



Application Note AN-S-404

Prueba de calidad del agua con EPA 300.1

Aumente la eficiencia del laboratorio con generación automatizada de eluyentes y análisis de una sola ejecución de aniones y subproductos de desinfección

Los métodos analíticos estándar como el **Método 300.1 de la EPA de EE. UU. (Partes A y B)**, ISO 10304-1 e ISO 10304-4 garantizan el cumplimiento al monitorear los contaminantes del agua que afectan la salud humana. Los subproductos de la desinfección (DBP), en particular, están relacionados con el cáncer y los problemas reproductivos [1–5]. EPA 300.1 Parte A e ISO 10304-1 describen los requisitos analíticos para la determinación por cromatografía iónica de los principales aniones inorgánicos. Los DBP nocivos (clorito y clorato) están incluidos en ISO 10304-4 y EPA 300.1 Parte B (más bromato y ácido dicloroacético/DCAA). Lograr límites de detección del método (MDL) para analitos con diferencias

significativas de concentración relativa puede resultar un desafío. La columna de intercambio aniónico de alta capacidad **Metrosep A Supp 21** para eluyentes de hidróxido y detección de conductividad suprimida secuencialmente permite un análisis de una sola ejecución que satisface estas necesidades. El módulo **IC continuo 948, CEP**, automatiza la generación de eluyentes de KOH. Esto elimina la preparación manual y garantiza tiempos de retención estables junto con una línea de base ultrabaja. Junto con una **calibración de estándar único**, este enfoque analítico proporciona una solución altamente eficiente, sostenible y confiable para laboratorios de análisis de agua.

MUESTRA Y PREPARACIÓN DE MUESTRA

La serie de muestras contenía dos muestras de agua del grifo, una muestra de agua del grifo artificial y una muestra de agua mineral disponible comercialmente. Las muestras se prepararon de acuerdo con los requisitos del método 300.1 de la EPA de EE. UU. [1]. Como se especifica, se agregaron 50 mg/L de EDA (etilendiamina) a los estándares y muestras para estabilizar el clorito. EDA cambia el pH de la muestra a condiciones más básicas, lo que garantiza la estabilidad del clorito.

Para evaluar la recuperación, se anadió una solución estándar mixta (es decir, solución de adición, **Tabla 1**)

a las muestras de agua. Se fortificó un estándar mixto separado (con una concentración de aniones correspondiente a la **Tabla 1**) con altos niveles de cloruro, nitrato, sulfato y carbonato (20 a 500 mg/l cada uno) y ácidos orgánicos de elución temprana como glicolato, acetato y formiato (1 mg/l cada uno) para evaluar la compatibilidad de la matriz. Para calibrar el sistema de cromatografía iónica (IC), se preparó un único estándar (**Tabla 1**) y se inyectaron volúmenes variables (4–200 µL) utilizando la técnica inteligente de inyección de bucle parcial (MiPT) de Metrohm.

Tabla 1. Composición de las soluciones estándar y de adición.

Analito	Standard 1 ($\mu\text{g/L}$)	Picos de la solución ($\mu\text{g/L}$)
Fluoruro	100	100
Clorito	10	5
Bromato	10	5
Cloruro	10,000	10,000
Nitrito	20	20
Bromuro	20	20
Clorato	10	5
Nitrato	10,000	10,000
Dicloroacetato	1,000	1,000
Sulfato	10,000	10,000
Fosfato	100	sin picos

EXPERIMENTO

Las muestras y los estándares se inyectaron directamente en el sistema IC equipado con un módulo IC continuo 948, CEP y una configuración MiPT (Figura 1).

Se utiliza un enfoque automatizado (MiPT) para la calibración del sistema. Al inyectar diferentes volúmenes (4 a 200 μL) de una solución estándar única (Tabla 1), se crea una serie de calibración de alta precisión (fluoruro, fosfato: 8 a 400 $\mu\text{g/L}$; clorito, bromato, clorato: 0,8 a 40 $\mu\text{g/L}$; cloruro, nitrato, sulfato: 0,8 a 40 mg/L; nitrito, bromuro: 1,6 a 80 $\mu\text{g/L}$; DCAA: 0,08–4 mg/l).

Las muestras fueron inyectadas con un volumen común de 50 μL . Cada muestra fue analizada cuatro veces. Los resultados reflejan la recuperación de las mediciones.



Figure 1. Configuración para pruebas de agua potable utilizando un 930 Compact IC Flex con generación automática de eluyente KOH (módulo IC continuo 948, CEP), un procesador de muestras profesional 858 y la técnica inteligente de inyección de bucle parcial (MiPT) de Metrohm.

La elución de los analitos se realiza con un gradiente de eluyente de hidróxido (18–80 mmol/L de KOH, concentrado: solución de hidróxido de potasio de 4 mol/L (Supelco, Merck), **Figura 2**) en la columna Metrosep A Supp 21 de alta capacidad a 45 °C utilizando el módulo IC continuo 948, CEP.

La generación continua de eluyente de hidróxido funciona de la siguiente manera. La producción de eluyentes bajo demanda con el módulo IC continuo 948, CEP se basa en la electrólisis del agua. Al aplicar una corriente eléctrica definida (la «corriente faradaica»), se forman iones de hidróxido (OH^-) a partir de la corriente de agua ultrapura en el electrodo de platino del cartucho de producción de eluyentes (EPC A) del módulo IC continuo 948. La cantidad respectiva de iones de potasio (K^+) complementa a los iones de hidróxido. Estos se liberan del concentrado de hidróxido de potasio de alta pureza (ya sea comprado o de fabricación propia en una concentración de 4 mol/L o superior) pasando a través de la membrana selectiva de iones. La corriente aplicada se controla constantemente para garantizar la máxima exactitud, precisión y reproducibilidad para las concentraciones de OH^- isocráticas o de gradiente definidas. No es necesaria la preparación manual de eluyentes de hidróxido corrosivos y difíciles de manipular. También se minimiza el problema de la atracción de carbonatos, lo que da como resultado tiempos de retención estables y una línea de base ultrabajo para determinar incluso trazas de concentraciones de analitos.

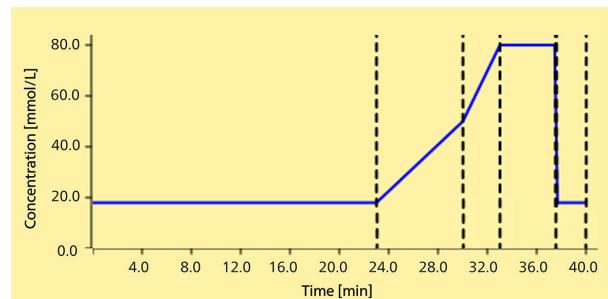


Figura 2. Perfil de gradiente de KOH garantizado con el módulo IC continuo 948, CEP (concentrado: solución de hidróxido de potasio 4 mol/L, 67109, Supelco, Merck).

Tabla 2. Condiciones cromatográficas para el análisis de aniones comunes y DBP según U.S. EPA 300.1 A y B.

Gradiente (948 Continuous IC Module, CEP) 18–80 mmol/L KOH (**Figura 2**)

Columna/guarda columna	Metrosep A Supp 21 - 250/4.0 Metrosep A Supp 21 Guard/4.0
Flow rate eluent	0.80 mL/min
Temperatura de la columna	45 °C
Tiempo de grabación	40 min
Volumen de inyección	4–200 L (MiPT) 50 L para muestras
Supresión	Supresión secuencial
MSM	MSM-HC Rotor A, Hydroxide
MSM intervalo de paso	10 min
Volumen de regeneración de Dosino	10 mL (200 mmol/L sulfuric acid)
Detección	Conductividad

EXPERIMENTO

La señal de conductividad se registra (IC Conductivity Detector MB) después de la detección de conductividad suprimida secuencialmente. Por lo

tanto, para condiciones de hidróxido, se utiliza el rotor A, hidróxido MSM-HC diseñado para lograr el mejor rendimiento del sistema.

El análisis de los analitos objetivo se realizó en 40 minutos (**Figura 3**). Los análisis para el método 300.1 de la EPA de EE. UU., Partes A y B, se combinan en un único método IC y utilizan un volumen de inyección común de 50 L para las muestras.

Aunque las resoluciones entre los picos no se mencionan explícitamente en el texto estándar del Método 300.1 de la EPA de EE. UU., sus valores se monitorearon a lo largo de toda la serie de análisis. En comparación, ISO 10304-1 e ISO 10304-4 requieren una resolución mínima de 1,3 para una cuantificación adecuada. Por ello, la resolución entre bromuro y clorato, así como entre clorito y bromato, es la más crítica. A lo largo de una serie de mediciones de 95 muestras y estándares, incluida el agua mineral que se muestra (**Figura 3**), la resolución entre bromuro y clorato fue de 2,1 en

promedio, y la resolución promedio entre clorito y bromato fue de 1,9, muy por encima de los requisitos de las normas ISO. Las muestras de agua analizadas contenían altas concentraciones (es decir, rango de mg/L) de cloruro (8,2 a 10,9 mg/L), sulfato (4,8 a 13,9 mg/L) y nitrato (3,8 a 9,6 mg/L). Se detectaron fluoruro (57–72 g/L), bromuro (8–9 g/L) y clorato (agua mineral, 3 g/L) en concentraciones menores. No se encontraron clorito, bromato, fosfato ni DCAA en las muestras. Las desviaciones estándar relativas (RSD) para análisis repetidos de agua estuvieron por debajo del 2,5 % (con excepciones para clorito y bromato, <5 %), y las recuperaciones adicionales de 89 a 102 % estuvieron dentro de los criterios de calidad estándar, lo que destaca la repetibilidad, precisión y solidez del método IC.

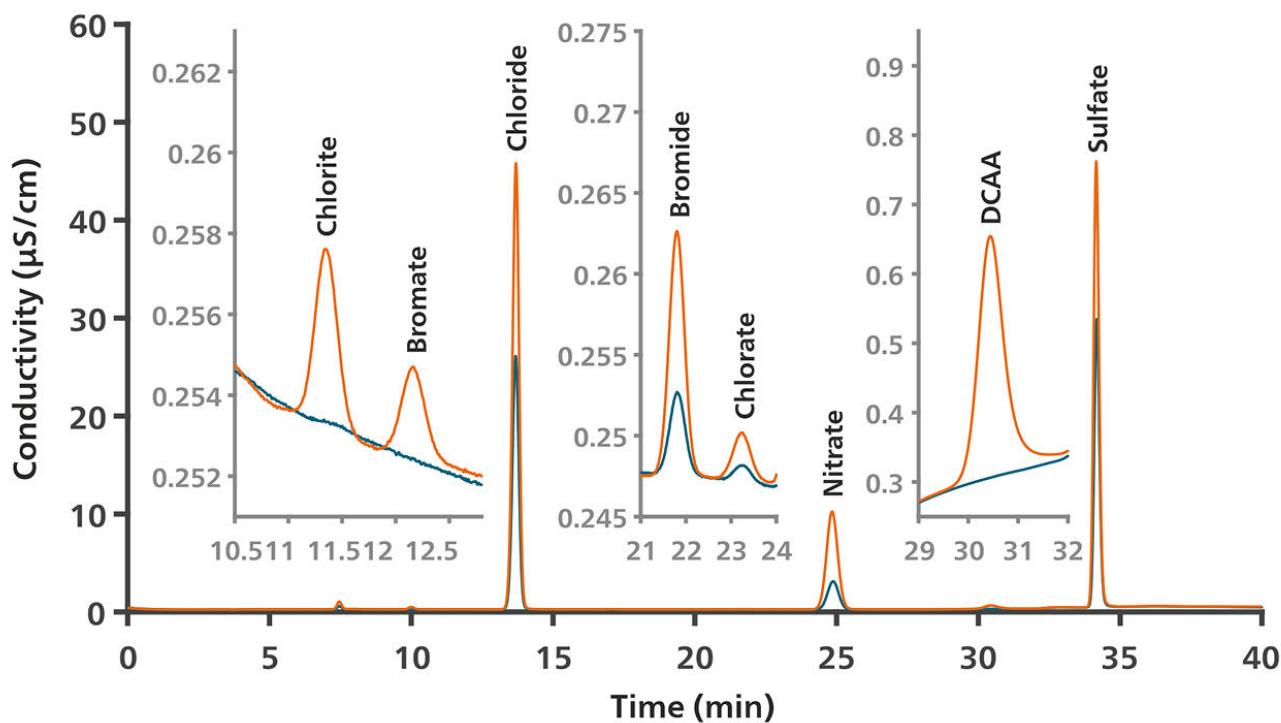


Figure 3. Cromatograma de una muestra de agua mineral analizada según U.S. EPA 300.1 Partes A y B [1]. La línea azul corresponde a la muestra de agua original (72 $\mu\text{g}/\text{L}$ de fluoruro con un tiempo de retención de 7,6 min; 0 $\mu\text{g}/\text{L}$ de clorito, bromato, fosfato y DCAA; 10,9 mg/L de cloruro; 9 $\mu\text{g}/\text{L}$ de bromuro; 3 $\mu\text{g}/\text{L}$ de clorato; 3,8 mg/L de nitrato; 13,9 mg/L de sulfato). La línea naranja corresponde a la muestra de agua mineral enriquecida con una solución de adición mixta (Tabla 1). La elución en gradiente de los analitos (18–80 mmol/l de KOH) se realizó en la columna Metrosep A Supp 21 de alta capacidad (volumen de inyección de 50 μl) antes de la detección de conductividad secuencialmente.

RESULTADOS

Como la compatibilidad de la matriz siempre es un problema para el análisis de la calidad del agua potable, se probó el efecto de varios componentes de la matriz (por ejemplo, cloruro, como se muestra en la Figura 4) para verificar la calidad de la separación. Las altas concentraciones de cloruro generalmente afectan los picos de bromato y nitrito y afectan la integración adecuada. Sin embargo, para una concentración de hasta 500 mg/L de cloruro, los picos de bromato y nitrito están bien separados del cloruro (resolución >3), lo que permite una cuantificación precisa.

No se produjeron alteraciones cuando el nitrato (que tiene un efecto sobre el clorato) estaba presente hasta 200 mg/L y el sulfato (con un efecto sobre el DCAA) estaba presente en concentraciones de hasta 500 mg/L.

También pueden ocurrir interferencias por ácidos orgánicos de elución temprana (p. ej., glicolato, formiato y acetato). Las pruebas demostraron que incluso si estaba presente glicolato (el ácido orgánico que eluye más cercano al fluoruro), no se observó coelución entre estos dos iones y se obtuvo una resolución adecuada (2.1).

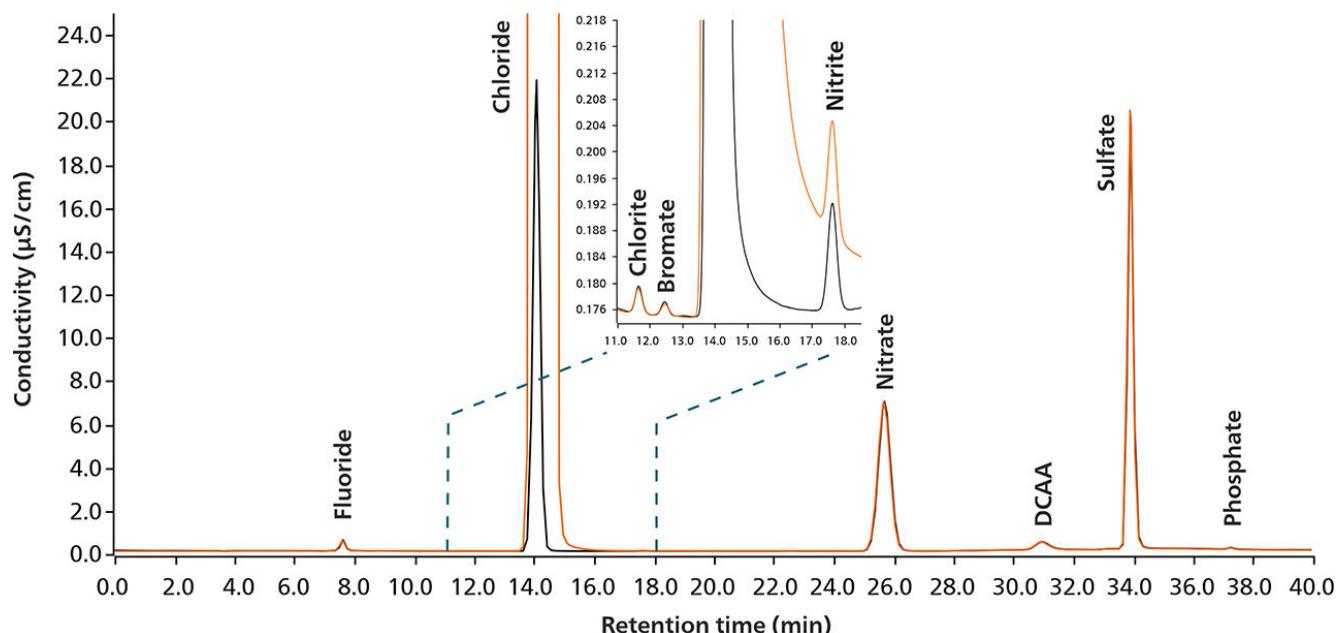


Figura 4. Superposición de chromatograma para un estándar mixto (Tabla 1, solución de adición, negro) fortificado con 300 mg/L de cloruro (naranja). La elución en gradiente de los analitos (18–80 mmol/L KOH), antes de la detección de conductividad suprimida secuencialmente, se realizó con la columna de alta capacidad Metrosep A Supp 21 (volumen de inyección 50 µL). La recuperación de los iones más influenciados por altos contenidos de cloruro arrojó un 98% para nitrito y un 97% para bromato.

Esta aplicación se centra en la separación y medición de altas concentraciones de aniones inorgánicos (p. ej., cloruro, nitrato y sulfato) junto con concentraciones más bajas de subproductos de desinfección (DBP, es decir, bromato, clorito y clorato) y nitrito y bromuro en una única ejecución de análisis mediante cromatografía iónica. Para realizar mediciones precisas en un amplio rango de concentraciones se necesita un detector con alta linealidad, como el IC Conductivity Detector MB (rango de linealidad de 0 a 15 000 µS/cm), una columna de alta capacidad (Metrosep A Supp 21) para una separación de picos adecuada y una línea base baja con una excelente relación señal/ruido para alcanzar los límites de detección más bajos.

El módulo de IC continuo 948, CEP, en combinación con el supresor diseñado para eluyentes de hidróxido (MSM-HC Rotor A, Hydroxide), garantiza las mejores condiciones analíticas: un eluyente de alta pureza, una línea base baja y las mejores relaciones señal/ruido. La producción automática, casi sin reactivos, de eluyente de hidróxido a partir de un concentrado de alta pureza (solución de hidróxido de potasio de 4 mol/L, Supelco, Merck) y la generación de gradientes sencilla y directa eliminan los pasos manuales y los errores humanos asociados. Esto proporciona condiciones de elución estables, lo que

da como resultado tiempos de retención estables y es una solución sostenible y rentable para cualquier laboratorio.

La columna Metrosep A Supp 21, diseñada para eluyentes de hidróxido, permite una alta resolución de todos los analitos requeridos en el Método 300.1 Partes A y B de la EPA de EE. UU., así como en ISO 10304-1 e ISO 10304-4. Originalmente, estas normas pretendían que el análisis se realizara con dos métodos separados para determinar con precisión los aniones estándar altamente concentrados junto con los aniones traza. De hecho, muchos métodos carecen de una resolución adecuada y una sensibilidad suficiente, y se necesitan dos métodos separados para los análisis, lo que reduce drásticamente el rendimiento de la muestra.

Metrohm ofrece una forma muy completa de combinar las dos partes de la norma EPA 300.1 sin ninguna pérdida de calidad mediante el uso de una configuración con la columna de separación Metrosep A Supp 21 - 250/4.0 en combinación con la generación automática de eluyente de hidróxido de alta pureza y la detección de conductividad después de la supresión secuencial y la calibración automática en línea.

Con esta configuración eficiente, los laboratorios de agua pueden cumplir con los estándares habituales

REFERENCIAS

1. U.S. EPA. U.S. EPA Method 300.1: Determination of Inorganic Anions in Drinking Water by Ion Chromatography, Revision 1.0, 1997.
2. Boorman, G. A.; Dellarco, V.; Dunnick, J. K.; et al. Drinking Water Disinfection Byproducts: Review and Approach to Toxicity Evaluation. *Environmental Health Perspectives* **1999**, *107*, 207–217. [DOI:10.2307/3434484](https://doi.org/10.2307/3434484)
3. Jackson, P. E. Ion Chromatography in Environmental Analysis. In *Encyclopedia of Analytical Chemistry*; Meyers, R. A., Ed.; Wiley, 2000. [DOI:10.1002/9780470027318.a0835](https://doi.org/10.1002/9780470027318.a0835)
4. ISO. ISO 10304-4:2022 - Water Quality – Determination of Dissolved Anions by Liquid Chromatography of Ions – Part 4: Determination of Chlorate, Chloride and Chlorite in Water with Low Contamination, 2022.
5. ISO. ISO 10304-1:2007 - Water Quality – Determination of Dissolved Anions by Liquid Chromatography of Ions – Part 1: Determination of Bromide, Chloride, Fluoride, Nitrate, Nitrite, Phosphate and Sulfate, 2007.

CONTACT

Metrohm Hispania
Calle Aguacate 15
28044 Madrid

mh@metrohm.es

CONFIGURACIÓN



948 Continuous IC Module, CEP

Con el 948 Continuous IC Module se generan eluyentes de hidróxido de forma automática. Se pueden producir eluyentes isocráticos y también se pueden realizar procedimientos de elución con gradiente.

El 948 Continuous IC Module, CEP está integrado por los siguientes componentes:

- 948 Continuous IC Module
- Eluent Producer Cartridge (EPC, 6.02850.200)
- Trampa aniónica continua (CT, 6.02850.100)
- Desgasificador de alta presión (H-DEG, 6.02850.000)

Ejemplos de método según el manual del 948 Continuous IC Module.



930 Compact IC Flex SeS/Deg

El 930 Compact IC Flex SeS/Deg es un aparato inteligente Compact IC con **supresión secuencial y desgasificador** incorporado. Para la regeneración del supresor se puede emplear un 800 Dosino. El aparato se puede emplear con cualquier método de separación o de detección.

Ámbitos típicos de aplicación:

- Determinaciones de cationes o aniones con supresión secuencial y detección de conductividad



Juego de accesorios Cl: Dosino, regeneración

Set de accesorios para el montaje de un Dosino para la regeneración automática de Metrohm Suppressor Module (MSM).



Metrosep A Supp 21 - 250/4,0

Las columnas Metrosep A Supp 21 están diseñadas para la operación con eluyentes a base de hidróxido y ofrecen una extraordinaria eficacia de separación combinada con una capacidad muy elevada. Las partículas pequeñas ($4,6 \mu\text{m}$) a base de poliestireno-divinilbenceno hidrofilizado garantizan picos pronunciados. La fase estacionaria muestra una gran estabilidad a la temperatura, la presión y el valor de pH; por ello es adecuada para condiciones de trabajo extremas.

La versión más extensa de las columnas Metrosep A Supp 21 - 250/4,0 ha sido desarrollada especialmente para la determinación de oxohalogenuros (clorito, bromato, clorato), aniones estándar (fluoruro, cloruro, nitrito, bromuro, nitrato, sulfato y fosfato) y DCAA (dicloroacetato). Gracias a su eficacia de separación, supera los requisitos del método estadounidense EPA 300.1 A+B y la norma DIN EN ISO 10304-1&4. La elevada capacidad de la columna permite la cuantificación de aniones y oxohalogenuros en bajas concentraciones a nivel de $\mu\text{g/L}$ con excelente reproducibilidad, incluso en las matrices de muestras más exigentes. La amplia variedad de condiciones de elución disponibles permite también determinar otros componentes aniónicos como, por ejemplo, los ácidos orgánicos de bajo peso molecular.



Juego de accesorios Cl: MiPT

Set de accesorios para el montaje de un Dosino para Partial Loop Injection.