma atomic emission spectrometry; SP: spectrophotometry

Method	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	EF	Sample volume (mL)	Other features	s_r (%)	Ref.
SPE-ETAAS	0.08	10	10	—	2.80 for $2 \mu\text{g L}^{-1}$, $n = 10$	34
SPE-ICP-AES	0.75	100	1000	—	2.21 for $50 \mu\text{g L}^{-1}$	16
CPE-UV-VIS SP	0.10	20	—	—	1.10 for $65 \mu\text{g L}^{-1}$, $n = 5$	17
Anodic adsorptive stripping voltammetry	0.01	—	10	—	—	35
DLLME-ETAAS	0.007	362	12.0	Manual injection and mixing	4.60 for $0.2 \mu\text{g L}^{-1}$, $n = 10$	26
DLLME-ETAAS	0.013	75	5.0	Manual injection	0.80 for unknown concentration, $n = 6$	27
DLLME-ETAAS	0.020	200	10.0	Manual injection	2.90 for $4 \mu\text{g L}^{-1}$, $n = 8$	28
DLLME-ETAAS	0.017	165	6.0	Mechanised injection	2.98 for $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$, $n = 10$	This work

Recovery assays

To test the applicability of the proposed method a spike-recovery assay was carried out on three randomly chosen groundwater samples. The samples were fortified with different amounts of Mo, analysed, and recoveries calculated. It can be seen in Table 4 that the recoveries of the spiked samples were close to 100%, hence no multiplicative interference was detected.

Analytical figures of merit of the method are summarized in Table 5.

Table 6 shows a comparison of some figures of merit of this method and others reported for the determination of molybdenum in water samples.

Considering the methodologies that involve preconcentration, those based on DLLME-ETAAS are those presenting the lowest detection limits. The voltammetric determination is very sensitive, and is the only one presenting limits of detection comparable to DLLME-ETAAS.

The results obtained in this work compare favourably to those obtained by other DLLME-ETAAS methods reported for the determination of molybdenum in water, exhibiting a high enrichment factor and a high repeatability for very low concentrations. It is worth mentioning that for the proposed method, the necessary sample volume is low, manual mixing is not necessary and the mechanised injection notably diminishes the duration of the analysis.

Conclusions

In this work, a new and effective method for the determination of molybdenum in groundwater by DLLME-ETAAS using PEX as a chelating agent, carbon tetrachloride as an extraction solvent and acetonitrile as a dispersant solvent was developed.

The method is simple, rapid, and environmentally friendly, and can be carried out with less expensive equipment than ICP-MS. The mechanical injection of the mixture of solvents and the chelating agent greatly accelerated the process of extraction and improved the repeatability. As the cloudiness is formed instantaneously, additional mixing (either manual or vortex) is not required. Reagent consumption is also very low due to the small volumes handled, thus very little waste is generated.

The new method has a high enrichment factor and very low limits of detection and quantification. The combination of DLLME-ETAAS using PEX as the ligand, proved to be a good alternative for the determination of trace molybdenum concentrations in groundwater samples, even at sub-microgram-per-litre levels, showing comparable results to those obtained by ICP-MS.

Acknowledgements

The authors thank the Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) and the Comisión Sectorial de Investigación Científica (UdelaR-CSIC) for grants, and the Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA-Química) for financial support.

References

- 1 F. A. Cotton, G. Wilkinson, C. A. Murillo and M. Bochman, *Inorganic Chemistry*, Wiley, New York, 6th edn, 1999.
- 2 *Essentials of Medical Geology*, ed. O. Selinus, Elsevier, Amsterdam, 2005.
- 3 A. Kabata-Pendias and A. B. Mukherjee, *Trace Elements from Soil to Human*, Springer-Verlag, Berlin, 2007.
- 4 R. R. Mendel and F. Bittner, Cell biology of molybdenum, *Biochim. Biophys. Acta*, 2006, **1763**, 621–635.
- 5 A. Vyskočil and C. Viau, Assessment of molybdenum toxicity in humans, *J. Appl. Toxicol.*, 1999, **19**, 185–192.
- 6 *Heavy Metals in Soils. Trace Metals and Metalloids in Soils and Their Bioavailability*, ed. B. J. Alloway, Springer, Dordrecht, 3rd edn, 2010.
- 7 H. E. Stokinger, in *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology*, ed. F. A. Patty, Wiley, New York, 3d edn, 1981, ch. 29.
- 8 R. N. McNeely, V. P. Neimanis and L. Dwyer, Molybdenum, in *Water Quality Sourcebook: a Guide to Water Quality Parameters*, ed. R. N. McNeely, Inland Waters Directorate, Ottawa, 1979.
- 9 J. Torres, L. Gonzatto, G. Peinado, C. Kremer and E. Kremer, Interaction of Molybdenum(vi) Oxyanions with +2 Metal Cations, *J. Solution Chem.*, 2014, **43**, 1687–1700.
- 10 J. Torres, F. Tissot, C. Ferrari, P. Santos, C. Kremer and E. Kremer, Interactions of W(vi) and Mo(vi) Oxyanions with Metal Cations in Natural Waters, *J. Solution Chem.*, 2016, **45**, 1598–1611.
- 11 K. Pyrzynska, Determination of molybdenum in environmental samples, *Anal. Chim. Acta*, 2007, **590**, 40–48.
- 12 I. Bodek, W. J. Lyman, W. F. Reehl and D. H. Rosenblatt, *Environmental Inorganic Chemistry*, Pergamon Press, New York, 1988.
- 13 *Treatise on Geochemistry*, ed. H. D. Holland and K. K. Turekian, Elsevier-Pergamon, Oxford, 2nd edn, 2003, vol. 5.
- 14 A. R. Ghiasvand, S. Shadabi, E. Mohagheghzadeh and P. Hashemi, Homogeneous liquid-liquid extraction method for the selective separation and preconcentration of ultra trace molybdenum, *Talanta*, 2005, **66**, 912–916.
- 15 H. C. Dos Santos, M. G. A. Korn and S. L. C. Ferreira, Enrichment and determination of molybdenum in geological samples and seawater by ICP-AES using calmagite and activated carbon, *Anal. Chim. Acta*, 2011, **426**, 79–84.
- 16 P. Nomngongo, J. Ngila, J. Kamau, T. Msagati and B. Moodley, Preconcentration of molybdenum, antimony and vanadium in gasoline samples using Dowex 1-X8 resin and their determination with inductively coupled plasma-optical emission spectrometry, *Talanta*, 2013, **110**, 153–159.
- 17 T. Madrakian and F. Ghazizadeh, Cloud-point preconcentration and spectrophotometric determination of trace amounts of molybdenum(vi) in steels and water samples, *J. Hazard. Mater.*, 2008, **153**, 695–700.
- 18 M. Rezaee, Y. Assadi, M.-R. M. Hosseini, E. Aghae, F. Ahmadi and S. Berijani, Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction, *J. Chromatogr. A*, 2006, **1116**, 1–9.

- 19 J. Škrlíková, V. Andruch, J. Balogh, L. Kocúrová, L. Nagy and Y. Bazelí, A novel, environmentally friendly dispersive liquid–liquid microextraction procedure for the determination of copper, *Microchem. J.*, 2011, **99**, 40–45.
- 20 D. Han and K. H. Row, Trends in liquid-phase microextraction, and its application to environmental and biological samples, *Microchim. Acta*, 2012, **176**, 1–22.
- 21 M. S. El-Shahawi and H. M. Al-Saidi, Dispersive liquid-liquid microextraction for chemical speciation and determination of ultra-trace concentrations of metal ions, *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2013, **44**, 12–24.
- 22 M. Shamsipur and M. Ramezani, Selective determination of ultra trace amounts of gold by graphite furnace atomic absorption spectrometry after dispersive liquid–liquid microextraction, *Talanta*, 2008, **75**, 294–300.
- 23 M. Shamsipur, M. Ramezani and M. Sadeghi, Preconcentration and determination of ultra trace amounts of palladium in water samples by dispersive liquid–liquid microextraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Microchim. Acta*, 2009, **166**, 235–242.
- 24 R. E. Rivas, I. López-García and M. Hernández-Córdoba, Determination of traces of lead and cadmium using dispersive liquid–liquid microextraction followed by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Microchim. Acta*, 2009, **166**, 355–361.
- 25 V. Andruch, I. S. Balogh, L. Kocúrová and J. Šandrejová, The present state of coupling of dispersive liquid–liquid microextraction with atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2013, **28**, 19–32.
- 26 M. Shamsipur and S. Habibollahi, A highly sensitive procedure for determination of ultra trace amounts of molybdenum by graphite furnace atomic absorption spectrometry after dispersive liquid-liquid microextraction, *Microchim. Acta*, 2010, **171**, 267–273.
- 27 E. Dos Santos Silva and V. Azevedo Lemos, Sensitive determination of trace molybdenum in natural waters using dispersive liquid–liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Anal. Methods*, 2013, **5**, 2098–2103.
- 28 A. Mansouri, D. Afzali and F. Ganjavi, Dispersive liquid–liquid of trace amounts of molybdenum prior to electrothermal atomic absorption spectrometry determination, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 2014, **94**, 247–254.
- 29 H. A. Flaschka and A. J. Barnard Jr, Chelates in Analytical Chemistry, *A Collection of Monographs*, Marcel Dekker, New York, 1967, vol. 1.
- 30 E. Donaldson, Chloroform extraction of metal ethyl xanthates from hydrochloric acid media, *Talanta*, 1976, **23**, 411–416.
- 31 L. Alderighi, P. Gans, A. Ienco, D. Peters, A. Sabatini and A. Vacca, Hyperquad simulation and speciation (HySS): a utility program for the investigation of equilibria involving soluble and partially soluble species, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, **184**, 311–318.
- 32 *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, ed. E. W. Rice, R. B. Baird, A. D. Eaton and L. S. Clesceri, American Public Health Association, Washington DC, 22nd edn, 2012, pp. 3–46.
- 33 J. Mandel and F. J. Linnig, Study of Accuracy in Chemical Analysis Using Linear Calibration Curves, *Anal. Chem.*, 1957, **29**, 743–749.
- 34 S. L. C. Ferreira, H. C. Dos Santos and R. C. Campos, The determination of molybdenum in water and biological samples by graphite furnace atomic spectrometry after polyurethane foam column separation and preconcentration, *Talanta*, 2003, **61**, 789–795.
- 35 P.-H. Deng, J.-J. Fei and Y.-L. Feng, Trace determination of molybdenum by anodic adsorptive stripping voltammetry using a multi-walled carbon nanotubes modified carbon paste electrode, *Sens. Actuators, B*, 2010, **148**, 214–220.

Interactions of W(VI) and Mo(VI) Oxyanions with Metal Cations in Natural Waters

Julia Torres¹ · Florencia Tissot² · Patricia Santos¹ ·
Carolina Ferrari¹ · Carlos Kremer¹ · Eduardo Kremer¹

Received: 17 November 2015 / Accepted: 1 September 2016
© Springer Science+Business Media New York 2016

Abstract The association of tungsten(VI) and molybdenum(VI) oxyanions with metal cations was investigated under conditions simulating those prevailing in most natural waters. Potentiometric titrations were carried out for the systems containing tungsten(VI) or molybdenum(VI) anions and metal cations. The selection includes the major metal cations and some other ions of high environmental relevance. At neutral and basic pH values, in the presence of the most abundant metal cations, ionic pair species such as $[\text{Ca}(\text{WO}_4)]$ or $[\text{Ca}(\text{MoO}_4)]$ are formed to high extents. For the acidic pH range, poly-oxoanion associations with cations are also found but are only relevant for tungsten(VI) in the conditions of the natural aquatic systems. The present results provide the basis for studying W(VI) and Mo(VI) speciation in natural aquatic systems, on which the environmental fate, bioavailability and toxicity of the elements depend.

Keywords Tungstate · Molybdate · Chemical speciation · Metal cations · Potentiometry

1 Introduction

Tungsten and molybdenum are chemically related trace elements whose role in biological systems and relevance in the environment has only been recently pointed out. The exerted effects on the biological and environmental systems go from beneficial to moderately toxic

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:[10.1007/s10953-016-0522-6](https://doi.org/10.1007/s10953-016-0522-6)) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Eduardo Kremer
ekremer@fq.edu.uy

¹ Cátedra de Química Inorgánica, Departamento Estrella Campos, Facultad de Química, Universidad de la República, CC 1157, Montevideo, Uruguay

² Cátedra de Química Analítica, Departamento Estrella Campos, Facultad de Química, Universidad de la República, CC 1157, Montevideo, Uruguay

[1–5]. Both elements are taken up from the soil by many plants, as the anionic form $\text{WO}_4^{2-}/\text{MoO}_4^{2-}$ showing an effect of mutual exclusion [1, 6]. The toxicological studies remain rather scarce and fragmentary, and very little information linking their speciation and environmental effects is available nowadays [1, 3, 5, 7–9].

The earth's crust contains median concentrations of tungsten and molybdenum in the range 1–2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [1, 10, 11], but much higher values have been reported and attributed to anthropogenic practices [12–14]. These elements enter the aquatic systems via multiple natural routes such as weathering of rocks and soils, volcanic and hydrothermal activity and biological processes. In natural waters, trace amounts are present. Tungsten shows in general lower median values (0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of W/10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of Mo in seawater; 0.03 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of W/0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of Mo in fresh water [10]). Besides, higher levels of some orders of magnitude over the background have been found locally in some aquatic scenarios, due to either natural or anthropogenic sources [1, 12, 13, 15–18].

Both tungsten and molybdenum show varied and complex chemical behavior in aqueous solution, mostly governed by the +6 oxidation state. They form many water soluble anionic species and show numerous interactions with other anions, including some slightly soluble salts. Besides, the interaction with many solid phases has also been reported [1, 15, 19–29]. In natural surface waters, they predominantly form the soluble anions $\text{WO}_4^{2-}/\text{MoO}_4^{2-}$. Protonated monomeric species, polyanions and associations with inorganic colloids have also been reported by many experimental methods [1, 15, 19–42].

The most relevant tungsten species obtained by acidification are: $\text{H}_2\text{W}_6\text{O}_{22}^{6-}$ and some protonated forms such as $\text{H}_3\text{W}_6\text{O}_{22}^{5-}$, the heptatungstate $\text{W}_7\text{O}_{24}^{6-}$, and its protonated form, $\text{HW}_7\text{O}_{24}^{5-}$, and various dodecatungstates: $\text{H}_2\text{W}_{12}\text{O}_{42}^{10-}$, $\text{H}_2\text{W}_{12}\text{O}_{40}^{6-}$ etc. Some authors also detected, under some restricted conditions, the decatungstate ion, $\text{W}_{10}\text{O}_{32}^{4-}$. All these equilibria have been studied in detail, even though the correct formulae for some of these species is still under discussion [1, 19, 20, 26, 31–38]. Accordingly, the acidification of a tungstate solution causes polymerization leading to hexa, hepta and/or dodecameric polyanions. On the other hand, when these same equilibria are reversed and the polyanions are converted to the monomeric form, WO_4^{2-} , as pH is raised, some slow processes involving depolymerization are known to occur [1, 31, 32].

The most relevant isopolymerates formed by molybdenum(VI) are $\text{Mo}_7\text{O}_{24}^{6-}$ and its protonated form $\text{HMo}_7\text{O}_{24}^{5-}$ (both analogous to the heptatungstate ions), and $\text{Mo}_8\text{O}_{26}^{4-}$. These species have also been studied by various methods [19, 20, 22, 24, 26, 27, 42].

In the aquatic natural scenarios both monomeric and polymeric anions can be present in a complex set of simultaneous equilibria which are further influenced by the presence of other species present in solution, pH and total concentration of the elements. Associations in aqueous solution of these anions are of special interest regarding the mobility and fate of tungsten and molybdenum in the environment. Among them, those involving the interaction of tungsten anions with protonated particulate matter or with metal cations are of special relevance. Indeed, previous studies show that below pH 5–6 the mobility of the element is strongly influenced by the presence of small particulate inorganic matter as suspended iron or manganese oxides [1, 15, 21, 40, 41]. On the other hand, for higher pH values, both elements can interact with metal cations. Although some solubility values of metal tungstates and molybdates are known [19, 20], very scarce information is available regarding the solution interaction of these anions towards different cations, especially those present in relatively high concentrations in the natural systems. This can hinder the estimation and prediction of the biological or environmental behavior of these elements.

With this in mind, in this work we have studied the interaction of tungsten(VI) and molybdenum(VI) anions with metal cations under experimental conditions that simulate surface waters or shallow groundwaters, where the anionic elements are known to be present. Temperature was set to 20.0 °C and 0.1 mol·L⁻¹ KNO₃ used as supporting electrolyte. The influence of ionic strength on speciation was also evaluated in order to have a complete understanding of the chemical model. The study was focused on the most abundant cations excluding the alkali metal ions, for which previous studies have proved a negligible interaction even for very high cation concentration values [36, 42]. New data on the chemical behavior of Mo(VI) solution equilibria under identical conditions to those employed for W(VI) are comparatively discussed, expanding our recent previous work [42].

The obtained results provide the chemical information needed to model the environmental behavior of tungsten and molybdenum in these aquatic scenarios.

2 Experimental

2.1 Chemicals

W(VI) solutions were prepared from Na₂WO₄·2H₂O (Merck) and Mo(VI) solutions were prepared from Na₂MoO₄·H₂O (Merck). Solutions of the metal ions were prepared from salts purchased from the following commercial sources: MgCl₂·6H₂O from Sigma Aldrich, CaCl₂·2H₂O from Sigma Aldrich, SrCl₂ from Aldrich, BaCl₂ from Aldrich, MnCl₂·4H₂O from Merck, (NH₄)₂Fe(SO₄)₂·6H₂O from Sigma Aldrich, FeCl₃·6H₂O from Fluka, CoCl₂·6H₂O from Carlo Erba, NiCl₂·6H₂O from Merck, CuCl₂·2H₂O from Baker, ZnCl₂ from Sigma Aldrich, CdCl₂ from Carlo Erba and Pb(NO₃)₂ from Sigma Aldrich. The standard HCl and NaOH solutions were prepared by diluting Merck standard ampoules and standardized against sodium carbonate and potassium hydrogen phthalate, respectively. All the solutions were prepared with analytical grade water (18 MΩ·cm⁻¹) and were freed of carbon dioxide by Ar bubbling. The acid stock solutions of the metal cations were standardized according to standard techniques.

2.2 Potentiometric Titrations

The protonation constants of WO₄²⁻ were determined through five potentiometric titrations (ca. 150–200 experimental points each), in the concentration range 0.8–8.0 mmol·L⁻¹. On the other hand, four potentiometric titrations of MoO₄²⁻ (ca. 100–150 experimental points each) were carried out in the concentration range 0.8–4.0 mmol·L⁻¹. For both systems, protonation studies were also carried out for different ionic strength values in the interval 0.010–0.500 mol·L⁻¹. The experimental protonation constants were converted to the molal scale by using the appropriate density values and extrapolated to zero ionic strength using the SIT model. The corresponding equations are summarized in the [Appendix](#).

Then, the behavior of WO₄²⁻ in the presence of M(II) (M = Mg, Ca, Sr, Ba, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd and Pb) was analyzed through at least three potentiometric titrations (ca. 100–150 experimental points each) for each system, at metal cation concentrations ranging from 0.1 to 1.0 mmol·L⁻¹, and tungsten(VI) to metal cation total molar ratios varying from 4:1 to 1:1. Analogously, MoO₄²⁻ was titrated in the presence of M(II) (M = Mg, Ca, Fe, Cu, Zn and Cd) through at least four potentiometric titrations (ca. 100–150 experimental

points each) for each system, at metal cation concentrations ranging from 0.2 to 1 mmol·L⁻¹, and molybdenum(VI) to metal cation total molar ratios varying from 4:1 to 1:2.

In all cases, pH intervals from 2.0 to 10 were covered for those systems where no solid formation was observed during the titrations (e.g., for the protonation studies or in the presence of the alkaline earth metal ions). The pH interval was reduced from 2.0 to above pH 6 for W(VI) or 5 for Mo(VI) containing systems, where the formation of a solid was observed, presumably the precipitation of tungstate or molybdate salts. No solubility data under the same experimental conditions are available to compare [19]. For those systems, where precipitation was observed during the titrations, some additional experiments were carried out at lower total concentrations (ca. 0.1 mmol·L⁻¹). Under these lower concentration conditions, precipitation still occurred but a more extended pH interval was covered. Further lowering the total concentration failed to give us improved results, due to the higher associated experimental errors. The interaction of WO₄²⁻ or MoO₄²⁻ with Fe(III) was studied in a similar way. In these two systems, the potentiometric titrations were carried out until the formation of a solid was observed, due to the hydrolysis of the metal cation. The formation constants of soluble hydroxo species of iron(III) were also determined in this work under the same conditions by titrating the metal cation solution. The values for these hydrolysis constants were taken into account in the calculation input of the formation constants of tungsten(VI) or molybdenum(VI) containing species. For the other metal cations, hydrolysis reactions were not expected to be relevant in the studied pH interval. In fact, if previously reported hydrolysis constants under similar conditions [19] are included in the calculations, the same results are obtained.

In each potentiometric experiment, the solutions were poured into a 50 mL titration cell. After thermal equilibrium was reached, hydrogen ion concentrations were determined by successive readings, each performed after a small incremental addition of standard 0.1 mol·L⁻¹ titrant solution. In most cases, acidic solutions were titrated with NaOH stock solution. But, for some systems, equilibrium attainment was not possible due to kinetic problems when reaching these equilibria by adding a base, as previously reported [1, 31, 32, 42]. So, in these cases (some protonation studies and alkaline earth containing systems), the titrations were reversed and basic solutions were titrated with HCl stock solution. Even though some authors have reported, at 25 °C and 1 mol·L⁻¹ ionic strength, that additional slow unknown reactions could also occur in the case of W(VI) when using HCl as titrant [30], we did not observe such behavior during our experimental runs. Typical mixing times before pH measurements were always lower than 1 min. Higher mixing times were also assayed, but the results remained unchanged in all cases.

The titrant addition and e.m.f. measurements were carried out using an automatic titrator Mettler–Toledo DL50–Graphix. The ionic strength was kept almost constant throughout the titrations by using solutions containing KNO₃ and relatively low initial concentrations of W(VI) or Mo(VI) and metal cations (the sum of the reactants initial concentrations did not contribute more than 1–6 % of the total ionic strength). Pre-saturated argon (free of CO₂) was bubbled through the solutions during titrations to eliminate the effect of atmospheric carbon dioxide, and the temperature was kept at 20.0 (±0.1) °C. Equilibrium attainment, after each titrant addition, was verified by controlling the deviation of successive e.m.f. readings and performing back titrations. Independent stock solutions were used in some selected titrations to check reproducibility. The cell electrode potential E° , and the acidic junction potential were determined according to [43] from independent titrations of the strong acid with the titrant solution. In this way, the pH scale was the free

concentration scale. The calibration in the alkaline range was checked by recalculating K_w values for each system. The values obtained (for example, for $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KNO}_3$ average $\log_{10} K_w = 13.96$) were always checked to assure they were in line with previously reported data under the same experimental conditions [19, 20]. Data were analyzed using the HYPERQUAD program [44], and species distribution diagrams were produced using the HySS program [45]. The fit of the values predicted by the model to the experimental data was estimated on the basis of the σ parameter, corresponding to the scaled sum of square differences between predicted and experimental values. Many other possible stoichiometries were tried for each system, and final models were selected on the basis of the σ parameter, the model confidence level estimator, Chi square, and the internal consistency of data reflected in standard deviations of the formation constants [44].

3 Results and Discussion

3.1 Protonation and Polymerization

The obtained results for the protonation equilibrium constants and polymerization reactions of tungstate and molybdate, determined at $20.0 \text{ }^\circ\text{C}$ in $0.10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KNO}_3$, are presented in Table 1. Besides, protonation equilibria were also studied at different ionic strength values in the interval $0.010\text{--}0.500 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Tables S1, S2). Detected species and their formation constants are in agreement with previously reported data, where several polyoxoanions were found in the acidic region. Individual $\log_{10} K$ values of the protonation and polymerization reactions obtained in this work are in line with those previously obtained under similar conditions [19, 22, 23, 26, 27, 30, 32, 35, 38, 42].

The protonation constants show a clear dependence on the concentration of the supporting electrolyte. The experimental results were converted to the molal scale and extrapolated to zero ionic strength using the SIT model (Tables S3, S4). The corresponding

Table 1 Logarithms of the protonation and polymerization constants of tungstate and molybdate determined in $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KNO}_3$ at $20.0 \text{ }^\circ\text{C}$

Equilibrium	$\log_{10} K$	Equilibrium	$\log_{10} K$
$\text{WO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{HWO}_4^-$	6.355(6)	$\text{MoO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{HMoO}_4^-$	4.10(5)
$2 \text{WO}_4^{2-} + 5 \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{HW}_2\text{O}_6^+$	25.13(5)	$\text{MoO}_4^{2-} + 2 \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{MoO}_4$	8.28(2)
$6 \text{WO}_4^{2-} + 6 \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{W}_6\text{O}_{22}^{6-} + 2 \text{H}_2\text{O}$	51.56(3)	$7 \text{MoO}_4^{2-} + 8 \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Mo}_7\text{O}_{24}^{6-} + 4 \text{H}_2\text{O}$	54.79(5)
$6 \text{WO}_4^{2-} + 10 \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_6\text{W}_6\text{O}_{22}^{2-} + 2 \text{H}_2\text{O}$	71.79(5)	$7 \text{MoO}_4^{2-} + 9 \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{HMo}_7\text{O}_{24}^{5-} + 4 \text{H}_2\text{O}$	59.71(5)
$7 \text{WO}_4^{2-} + 9 \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{HW}_7\text{O}_{24}^{5-} + 4 \text{H}_2\text{O}$	73.80(3)	$7 \text{MoO}_4^{2-} + 10 \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{Mo}_7\text{O}_{24}^{4-} + 4 \text{H}_2\text{O}$	64.34(5)
$7 \text{WO}_4^{2-} + 11 \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_3\text{W}_7\text{O}_{24}^{3-} + 4 \text{H}_2\text{O}$	82.09(3)	$7 \text{MoO}_4^{2-} + 11 \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_3\text{Mo}_7\text{O}_{24}^{3-} + 4 \text{H}_2\text{O}$	67.50(1)
$12 \text{WO}_4^{2-} + 18 \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{W}_{12}\text{O}_{40}^{6-} + 8 \text{H}_2\text{O}$	140.22(7)	$8 \text{MoO}_4^{2-} + 12 \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Mo}_8\text{O}_{26}^{4-} + 6 \text{H}_2\text{O}$	76.01(9)

Values given in parentheses are the 1σ statistical uncertainties in the last digit of the constant $\sigma = 0.2$ for W(VI) equilibria, $\sigma = 0.5$ for Mo(VI) equilibria

equations are summarized in Appendix. Figure 1 shows the experimental dependence for the protonation constants values with the ionic strength, as well as the theoretical behavior calculated according to SIT model. A good fit is observed. The protonation constants calculated by the SIT model at infinite dilution are also shown in Tables S3 and S4. No previous data of the same specific protonation constants at infinite dilution are available for comparison except in the case of K_1 and β_2 protonation constants of molybdate [19], for which consistent results were obtained.

3.2 Interaction of Oxoanions with Metal Cations

Table 2 shows the stability constants of tungsten(VI) anions with M(II) and Fe(III), determined for $0.10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KNO_3 ionic strength at $20.0 \text{ }^\circ\text{C}$. The obtained values indicate the polyoxometalates–cation interaction in aqueous solution. Figure 2 shows selected examples of the speciation diagrams for Ca^{2+} –W(VI) and Cu^{2+} –W(VI) systems, calculated for total $[\text{M(II)}] = \text{total} [\text{W(VI)}] = 1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Fig. 2a, b, respectively). A similar species diagram in the absence of metal cations is also shown for comparison (Fig. 2c). The predominant forms of tungsten in the presence of metal cations for acidic conditions

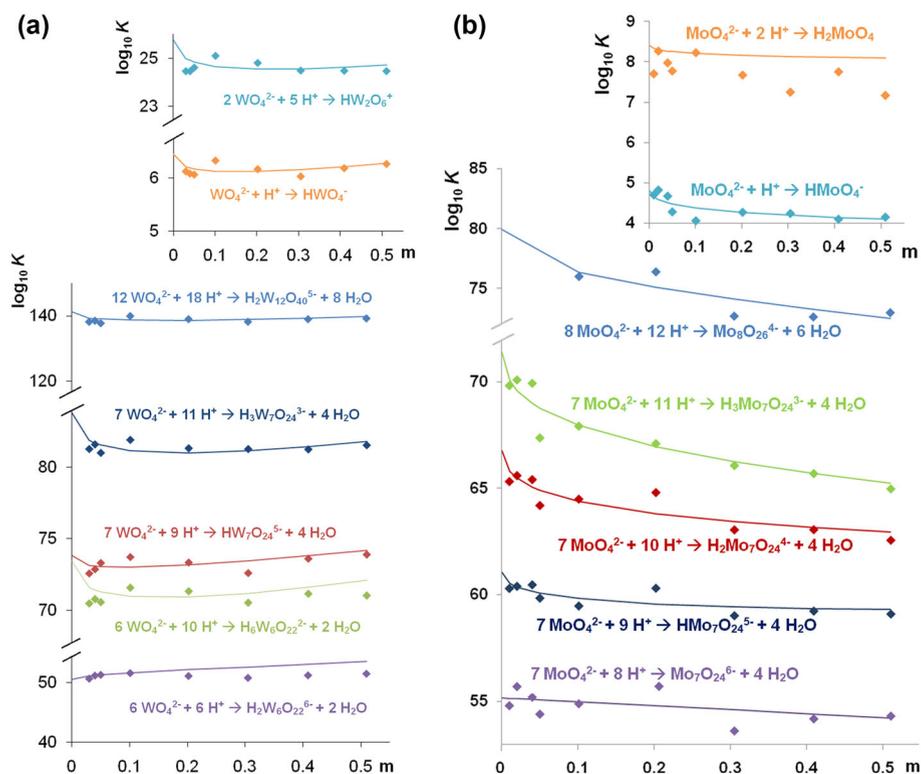


Fig. 1 Variation of the experimental measured protonation and polymerization constants under different concentrations of KNO_3 at $20.0 \text{ }^\circ\text{C}$. The continuous line represents the variation expected by the fitted SIT model: **a** W(VI), **b** Mo(VI)

Table 2 Logarithms of the formation constants of M(II)–W(VI) species in 0.1 mol·L⁻¹ KNO₃ at 20.0 °C

M(II)	[M(WO ₄)]	[M(HWO ₄) ⁺]	[M(H ₂ W ₆ O ₂₂) ⁴⁻]	[M(H ₆ W ₆ O ₂₂)]	[M(HW ₇ O ₂₄) ³⁻]	[M(H ₃ W ₇ O ₂₄) ⁻]	σ
Mg	6.06(7)	11.18(9)	67.12(9)		85.0(1)		0.3
Ca	5.57(5)	10.75(8)	65.33(4)		83.99(7)		0.3
Sr	5.86(6)	10.2(3)	65.49(5)		84.08(7)		0.2
Ba	5.01(6)	10.46(6)	62.56(3)		80.82(2)		0.7
Mn	5.51(5)	12.94(4)	60.9(2)	84.5(1)	83.1(3)	95.3(1)	0.1
Fe	5.4(1)	11.45(7)			84.8(2)	96.5(2)	0.2
Co	4.90(6)	12.54(5)	70.99(9)	96.2(2)	97.0(2)	108.6(2)	0.3
Ni	4.87(9)	12.0(1)	70.5(2)	93.3(2)	95.0(2)	106.5(2)	0.3
Cu	4.23(8)		59.9(2)	83.1(2)	81.7(2)	93.3(3)	0.5
Zn	4.8(1)	11.72(7)	59.4(3)		82.1(2)	93.9(1)	0.4
Cd	12.6(2)			91.1(2)	89.8(3)	102.1(2)	0.1
Pb	11.7(2)		70.2(3)	90.9(4)	92.7(3)	102.3(4)	0.3
Fe(III)	[M(WO ₄) ⁺]		[M(H ₂ W ₆ O ₂₂) ³⁻]			[M(H ₃ W ₇ O ₂₄)]	
	9.34(6)		70.5(2)			91.0(2)	0.2

Tabulated values are the overall formation constant of each species. Values given in parentheses are the 1σ statistical uncertainties in the last digit of the constant. For Fe(III) containing system, hydrolysis constants determined in this work under the same experimental conditions (log₁₀*K₁ = -2.74 (5); log₁₀*β₂ = -5.80 (6); log₁₀*β₃ = -8.63 (3); σ = 1.4) were included in the Hyperquad input

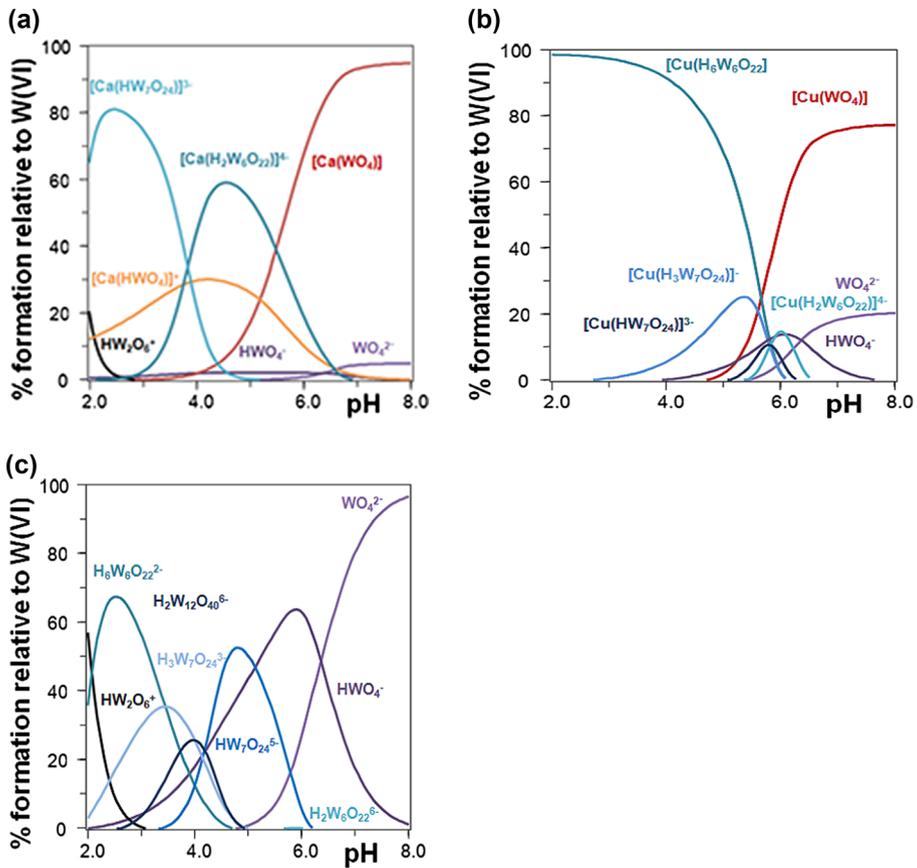


Fig. 2 Distribution species diagrams calculated from data on Table 2. **a** $[\text{Ca(II)}]_{\text{total}} = [\text{W(VI)}]_{\text{total}} = 1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. **b** $[\text{Cu(II)}]_{\text{total}} = [\text{W(VI)}]_{\text{total}} = 1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. **c** $[\text{W(VI)}]_{\text{total}} = 1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

are the monomeric species $[\text{M}(\text{HWO}_4)]^+$ and the hexa or hepta polyoxotungstate complexes, depending on the total concentration of tungsten. The neutral ionic pair species $[\text{M}(\text{WO}_4)]$ is formed in neutral or alkaline conditions, by the interaction of the negatively charged tungstate with the metal cations. Similar behavior was verified in this work under the same experimental conditions for Mo(VI) speciation (Table 3, Fig. 3), in line with previous reports [42]. Tungsten species are more stable than the corresponding forms for Mo(VI). Besides, the degree of polymerization is also higher for tungsten (see Tables 2, 3 for comparison).

The $\log_{10} K$ values obtained and the species detected for the W(VI)–Fe(III) and Mo(VI)–Fe(III) systems (Tables 2, 3) show, in general, the formation of more stable complexes, as expected from the higher charge of the cation. In spite of this, some higher stability constants of M(II) associations with tungstate reflect the fact that the interaction is not purely electrostatic. Speciation was only accurately studied in the acidic region due to precipitation in this system above pH 5.

Table 3 Logarithms of the formation constants of M(II)–Mo(VI) species in 0.1 mol·L⁻¹ KNO₃ at 20.0 °C

M(II)	[M(MoO ₄)]	[M(HMoO ₄)] ⁺	[M(MoO ₄) ₂] ²⁻	[M(Mo ₇ O ₂₄)] ⁴⁻	σ
Mg	2.51(2)			57.75(9)	1.9
Ca	2.45(2)			57.6(1)	0.2
Fe ^a		7.65(3)		59.37(9)	0.8
Cu ^a		8.17(3)		58.4(1)	0.03
Zn ^a		7.29(8)		58.29(4)	0.03
Cd ^a		6.7(2)	4.8(2)	58.52(9)	0.4
Fe(III)	[Fe(MoO ₄)] ⁺ 7.52(1)	[Fe(OH)(MoO ₄)] 5.2(2)	[Fe(Mo ₇ O ₂₄)] ³⁻ 68.34(5)	[Fe(Mo ₈ O ₂₆)] ⁻ 84.88(8)	0.05

^a Formation constant of the detected species [M(MoO₄)] was not accurately determined due to the low solubility of the metal molybdate. Tabulated values are the overall formation constant of each species. Values given in parentheses are the 1σ statistical uncertainties in the last digit of the constant. For the Fe(III) containing system, hydrolysis constants determined in this work under the same experimental conditions (log₁₀*K₁ = -2.74 (5); log₁₀*β₂ = -5.80 (6); log₁₀*β₃ = -8.63 (3); σ = 1.4) were included in the Hyperquad input

3.3 Speciation in Natural Waters

Speciation in natural waters is governed by the monomeric species tungstate or molybdate [10]. Notwithstanding, the polyanions of tungsten have been proven to be present in some natural systems [1]. At the same time, the speciation of the oxoanions is strongly influenced by multivalent metal cations. Shallow groundwaters of medium ionic strength, ca. 0.10 mol·L⁻¹, are probable media in which to find high amounts of these elements. Speciation simulations in aqueous media in the presence of median concentrations of metal cations [10] can provide a useful insight into their behavior and fate. Results show that the most abundant alkaline earth metal ions exert a major influence on W(VI) and Mo(VI) speciation. Even though the alkali metal ions are also present in high concentrations, they have a negligible interaction [36, 42]. On the other hand, the less abundant cations do not markedly influence the formed species. Figure 4 shows the distribution species diagram for W(VI) and Mo(VI) in the presence of medium concentrations of calcium and magnesium for groundwaters [10] calculated from data in Tables 1, 2 and 3. Two total concentrations of tungsten were evaluated: 1 × 10⁻¹⁰ mol·L⁻¹, which is the lowest range reported value in fresh uncontaminated water, and 1 × 10⁻⁶ mol·L⁻¹, the corresponding highest value [1, 10]. Results for both calculations show that above pH = 5 tungsten is fully associated to the most abundant metal cations, calcium and magnesium (Fig. 4a, b). For example, at pH 7, 97 % of the tungsten(VI) is associated to calcium(II) as [Ca(WO₄)] whereas 2.0 % is associated to magnesium under the same conditions. In the acidic range, the total concentration of tungsten influences the speciation. Figure 4b shows the presence of low amounts of polyoxoanions associated to calcium and magnesium ([M(HW₇O₂₄)]³⁻) for the maximum reported value in river water (1 × 10⁻⁶ mol·L⁻¹ [1]). These highly charged species might also be involved in the interaction with small inorganic particulate matter, which influences tungsten mobility in the environment [1, 15, 21, 40, 41].

If we compare these results with the molybdenum speciation using the highest range reported value in fresh uncontaminated water, 1 × 10⁻⁷ mol·L⁻¹ ([10], Fig. 4c), or the analogous lowest value, 3 × 10⁻¹⁰ mol·L⁻¹ ([10], not shown), we see that the polyanion

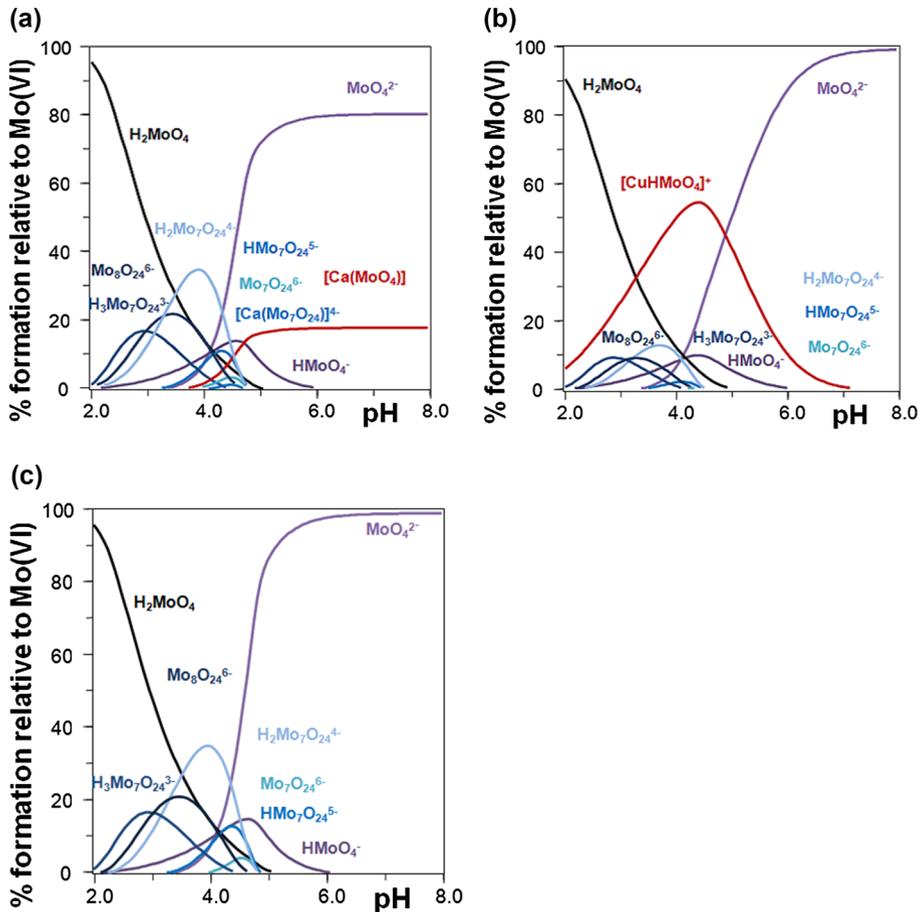


Fig. 3 Distribution species diagrams calculated from data on Table 3. **a** $[\text{Ca(II)}]_{\text{total}} = [\text{Mo(VI)}]_{\text{total}} = 1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. **b** $[\text{Cu(II)}]_{\text{total}} = [\text{Mo(VI)}]_{\text{total}} = 1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. **c** $[\text{Mo(VI)}]_{\text{total}} = 1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

formation is negligible under these conditions. Even for a much higher reported value of $5 \times 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of total Mo [18], polyoxoanions are not formed, unlike the case for tungsten, discussed above.

The influence of the concentration of the supporting electrolyte on the association constants of the Ca(II)–Mo(VI) system was analyzed in order to complete the chemical model obtained. Results are shown in Tables S5 and S6. The expected dependence for the association constant values converted to the molal scale, with the ionic strength according to the SIT model, are also shown in Fig. S1; a fairly good fit is obtained. The association constants calculated by the SIT model at infinite dilution in the molal scale are also shown in Table S6. Speciation is slightly affected by ionic strength. For example, under the conditions of Fig. 4c, the percentage of Mo(VI) retained by calcium at pH 7 varies from 22 to 28 % when the concentration of the supporting electrolyte is varied.

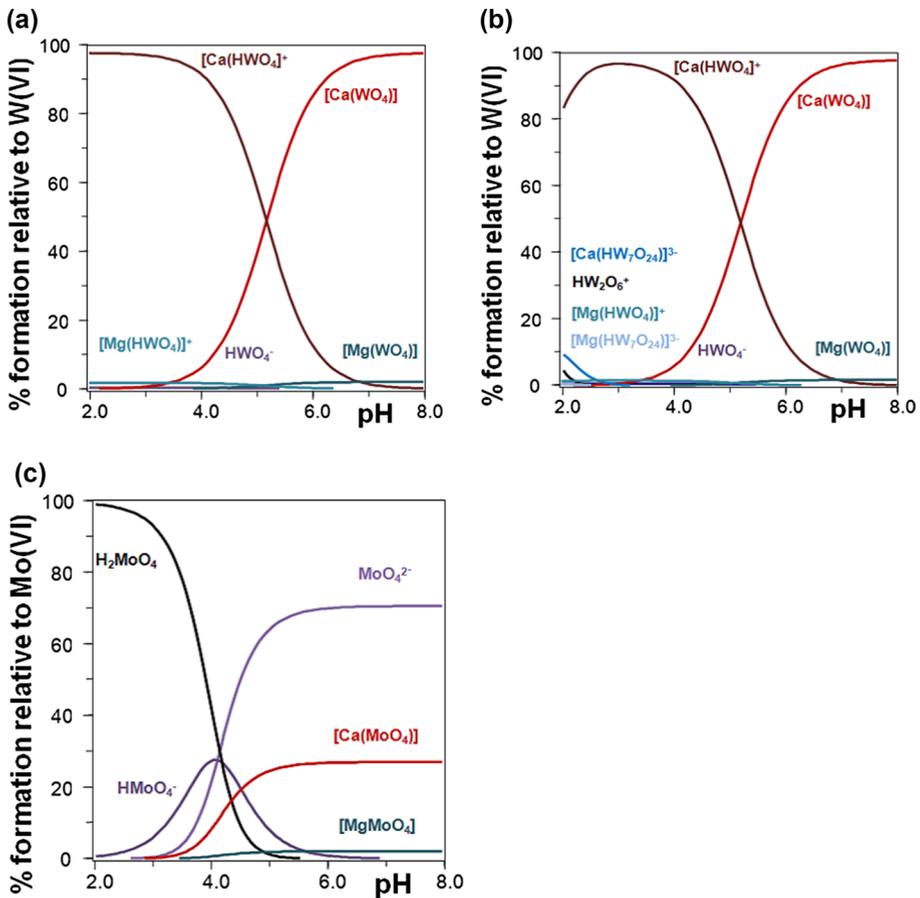


Fig. 4 Distribution species diagrams calculated from data on Tables 1, 2, 3. $[\text{Ca}(\text{II})]_{\text{total}} = 13.6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $[\text{Mg}(\text{II})]_{\text{total}} = 0.092 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. **a** $[\text{W}(\text{VI})]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-10} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. **b** $[\text{W}(\text{VI})]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. **c** $[\text{Mo}(\text{VI})]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-7} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

4 Conclusions

We have measured the interaction of W(VI) and Mo(VI) with major cations and also with some cations that are especially relevant from an environmental standpoint. The anions of W(VI) and Mo(VI) interact with all the studied +2 cations, forming detectable species in solution. The detected complexes are formed mostly by the electrostatic attractions between the +2 charged metal cations and the oxygen atoms of the anionic species of W(VI) or Mo(VI). The predominant forms in the presence of metal cations are the monomeric species $[\text{M}(\text{WO}_4)]/[\text{M}(\text{MoO}_4)]$, $[\text{M}(\text{HWO}_4)]^+ / [\text{M}(\text{HMoO}_4)]^+$ and the poly-anionic species, depending on the total concentration.

Even though the general results of tungsten and molybdenum are alike, as expected from their chemical similarity, some differences arise: (a) tungsten anions are in general more basic and form stronger associations with metal cations, and (b) the polyoxoanions of

tungsten and their association with abundant metal cations are more favored in the concentration range normally encountered in natural aquatic scenarios.

This work provides new data determined under adequate experimental conditions to describe the speciation of two trace elements in natural water scenarios from a thermodynamic standpoint. Their behavior can be compared with those of other major elements forming anions. In these multicomponent natural systems though, the formation of mixed ligand species can't be excluded. For neutral and alkaline conditions under simulated natural waters, ionic pairs of calcium and magnesium are especially relevant in the speciation. In the acidic interval, the polyanion complexes of alkaline earth metal ions are also formed in the case of tungsten. The heavy metal cations Pb(II) and Cd(II) form more stable complexes with tungsten(VI) and molybdenum(VI) anions. However, they do not give place to relevant associations under the conditions of natural waters. This is due to their typical extremely low concentration in these scenarios.

All these equilibria can influence the behavior and fate of these elements in the aquatic environment. Ionic strength has a minor influence on the species distribution.

Appendix

According to the SIT model [46–48]:

$$\log_{10} K_i = \log_{10} K_i^0 - \Delta z^2 \text{DH} + I \Delta \epsilon \quad (\text{A.1})$$

where K_i is the measured protonation constant, K_i^0 is the corresponding infinite dilution value, Δz^2 is the squared charge difference of reactants and products, DH is the Debye-Hückel term, i.e. Eq. A.2, I is the ionic strength on the molal scale, and $\Delta \epsilon$ is the sum of the specific interaction coefficients of reactants and products.

In turn, the Debye-Hückel term, DH, is calculated as follows:

$$\text{DH} = A \sqrt{\frac{I}{(1 + B\sqrt{I})}} \quad (\text{A.2})$$

where

$$A = 0.505 \text{ kg}^{1/2} \cdot \text{mol}^{-1/2} \text{ at } 20.0 \text{ } ^\circ\text{C}.$$

$$B = 1.5 \text{ kg}^{1/2} \cdot \text{mol}^{-1/2}.$$

References

1. Koutsospyros, A., Braidia, W., Christodoulatos, C., Dermatas, D., Strigu, L.N.: A review of tungsten: from environmental obscurity to scrutiny. *J. Hazard. Mater.* **136**, 1–19 (2006)
2. Kletzin, A., Adams, M.W.W.: Tungsten in biological systems. *FEMS Microbiol. Rev.* **18**, 5–63 (1996)
3. Strigul, N.: Does speciation matter for tungsten ecotoxicology? *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **73**, 1099–1113 (2010)
4. Mendel, R.R., Bittner, F.: Cell biology of molybdenum. *Biochim. Biophys. Acta* **1763**, 621–635 (2006)
5. Vyskocil, A., Viau, C.: Assessment of molybdenum toxicity in humans. *J. Appl. Toxicol.* **19**, 185–192 (1999)
6. Kabata-Pendias, A., Pendias, H.: Trace Elements in Soils and Plants, 3rd edn. CRC Press, Boca Raton (2011)
7. Strigul, N., Koutsospyros, A., Christodoulatos, C.: Tungsten speciation and toxicity: acute toxicity of mono- and poly-tungstates to fish. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **73**, 164–171 (2010)

8. Strigul, N., Galdun, C., Vaccari, L., Ryan, T., Braid, W., Christodoulatos, C.: Influence of speciation on tungsten toxicity. *Desalination* **248**, 869–879 (2009)
9. McGrath, S.P., Micó, C., Curdy, R., Zhao, F.J.: Predicting molybdenum toxicity to higher plants: influence of soil properties. *Environ. Poll.* **158**, 3095–3102 (2010)
10. Bodek, I., Lyman, W.J., Feehl, W.F., Rosenblatt, D.H.: *Environmental Inorganic Chemistry*. Pergamon Press, New York (1988)
11. Alloway, B.J. (ed.): *Environmental Pollution: Heavy Metals in Soils. Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability*, vol. 22, 3rd edn. Springer, New York (2013)
12. Clausen, J.L., Korte, N.: Environmental fate of tungsten from military use. *Sci. Total Environ.* **407**, 2887–2893 (2009)
13. Hsu, S.C., Hsieh, H.L., Chen, C.P., Tseng, C.M., Huang, S.C., Huang, C.H., Huang, Y.T., Radashevsky, V., Lin, S.H.: Tungsten and other heavy metal contamination in aquatic environments receiving wastewater from semiconductor manufacturing. *J. Hazard. Mater.* **189**, 193–202 (2011)
14. Yu, C., Xu, S., Gang, M., Chen, G., Zhou, L.: Molybdenum pollution and speciation in Nver River sediments impacted with Mo mining activities in western Liaoning, northeast China. *Int. J. Environ. Res.* **5**, 205–212 (2011)
15. Seiler, R.L., Stollenwerk, K.G., Garbarino, J.R.: Factors controlling tungsten concentrations in ground water, Carson Desert, Nevada. *Appl. Geochem.* **20**, 423–441 (2005)
16. Kishida, K., Okamura, K., Ishibachi, J.: Tungsten enriched in submarine hydrothermal fluids. *Earth Planet. Sci. Lett.* **222**, 819–827 (2004)
17. Johannesson, K.H., Berrylyons, W., Graham, E.Y., Welch, K.A.: Oxyanion concentrations in Eastern Sierra Nevada Rivers: boron, molybdenum, vanadium and tungsten. *Aquat. Geochem.* **6**, 19–46 (2000)
18. Leybourne, M.I., Cameron, E.M.: Source, transport, and fate of rhenium, selenium, molybdenum, arsenic, and copper in groundwater associated with porphyry–Cu deposits, Atacama Desert, Chile. *Chem. Geol.* **2008**(247), 208–228 (2008)
19. *Stability Constants Database*. IUPAC (2007)
20. May, P.M., Murray, K.: JESS—a joint expert speciation system. *Talanta* **38**, 1409–1417 (1991)
21. Johannesson, K.H., Dave, H.B., Mohajerin, T.J., Datta, S.: Controls on tungsten concentrations in groundwater flow systems: the role of adsorption, aquifer sediment Fe(III) oxide/oxyhydroxide content and thio tungstate formation. *Chem. Geol.* **351**, 76–94 (2013)
22. Murata, K., Ikeda, S.: Studies on polynuclear molybdates in the aqueous solution by laser Raman spectroscopy. *Spectrochim. Acta A* **39**, 787–794 (1983)
23. Petterson, L., Andersson, I., Ohman, L.O.: Multicomponent polyanions. ³¹P NMR study of aqueous molybdophosphates. *Acta Chem. Scand. A* **39**, 53–58 (1985)
24. Cruywagen, J.J., de Wet, H.: Equilibrium study of the adsorption of molybdenum(VI) on activated carbon. *Polyhedron* **7**, 547–556 (1988)
25. Martire, D., Feliz, M., Capparelli, A.: Kinetic study of the molybdenum(VI)–L-histidine and molybdenum(VI)–imidazole systems. *Polyhedron* **8**, 2225–2232 (1989)
26. Cruywagen, J.J.: Protonation, oligomerization and condensation reactions of vanadate(V), molybdate(VI) and tungstate(VI). *Adv. Inorg. Chem.* **49**, 127–182 (2000)
27. Cruywagen, J.J., Draaijer, A.G., Heyns, J.B.B., Rohwer, E.A.: Molybdenum(VI), equilibria in different ionic media. Formation constants and thermodynamic quantities. *Inorg. Chim. Acta* **331**, 322–329 (2001)
28. Farkas, E., Csoka, H.: Copper(II), nickel(II), zinc(II) and molybdenum(VI) complexes of desferrioxamine B in aqueous solution. *J. Inorg. Biochem.* **65**, 281–287 (1997)
29. Holm, R.H., Solomon, E.I., Majumdar, A., Tenderholt, A.: Comparative molecular chemistry of molybdenum and tungsten and its relation to hydroxylase and oxotransferase enzymes. *Coord. Chem. Rev.* **255**, 993–1015 (2011)
30. Cruywagen, J.J., Van der Merwe, I.F.J.: Tungsten(VI) equilibria: a potentiometric and calorimetric investigation. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **7**, 1701–1705 (1987)
31. Van Put, J.W.: Crystallisation and processing of ammonium paratungstate (APT). *Int. J. Refract. Metals Hard Mater.* **13**, 61–76 (1995)
32. Smith, B.J., Patrick, V.A.: Quantitative determination of sodium metatungstate speciation by NMR spectroscopy. *Aust. J. Chem.* **53**, 965–970 (2000)
33. De Buysser, K., Van Driessche, I., Vermeir, P., Thuy, T.T., Schaubroeck, J., Hoste, S.: EXAFS analysis of blue luminescence in polyoxotungstate citrate gels. *Phys. Stat. Sol.* **245**, 2483–2489 (2008)
34. Davantès, A., Costa, D., Lefèvre, G.: Infrared study of (poly)tungstate ions in solution and sorbed into layered double hydroxides: vibrational calculations and in situ analysis. *J. Phys. Chem.* **119**, 12356–12364 (2015)

35. Cruywagen, J.J., Pienaar, A.T.: The adsorption of tungsten (VI) on activated carbon from 1.0 M Na(H)Cl solution. *Polyhedron* **8**, 71–76 (1989)
36. Wesolowski, D., Drummond, S.E., Mesmer, R.E., Ohmoto, H.: Hydrolysis equilibria of tungsten(VI) in aqueous sodium chloride solutions to 300 °C. *Inorg. Chem.* **23**, 1120–1132 (1984)
37. Aveston, J.: Hydrolysis of tungsten(VI): ultracentrifugation, acidity measurements, and Raman spectra of polytungstates. *Inorg. Chem.* **3**, 981–986 (1964)
38. Rozantsev, G.M., Sazonova, O.I.: Thermodynamic parameters of interconversions of isopolyanions in solutions of tungsten(VI). *Russ. J. Coord. Chem.* **31**, 552–558 (2005)
39. Pyrzynska, K.: Determination of molybdenum in environmental samples. *Anal. Chim. Acta* **590**, 40–48 (2007)
40. Bednar, A.J., Jones, W.T., Boyd, R.E., Ringelberg, D.B., Larson, S.L.: Geochemical parameters influencing tungsten mobility in soils. *J. Environ. Qual.* **37**, 229–233 (2008)
41. Gustafsson, J.P.: Modelling molybdate and tungstate adsorption to ferrihydrite. *Chem. Geol.* **200**, 105–115 (2003)
42. Torres, J., Gonzatto, L., Peinado, G., Kremer, C., Kremer, E.: Interaction of molybdenum(VI) oxyanions with +2 metal cations. *J. Solution Chem.* **43**, 1687–1700 (2014)
43. Gans, P., O'Sullivan, B.: Glee, a new computer program for glass electrode calibration. *Talanta* **51**, 33–37 (2000)
44. Gans, P., Sabatini, A., Vacca, A.: Investigation of equilibria in solution. Determination of equilibrium constants with the HYPERQUAD suite of programs. *Talanta* **43**, 1739–1753 (1996)
45. Alderighi, L., Gans, P., Ienco, A., Peters, D., Sabatini, A., Vacca, A.: Hyperquad simulation and speciation (HySS): a utility program for the investigation of equilibria involving soluble and partially soluble species. *Coord. Chem. Rev.* **184**, 311–318 (1999)
46. Torres, J., Pintos, V., Gonzatto, L., Domínguez, S., Kremer, C., Kremer, E.: Selenium chemical speciation in natural waters. *Chem. Geol.* **288**, 32–38 (2011)
47. Bretti, C., Crea, F., De Stefano, C., Foti, C., Materazzi, S., Vianelli, G.: Thermodynamic properties of dopamine in aqueous solution. Acid–base properties, distribution, and activity coefficients in NaCl aqueous solutions at different ionic strengths and temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **58**, 2835–2847 (2013)
48. Bretti, C., De Stefano, C., Millero, F.J., Sammartano, S.G.: Modeling of protonation constants of linear aliphatic dicarboxylates containing –S–groups in aqueous chloride salt solutions, at different ionic strengths, using the SIT and Pitzer equations and empirical relationships. *J. Solution Chem.* **37**, 763–784 (2008)

Desarrollo de una nueva metodología de alta sensibilidad para la determinación de molibdeno en aguas naturales basada en microextracción dispersiva líquido – líquido y ETAAS.

Tissot, F.¹, Knochen, M.¹

¹Universidad de la República, Facultad de Química, Av. Gral. Flores 2124, 11800 Montevideo, Uruguay – mknochen@fq.edu.uy

Palabras clave: agua, molibdeno, preconcentración

Introducción y objetivos

El molibdeno es un elemento traza de relevancia biológica y ambiental. Forma parte de diversos procesos bioquímicos en animales y vegetales, pero también es potencialmente tóxico a altas concentraciones. En aguas naturales están reportados niveles de concentración entre 0,03 y 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ [1]. La determinación de molibdeno a estos niveles exige técnicas analíticas muy sensibles como por ejemplo, ICP-MS, que por su alto costo no siempre está disponible. Una alternativa para la determinación del metal total es la preconcentración para su determinación posterior mediante técnicas espectrométricas más accesibles como absorción atómica de llama o electrotermica. De este modo se aprovecha la elevada selectividad de la técnica espectroscópica aumentando la sensibilidad y la detectabilidad.

En este trabajo se desarrolló una nueva metodología para la determinación de molibdeno en aguas naturales empleando preconcentración asociada a espectrometría de absorción atómica electrotermica (ETAAS).

Metodología

Se implementó como estrategia de preconcentración la microextracción dispersiva líquido-líquido (DLLME) [2]. Ésta es más rápida y económica que la extracción líquido-líquido convencional. Utiliza pequeñas cantidades de disolvente y también es más amigable con el ambiente al generar menos residuos, en línea con los principios de la Química Verde. Una mezcla apropiada de disolventes (de extracción y dispersante) y agente complejante es rápidamente inyectada en una disolución acuosa de la muestra que contiene al metal. Inmediatamente se forma una turbidez debida a la dispersión del disolvente de extracción en forma de pequeñas gotas que extraen eficazmente el complejo del metal. Se centrifuga y la fase que sedimenta contiene el analito extraído y éste se determina por técnicas analíticas convencionales.

Luego de la inyección de una mezcla conteniendo etilxantato de potasio (complejante), acetonitrilo (dispersante) y tetracloruro de carbono (disolvente de extracción) ocurre la extracción del molibdeno desde la fase acuosa. Luego de separar las fases se determina la cantidad del elemento en la fase enriquecida por ETAAS.

Resultados

Se establecieron las condiciones experimentales óptimas: 6 mL de muestra a $\text{pH} < 2,5$, 1,0 mL de acetona, 50 μL de tetracloruro de carbono y 150 μL de complejante 0,30 mol L^{-1} , centrifugación a 3000 rpm durante tres minutos. Bajo estas condiciones se estableció que el rango lineal es de 0,06 - 1,1 $\mu\text{g L}^{-1}$, el límite de detección es 0,017 $\mu\text{g L}^{-1}$, el de cuantificación 0,062 $\mu\text{g L}^{-1}$ y la veracidad evaluada como porcentaje de recuperación está entre 90 y 110%, siendo el factor de enriquecimiento de 165.

Conclusiones

La metodología fue aplicada satisfactoriamente para la determinación de molibdeno en aguas subterráneas. Presenta ventajas significativas en términos de detectabilidad, rapidez y disminución de residuos, ya que se manejan volúmenes muy pequeños de disolventes.

Referencias

- [1] Pyrzyńska K. 2007. Determination of molybdenum in environmental samples. *Anal Chim Acta*, 590, 40-48.
- [2] Rezaee M, Assadi Y, Milani Hosseini MR, Aghaee E, Ahmadi F, Berijani S. 2006. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *J Chromatogr A*, 1116, 1-9.

Determinación de molibdeno en aguas subterráneas por microextracción dispersiva líquido-líquido y espectrometría de absorción atómica electrotérmica

Tissot, Florencia; Knochen, Moisés

Química Analítica. Facultad de Química. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

El molibdeno es un elemento traza de relevancia biológica y ambiental. Forma parte de diversos procesos bioquímicos en animales y vegetales, pero también es potencialmente tóxico a altas concentraciones.

Están reportados niveles de concentración entre 0,25 y 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ en aguas minerales [1]. La determinación de molibdeno a niveles traza y ultra traza exige técnicas analíticas muy sensibles (como ICP-MS) capaces de llegar a muy bajos límites de detección. Éstas por su alto costo no siempre están disponibles. Una alternativa para la determinación del metal total es la preconcentración para su determinación posterior mediante técnicas espectrométricas más accesibles como absorción atómica de llama o electrotérmica [2]. De este modo se aprovecha la elevada selectividad de la técnica espectroscópica aumentando la sensibilidad y la detectabilidad.

El objetivo del presente trabajo es desarrollar una técnica de preconcentración rápida, económica y amigable con el ambiente para poder determinar la concentración de molibdeno con las técnicas de espectrometría atómica disponibles.

Se implementó como estrategia de preconcentración la microextracción dispersiva líquido-líquido (DLLME). Ésta es más rápida y económica que la extracción líquido-líquido convencional. Utiliza pequeñas cantidades de disolvente y también es más amigable con el ambiente al generar menos residuos, en línea con los principios de la Química Verde. Una mezcla apropiada de disolventes (de extracción y dispersante) y complejante es rápidamente inyectada en una solución acuosa de la muestra que contiene al metal. Inmediatamente se forma una opalescencia debido a la dispersión del disolvente de extracción en forma de pequeñas gotas que extraen eficazmente el complejo del metal. Se centrifuga y la fase que sedimenta contiene el analito extraído y éste se determina por técnicas analíticas convencionales [3].

Luego de la inyección de una mezcla conteniendo dietilditiocarbamato de sodio (complejante), acetona (dispersante) y tetracloruro de carbono (disolvente de extracción) ocurre la extracción del molibdeno desde la fase acuosa. La cantidad del elemento en la fase enriquecida fue determinada por espectrometría de absorción atómica electrotérmica.

Se establecieron las condiciones experimentales óptimas: 6 mL de muestra, pH 3,5, 1,0 mL de acetona, 50 μL de tetracloruro de carbono y 60 μL de complejante 0,05 mol L^{-1} , centrifugación a 3000 rpm por tres minutos. Bajo estas condiciones se estableció que el rango lineal es hasta 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, el límite de detección es 0,027 $\mu\text{g L}^{-1}$, el de cuantificación 0,078 $\mu\text{g L}^{-1}$ y la veracidad evaluada como porcentaje de recuperación está entre 90 y 110%.

La metodología fue aplicada satisfactoriamente para la determinación de molibdeno en aguas subterráneas. Presenta ventajas significativas en términos de detectabilidad, rapidez y disminución de residuos, ya que se manejan volúmenes muy pequeños de disolventes.

Referencias

- [1] Pyrzynska K. Determination of molybdenum in environmental samples. *Anal Chim Acta* 2007; 590: 40-48.
- [2] Alfassi ZB, Wai CM. Preconcentration techniques for trace elements. Boca Ratón: CRC Press, 1992.
- [3] Rezaee M, Assadi Y, Milani Hosseini MR, Aghaee E, Ahmadi F, Berijani S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *J Chromatogr A* 2006; 1116: 1-9.

Interactions of W(VI) oxyanions with metal cations: thermodynamic modeling in natural waters

E. Kremer¹, F. Tissot², C. Ferrari¹, P. Santos¹, L. Gonzatto¹, C. Kremer¹, J. Torres¹

¹*Cátedra de Química Inorgánica, DEC, Facultad de Química, Uruguay*

²*Cátedra de Química Analítica, DEC, Facultad de Química, Uruguay*

e-mail: ekremer@fq.edu.uy

Reliable thermodynamic data describing aqueous chemical speciation are essential for developing models to predict the fate of the trace elements in natural systems. A useful chemical model must include experimental values of the appropriate thermodynamic equilibrium constants. In most conditions prevailing in low depth natural waters, W(VI) anions are the only soluble thermodynamically stable species of this element. Besides, tungsten(VI) can also form oxo/hydroxospecies including polyanions[1]. The mobility of this element in aquatic media is highly dependent on the presence of the free monomeric tungstate anions: $\text{WO}_4^{2-}/\text{HWO}_4^-$. The mobility of these species and other W(VI) polyanions may, however, be hindered by the interaction with the major cations present in the aquatic environment. The available experimental thermodynamic data concerning the interaction of tungstate anions with metal cations are up to now very scarce. [2].

In this work we report the potentiometric study of oxyanions of W(VI) and their interaction with some metal cations: Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+} . Experimental conditions were chosen to simulate natural waters conditions: 20.0 °C and low ionic strength. KNO_3 and NaClO_4 were employed as supporting electrolytes; the influence of the supporting electrolyte was also evaluated.

Results show the interaction of W(VI) monomeric anions with M(II) cations giving place to $[\text{M}(\text{WO}_4)]$ and $[\text{M}(\text{HWO}_4)]^+$. Polyoxotungstate anions $\text{W}_6\text{O}_{21}^{6-}$ and $\text{HW}_7\text{O}_{24}^{5-}$ also interact with all studied metal cations forming $[\text{M}(\text{W}_6\text{O}_{21})]^{4-}$ and $[\text{M}(\text{HW}_7\text{O}_{24})]^{3-}$. For total tungsten concentration below 1 mM, the predominant form of tungsten(VI) is WO_4^{2-} above pH 6, with a medium to high percentage of $[\text{M}(\text{WO}_4)]$, depending on the M(II) concentration. For more acidic conditions, HWO_4^- is formed, together with $[\text{M}(\text{HWO}_4)]^+$. For higher total molybdenum concentrations, $[\text{M}(\text{W}_6\text{O}_{21})]^{4-}$ and $[\text{M}(\text{HW}_7\text{O}_{24})]^{3-}$ become predominant. For natural waters simulation, taking for example 10^{-7} M W(VI) total concentration, in the presence of mean natural groundwater concentrations of major cations, $[\text{M}(\text{WO}_4)]$ (M = Ca, Mg) predominate, accounting for *ca.* 100% of the element. Tungsten(VI) mobility and availability is markedly influenced by pH value and the presence of major cations in the natural waters. As expected, its behaviour resembles that of W(VI) in natural waters. Notwithstanding, the interaction of W is much stronger than that of Mo(VI) due to the higher basicity of the former.

This work was partially supported by CSIC (Programa de Apoyo a Grupos) and ANII (FCE 2011_1_6491).

References

[1] Richens, D.T., 1997. The Chemistry of Aqua Ions, Wiley and Sons, New York

[2] The IUPAC Stability Constants Database: SC-Database and Mini-SCDatabase, version 5.86

Especiación química de Molibdeno (VI) en aguas naturales y estudio de la interacción con iones de relevancia ambiental y toxicológica

Florencia Tissot¹, Julia Torres², Carlos Kremer², Eduardo Kremer²

¹Cátedra de Química Analítica. ²Cátedra de Química Inorgánica, Departamento Estrella Campos, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

ftissot@fq.edu.uy

INTRODUCCIÓN

El molibdeno es un elemento traza de gran importancia biológica y ambiental, cuya movilidad en la corteza terrestre depende en gran parte del ciclo hidrológico. Forma parte de diversos procesos bioquímicos, pero también es potencialmente tóxico. Por lo tanto, los niveles de concentración total así como su especiación química en las aguas naturales son importantes para determinar el impacto ambiental y la biodisponibilidad de este metal. Como sucede con otros elementos traza, los equilibrios en solución acuosa en los que participa han sido aún poco estudiados, sobre todo en condiciones relevantes desde el punto de vista ambiental [1]. En este trabajo se presenta el estudio potenciométrico de los equilibrios de protonación y formación de polianiones de Mo(VI) y su interacción con cationes metálicos, M(II), de relevancia biológica, toxicológica y/o ambiental: M= Ca, Mg, Fe y Cd. También se presenta la variación de las constantes de protonación con la fuerza iónica. La estrategia experimental implicó el ajuste de los datos experimentales de las concentraciones hidrogeniónicas de equilibrio, mediante el programa Hyperquad. [2] Se obtuvieron así todos los datos termodinámicos de protonación e interacción con los cationes seleccionados. El estudio se llevó a cabo a 20.0 °C y en condiciones que simulan las de las aguas naturales (fuerza iónica baja).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados muestran que, en ausencia de iones metálicos, la especie predominante a pH superior a 4.4 es MoO_4^{2-} . Para muestras que contienen bajos niveles de Mo, como ocurre normalmente en las aguas naturales, la especie HMoO_4^- predomina entre pH 3.6 y 4.4 mientras que H_2MoO_4 es la especie que prevalece a pH menor a 3.6. Las especies poliméricas $[\text{Mo}_8\text{O}_{26}]^{4-}$ y $[\text{Mo}_7\text{O}_{24}]^{6-}$ se forman también en este intervalo de pH, pero cuando la concentración total de Mo es mayor a 1 mM. Se determinó también la estequiometría y las constantes de estabilidad de las especies que se forman en presencia de los cationes metálicos estudiados. Por encima de pH 4.4 se forma un porcentaje variable de $[\text{M}(\text{MoO}_4)]$. Para pH más bajos y dependiendo de la concentración total de Mo(VI) se forman las especies $[\text{M}(\text{HMoO}_4)]^+$ y algunas especies complejas derivadas de los polianiones del Mo(VI).

CONCLUSIONES

En las condiciones de las aguas naturales, las especies de Mo(VI) más relevantes son el anión molibdato y los pares iónicos $[\text{M}(\text{MoO}_4)]$, cuya formación depende marcadamente de las concentraciones totales de molibdeno y de los otros metales presentes en el medio.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento: Programa de Apoyo a Grupos de CSIC, PEDECIBA, ANII.

REFERENCIAS

- [1] IUPAC Academic Software, Stability Constants Database, 2005.
 [2] Gans P.; Sabatini A.; Vacca A., Talanta, 1996, 43, 1739-1753.

Interactions of Mo(VI) oxyanions with metal cations: thermodynamic modeling in natural waters

E. Kremer¹, L. Gonzatto¹, F. Tissot², G. Peinado¹, J. Torres¹, C. Kremer¹

¹*Cátedra de Química Inorgánica, DEC, Facultad de Química, Uruguay*

²*Cátedra de Química Analítica, DEC, Facultad de Química, Uruguay*

e-mail: ekremer@fq.edu.uy

Reliable thermodynamic data describing aqueous chemical speciation are essential for developing models to predict the fate of the trace elements in natural systems. A useful chemical model must include experimental values of the appropriate thermodynamic equilibrium constants. In most conditions prevailing in low depth natural waters, Mo(VI) anions are the only soluble thermodynamically stable species of this element. Molybdenum(VI) forms oxo/hydroxospecies including polyanions[1]. The mobility of this element in aquatic media is highly dependent on the presence of free molybdate anion, MoO_4^{2-} , its prevalent species in natural waters. The mobility of this and other Mo(VI) polyanions may, however, be hindered by the interaction with the major cations present in the aquatic environment. The available experimental thermodynamic data concerning the interaction of molybdate anions with metal cations are very scarce. Most of them involve the measurement of +2 cations molybdate salts solubility, but do not include the detection of soluble species[2].

In this work we report the potentiometric study of oxyanions of Mo(VI) and their interaction with some other metal cations: Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} and Cd^{2+} . Experimental conditions were chosen to simulate natural waters conditions: 20.0 °C and low ionic strength. The influence of the supporting electrolyte was also evaluated for some selected systems.

Results show that the interaction of molybdate anion with M(II) cations is relatively weak ($\log K$ for the $[\text{M}(\text{MoO}_4)]$ species formation in the order of 2) and very similar for all studied systems. Polyoxomolybdate anion $\text{Mo}_7\text{O}_{24}^{6-}$ also interacts with all studied metal cations giving place to $[\text{M}(\text{Mo}_7\text{O}_{24})]^{4-}$. For total molybdenum concentration below 1 mM, the predominant form of molybdenum(VI) is MoO_4^{2-} above pH 4.4, with a variable percentage of $[\text{M}(\text{MoO}_4)]$, depending on the M(II) concentration. For more acidic conditions, HMoO_4^- is formed, together with $[\text{M}(\text{HMoO}_4)]^+$ in some systems. For higher total molybdenum concentrations, polyanions and $[\text{M}(\text{Mo}_7\text{O}_{24})]^{4-}$ become predominant. For natural waters simulation, taking for example 10^{-7} M Mo(VI) total concentration, in the presence of mean natural groundwater concentrations of major cations, $[\text{Ca}(\text{MoO}_4)]$ predominates, accounting for *ca.* 80% of the element. Thus, molybdenum(VI) mobility and availability is influenced by pH value and the presence of major cations in the natural waters.

This work was partially supported by CSIC (Programa de Apoyo a Grupos).

References

- [1] Richens, D.T., 1997. The Chemistry of Aqua Ions, Wiley and Sons, New York
- [2] IUPAC, Stability Constants Database, 2007



Codigo: 056

AREA: MIEH

POSTER

Interactions of Mo(VI) oxyanions with environmentally relevant metal cations in natural ground waters

Gonzatto, L.¹; Tissot, F.²; Torres, J.¹; Kremer, C.¹; Kremer, E.¹

¹*Cátedra de Química Inorgánica, Facultad de Química, Montevideo, Uruguay*

²*Cátedra de Química Analítica, Facultad de Química, Montevideo, Uruguay*
lgonzato@fq.edu.uy

Molybdenum is an essential trace element, whose mobility in the upper crust is highly dependant on the hydrological cycle. In natural waters, speciation and concentration of the main anionic components are important in determining its bioavailability and environmental impact. Its chemical speciation in natural aquatic scenarios has been yet poorly studied. This work reports the potentiometric study of oxyanions of Mo(VI) and their interaction with some divalent metal ions of special environmental relevance.

Experimental conditions were chosen to simulate the natural ground waters media of low depth (20.0 C, low ionic strength). The influence of the supporting electrolyte was also evaluated. In the absence of metal ions, MoO_4^{2-} is the predominant species for pH values above 4.4, HMoO_4^- predominates from pH 3.6 to pH 4.4 and H_2MoO_4 is the most abundant species below pH 3.6. Polymeric species such as $[\text{Mo}_8\text{O}_{26}]^{4-}$ and $[\text{Mo}_7\text{O}_-]^{6-}$ appear when the total molybdenum concentration exceeds 1 mM.

The M^{2+} cations are bound to molybdenum anions to a considerable extent. For total molybdenum concentration below 1 mM, the predominant form of molybdenum (VI) is still MoO_4^{2-} above pH 4.4, with a variable percentage of $[\text{M}(\text{MoO}_4)]^+$, depending on the metal ion concentration. As the pH value becomes lower than 4.4, the most abundant species is $[\text{M}(\text{HMoO}_4)]$. For example, for 10^{-7} M Mo(VI) in the presence of mean natural ground waters concentrations of Ca^{2+} (16.3 mM) shows the predominance of $[\text{Ca}(\text{MoO}_4)]$ for pH values above 4.4, and $[\text{Ca}(\text{HMoO}_4)]^+$ for more acidic media. For some transition metal ions, the low solubility of the MMoO_4 salt prevents the accurate detection of the soluble species $[\text{M}(\text{MoO}_4)]$ above pH 4.4.

Results show that in conditions simulating natural ground waters, the availability of Mo(VI) is strongly influenced by pH media and the presence of +2 metal ions.

Aknowledgments: This work was partially supported by CSIC.

Otros (Poster)

P Ot-02

Especiación química de molibdeno(VI) en aguas naturales

Torres, J**; Gonzatto, L**; Tissot, F *; Kremer, C**; Kremer, E**.

Universidad de la República, Facultad de Química, Departamento Estrella Campos.

** Cátedra de Química Analítica. ** Cátedra de Química Inorgánica.*

Montevideo, Uruguay

e-mail: ftissot@fq.edu.uy

El molibdeno es un elemento traza de gran importancia biológica y ambiental. Forma parte de diversos procesos bioquímicos, pero también es potencialmente tóxico. Por lo tanto, los niveles de concentración total así como su especiación química en las aguas naturales son importantes para determinar el impacto ambiental y la biodisponibilidad de este metal. Como sucede con otros elementos traza, los equilibrios en solución acuosa en los que participa han sido aún poco estudiados, sobre todo en condiciones relevantes desde el punto de vista ambiental.

En este trabajo se presenta el estudio potenciométrico de los oxoaniones de Mo (VI) y su interacción con cationes metálicos, M(II), de relevancia biológica y/o ambiental: M= Ca, Mg, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd y Pb. Previamente, se revisaron en idénticas condiciones los equilibrios de protonación y formación de polianiones de Mo(VI). La estrategia experimental implicó el ajuste de los datos experimentales de las concentraciones hidrogeniónicas de equilibrio, mediante el programa Hyperquad. Se obtuvieron así todos los datos termodinámicos de protonación e interacción con los cationes seleccionados. El estudio se llevó a cabo a 20.0 °C y en condiciones que simulan las de las aguas naturales. Se emplearon varios electrolitos soporte para el ajuste de la fuerza iónica, de manera de evaluar la variación de las constantes de equilibrio con este parámetro.

Los resultados muestran que, en ausencia de iones metálicos, la especie predominante a pH superior a 4.4 es MoO_4^{2-} . Para muestras que contienen bajos niveles de Mo, como ocurre normalmente en las aguas naturales, la especie HMoO_4^- predomina entre pH 3.6 y 4.4 mientras que H_2MoO_4 es la especie que prevalece a pH menor a 3.6. Las especies poliméricas $[\text{Mo}_8\text{O}_{26}]^{4-}$ y $[\text{Mo}_7\text{O}_{24}]^{6-}$ se forman también en este intervalo de pH, pero cuando la concentración total de Mo es mayor a 1 mM.

Se determinó también la estequiometría y las constantes de estabilidad de las especies que se forman en presencia de cationes metálicos. La carga del catión presenta gran influencia en la fuerza de la interacción: la asociación con iones monovalentes es despreciable, a diferencia de lo que sucede con los cationes divalentes. Por encima de pH 4.4 se forma un porcentaje variable de $[\text{M}(\text{MoO}_4)]$. Para pH más bajos y dependiendo de la concentración total de Mo(VI) se forman las especies $[\text{M}(\text{HMoO}_4)]^+$ y algunas especies complejas derivadas de los polianiones del Mo(VI).

En las condiciones de las aguas naturales, las especies de Mo(VI) más relevantes son el anión molibdato y los pares iónicos $[\text{M}(\text{MoO}_4)]$, cuya formación depende marcadamente de las concentraciones totales de molibdeno y de los otros metales presentes en el medio.

Agradecimiento: Programa de Apoyo a Grupos de CSIC.