

## Aplicaciones de la cromatografía iónica en curtidos. Parte2

C. Pérez, M. Reyes, N. Pascual, M. Cobos, J. Ibáñez, R. Molina, J. Font  
 Escola d'Enginyeria d'Igualada (UPC BarcelonaTech), Igualada, Barcelona, Spain.

**La Parte 1 de este trabajo se publicó en el número 2, Volumen 66 (2015) del Journal of AQEIC.**

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1. Determinación de aniones mediante cromatografía iónica y detección UV indirecta

##### 3.1.1. Influencia de los principales factores que afectan la separación. Selección de las condiciones cromatográficas

Se estudió la influencia de los principales los factores que afectan la separación cromatográfica con el objetivo de definir las condiciones que permitieran determinar simultáneamente y en un menor tiempo los aniones cloruro, fluoruro, fosfato, sulfato, nitrato, nitrito y bromuro.

Se evaluaron los siguientes factores: temperatura, concentración de acetonitrilo en la fase móvil, pH de la fase móvil y concentración de biftalato potásico.

En todas las pruebas se trabajó a un flujo de 0.9 mL/min y a una longitud de onda de 260 nm:

- Autores que han evaluado la relación flujo/separación cromatográfica, han concluido que valores elevados de flujo disminuyen el tiempo de retención [16]. (El valor de flujo 0.9 mL/min, corresponde al 90% máximo permitido por la columna).

- Se observó la imposibilidad de trabajar a longitudes de onda inferiores a 254 nm debido a un exceso de ruido que no permitía distinguir entre los picos de los analitos en el cromatograma. Este dato también ha sido observado en otras publicaciones [16, 17,18].

En cada ensayo se cromatografió un patrón multicomponente de concentración del orden de 40 ppm en cada anión (fosfato, fluoruro, cloruro, nitrito, bromuro, nitrato, sulfato). Los volúmenes de inyección fueron 20 µL en todas las pruebas y las inyecciones se realizaron por duplicado.

##### a) Influencia de la temperatura:

Se cromatografió el patrón a diferentes valores de temperatura (24, 27 y 30°C). Se utilizó biftalato potásico 2mM con un 8% (V/V) de

acetonitrilo y pH 5.22. Se repitió el estudio con porcentajes de acetonitrilo del 6% y 10%.

En ningún caso se apreciaron diferencias importantes en el tiempo de retención de los aniones.

Las condiciones de trabajo utilizadas en este apartado no permitieron separar los aniones fluoruro y fosfato

Aunque la temperatura no afectó al tiempo de retención, se recomienda un control de este parámetro para conseguir resultados más reproducibles. Se optó por la temperatura de 30°C porque es más fácil reproducirla en las diferentes épocas del año. (El cromatógrafo dispone de horno con sistema de calefacción pero no de refrigeración).

##### b) Influencia del contenido de acetonitrilo de la fase móvil

Se evaluaron tres fases móviles, todas a una concentración 2mM de ftalato ácido de potasio, contenidos crecientes de acetonitrilo (6%, 8% y 10%) y pH final 5.00. En cada ensayo se cromatografió por duplicado el patrón multicomponente.

El rango de valores de acetonitrilo estudiado produjo pocas diferencias en los tiempos de retención. En ninguna de las pruebas se consiguió la separación entre fosfato y fluoruro. Se recomienda un 8% de acetonitrilo para conseguir el menor tiempo de análisis.

Se repitió el experimento a pH 5.22, observándose la misma tendencia en los resultados.

##### c) Influencia del pH de la fase móvil

Se prepararon fases de biftalato potásico 2 mM y 10% de acetonitrilo a diferentes valores de pH (5.00, 5.22, 6.50). Se cromatografió un patrón multicomponente con cada uno de los anteriores eluyentes. Se evidenció que a pH 6.50:

- Tiene lugar la separación de todos los analitos (incluso fluoruro y fosfato) y con una resolución superior a 1.5 entre cada dos picos consecutivos.

- Disminuye el tiempo de retención de todos los aniones (excepto el del fosfato, que permanece invariable).

Se muestra el cromatograma obtenido a pH 6.50 (Figura 1) y el efecto del pH sobre el tiempo de retención (Figura 2).

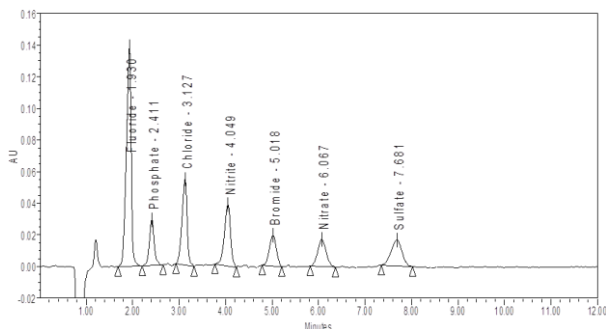


Figura 1. Cromatograma obtenido con fase móvil 2mM en ftalato ácido de potasio al 10% ACN (v/v), pH 6.50, 30°C

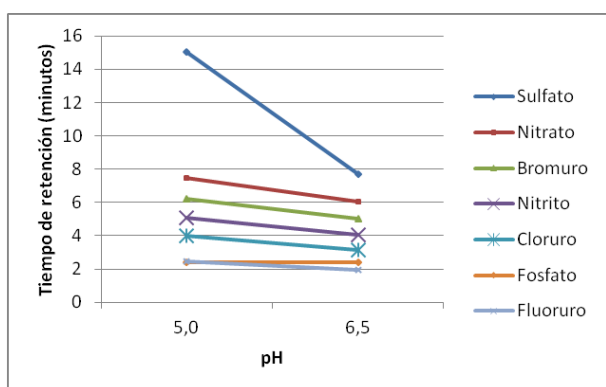


Figura 2. Influencia del pH sobre el tiempo de retención (fase móvil 2mM en ftalato ácido de potasio y 10%ACN)

d) Influencia de la concentración de la especie absorbente en la fase móvil

Se cromatografió el patrón multianión con fase móvil biftalato a diferentes valores de concentración y de pH: 1mM con 8% acetonitrilo y pH 5.46, 1mM con 8% de acetonitrilo y pH 6.18, 2mM con 10% acetonitrilo y pH 6.50.

Las pruebas realizadas a la concentración 1mM y pH 5.40 no permitieron la separación total de los analitos fosfato y fluoruro.

La concentración 2 mM de biftalato a pH 6.5 consiguió menor tiempo total de análisis (7.7 minutos frente a los 15 minutos obtenidos con el eluyente 1mM a pH 6.18).

Se determinó el límite de detección (LOD) (Tabla 1), definido por la relación señal/ruido de 3 (S/N=3), para algunos aniones y utilizando las dos condiciones cromatográficas propuestas. Se observó que la concentración 1mM en biftalato sódico proporciona mayor sensibilidad, mientras que la de 2mM acorta el tiempo de análisis.

detección (mg/L)	1mM Biftalato potásico, 8% ACN, pH 6.18 (260nm)	2mM Biftalato potásico, 8% ACN, pH 6.50 (260nm)
Cloruro	0.10	0.41
Nitrato	0.30	0.99
Fosfato	0.42	1.07
Sulfato	0.75	1.54

Tabla 1. Límites de detección de diversos aniones a diferentes concentraciones de la fase móvil

e) Propuesta de las condiciones cromatográficas

La Tabla 2 resume las dos condiciones cromatográficas que proporcionan una óptima selectividad en la determinación de los aniones de interés, dependiendo de la necesidad de priorizar menor tiempo de análisis o mayor sensibilidad.

<b>Temperatura de la columna</b>	30 ± 1 ° C
<b>Fase móvil</b>	<b>Menor tiempo (Tr sulfato: 8 minutos):</b> 2mM en biftalato potásico y 8 % de acetonitrilo a pH final 6.50
	<b>Mayor sensibilidad (Tr sulfato: 15 minutos):</b> 1mM en biftalato potásico y 8% de acetonitrilo a pH final 6.18
<b>Longitud de onda</b>	260 nm
<b>Flujo</b>	0.9 mL/minuto

Tabla 2. Propuesta de condiciones cromatográficas óptimas para el análisis con detección indirecta

### 3.1.2. La linealidad del método cromatográfico con detección indirecta

Se prepararon patrones de calibración a partir de patrones multielementos de 1000 mg/L en el intervalo de concentraciones de 5.00 hasta 100.00 mg/L de fosfato, formiato, cloruro, bromuro, nitrato y sulfato utilizando las dos condiciones cromatográficas de la Tabla 2. Se midieron las áreas de los picos para la construcción de curvas de calibración. En todos los casos el coeficiente de correlación fue superior a 0.9997.

Límite de	Fase móvil	Fase móvil
-----------	------------	------------

### 3.1.3. Estudio del porcentaje de recuperación del proceso de extracción en fase sólida aplicado a muestras de colorantes y naftalensulfónicos

La columna cromatográfica utilizada en este trabajo no admite componentes no iónicos, y, como precaución, se realizó un pretratamiento de extracción en fase sólida (SPE) a las muestras de colorantes y naftalensulfónicos (debido a la posibilidad que presentasen resinas acrílicas o aceites). En el análisis de las mimosas no se realizó dicho tratamiento porque al ser extractos acuosos de corteza no contienen componentes lipófilos.

Para evaluar el efecto del pretratamiento SPE sobre el contenido aniónico se realizó un estudio de recuperación. La prueba consistió en cromatografiar tres patrones multianión (25 mg/L en cada anión) sin y con filtración en cartuchos SPE. La Tabla 3 muestra los resultados obtenidos.

Anión	Fluoruro	Fosfato	Cloruro	Bromuro	Nitrato	Sulfato
% Recuperación	99.5	98.4	99.1	98.4	99.1	99.3

Tabla 3. Resultados de la evaluación del efecto del pretratamiento SPE sobre el contenido aniónico

Se comprobó que el proceso de filtración con cartuchos SPE, aplicado a las muestras de colorantes y naftalensulfónicos, no producía pérdidas de aniones.

### 3.1.4. Determinación de impurezas en productos químicos comerciales (colorantes, dispersantes naftalensulfónicos, extractos de mimosa y ácidos fórmicos) mediante detección indirecta

Se analizaron dos muestras de colorantes pardo para bombo comercializados en el mercado español, dos muestras de naftalensulfónicos, dos de mimosas y otras dos de ácidos fórmicos concentrados.

La **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** expresa los contenidos de las

impurezas detectadas en los productos analizados.

Tabla 4. Contenido de impurezas aniónicas (% en peso) en los productos químicos analizados

Las dos muestras de colorantes proporcionaron impurezas de cloruros y sulfatos. Las muestras de mimosas analizadas no produjeron ningún pico en los cromatogramas. Ambas muestras de naftalensulfónicos presentaron impurezas de sulfatos. Respecto a las muestras de ácidos fórmicos, en una de ellas se detectaron impurezas de sulfato y en otra de cloruros.

	Cloruros (expresado como % NaCl)	Sulfatos (expresado como % Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )
Colorante A	18,7	45,1
Colorante B	14,0	45,6
Naftalensulfónico A		18.0
Naftalensulfónico B		29.9
Ácido Fórmico A	0.60	
Acido Fórmico B		12.3

Las siguientes figuras (Figura 3, Figura 4 y Figura 5) muestran, respectivamente, cromatogramas de un colorante, un naftalensulfónico y un ácido fórmico.

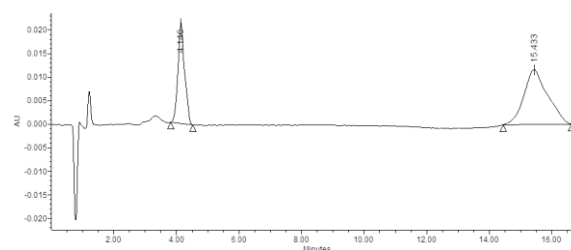


Figura 3. Cromatograma de una muestra de colorante pardo para bombo. Picos: Cloruro 4.140 min; Sulfato 15,433 min. (Detección indirecta)

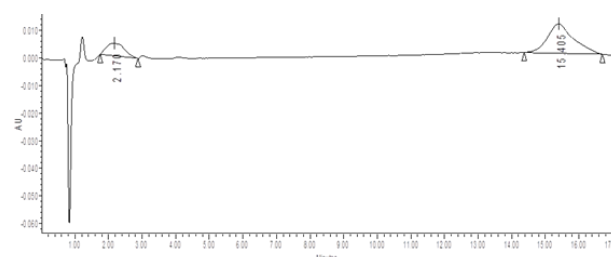


Figura 1. Cromatograma de una muestra de naftalensulfónico. Pico de sulfato 15.405 min. (Detección indirecta)

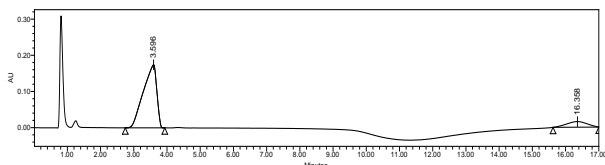


Figura 2. Cromatograma de una muestra de ácido fórmico. Picos: Formiato 3.596, Sulfato 16.358 min. (Detección indirecta)

### 3.2. Determinación de aniones mediante cromatografía iónica y detección ultravioleta directa

Se realizaron ensayos preliminares que permitieron establecer las condiciones cromatográficas adecuadas para el análisis de aniones mediante detección UV directa y utilizando sulfato sódico como eluyente: flujo 0.9 mL/min, fase móvil 1mM en sulfato sódico, 8% (V/V) de acetonitrilo y pH final  $6.80 \pm 0.1$ , temperatura  $30 \pm 1$  ° C, detección con PDA y recuperación del cromatograma a 202 nm para formiato y acetato y 210 nm para nitrato, nitrito y bromuro.

#### 3.2.1. La linealidad del método cromatográfico con detección directa

Se comprobó la linealidad de las rectas de calibración para los aniones nitrato, nitrito, bromuro, formiato y acetato. El intervalo de concentraciones utilizado en la construcción de las rectas de calibración fue de 5 a 40 ppm para el nitrato, nitrito y bromuro y de 5 a 100 para los aniones acetato y formiato. En todos los casos se obtuvieron coeficientes de correlación superiores a 0,9999.

#### 3.2.2. Cuantificación de ácidos fórmicos comerciales (detección directa)

El método se aplicó a tres muestras de ácido fórmico comercial de concentraciones 85'9%, 85'5% y 85'0% (m/m) respectivamente. Estos valores de concentraciones, indicados en la etiqueta (teóricos), se obtuvieron por valoración ácido-base.

La **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** permite comparar los valores teóricos con los experimentales obtenidos mediante cromatografía iónica.

	Valor teórico ,Acidez total Volumetría ,(%ácido fórmico)	Valor experimental, Cromatografía iónica,(% ácido fórmico)
Ácido fórmico 1	85'9%	83'0%

Ácido fórmico 2	85'5%	84'6%
Ácido fórmico 3	85'0%	83'4%

Tabla 5. Comparativa contenidos ácido fórmico (método volumétrico y método cromatográfico)

Las tres muestras analizadas por cromatografía proporcionaron porcentajes de ácido fórmico similares a los valores teóricos, pero ligeramente inferiores a los de la etiqueta. Este hecho es lógico porque con cromatografía iónica sólo se cuantifica el ácido fórmico, mientras que la valoración de neutralización determina la acidez total presente en una muestra. El método volumétrico está expuesto a las interferencias de las trazas de otros ácidos, mientras que el cromatográfico es específico del ácido fórmico.

La Figura 8 muestra el cromatograma obtenido en una de las muestras de ácido fórmico:

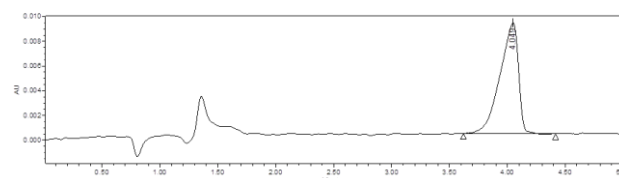


Figura 3. Cromatograma de una muestra de ácido fórmico comercial (detección directa). Pico: Formiato 4.049 min

### 3.3. Determinación de aniones en piel

La Tabla 6 recoge las muestras analizadas. En cada apartado se especifica la piel que se ensayó.

Piel	Descripción
1	Curtida al cromo, color marrón
2	Wet-blue
3	Vegetal, color marrón claro
4	Serraje marrón-rojizo
5	Serraje no teñido, color azul
6	Vegetal, marrón claro
7	Vegetal, color mostaza
8	Vegetal, sandalias
9	Piel acabada, vacuno, marroquinería (Bolsos de lujo), color amarillo
10	Piel acabada, vacuno, para marroquinería de lujo, color verde
11	Piel acabada, vacuno, para carteras de lujo, color marrón
12	Piel acabada, cordero, napa confección

Tabla 1. Descripción de las muestras de piel

#### 3.3.1. Comprobación de la eficacia de la extracción de los aniones del cuero

Se realizó un estudio de la mejora del proceso de extracción centrado en dos factores importantes: la velocidad y el número de extracciones.

La extracción de los aniones del cuero se basó en la norma UNE-EN ISO 4098:2006 (IUC6), pero con alguna modificación: no se realizó desengrasado previo, se utilizó 1 g de cuero y 50 mL de agua (se conservaron las proporciones agua/piel).

### Efecto de la velocidad en la eficacia de la extracción

Se comparó el contenido aniónico extraído en 4 muestras de cuero (pieles 1, 4, 6 y 7 de la Tabla 8) utilizando dos velocidades de agitación durante la etapa de extracción:  $50 \pm 10$  rpm (extracción lenta, la recomendada por la IUC6) y  $170 \pm 10$  rpm (extracción rápida).

En dos de las muestras estudiadas (pieles 1 y 4 de la Tabla 8) la extracción rápida proporcionó contenidos aniónicos superiores: entre un 12-56 % más que la extracción lenta, dependiendo del anión analizado. En las otras dos muestras no se observaron diferencias entre ambas velocidades de agitación.

En ningún caso la extracción lenta proporcionó contenidos aniónicos superiores a los obtenidos con la extracción rápida. Estas pruebas permitieron comprobar la importancia de la velocidad de extracción. Si se sigue la velocidad recomendada por la normativa, en algunas pieles puede dejarse de extraer más de un cincuenta por ciento de los aniones que contienen.

La Figura 4 muestra un cromatograma comparativo de los extractos de una misma piel a las dos velocidades de agitación ensayadas.

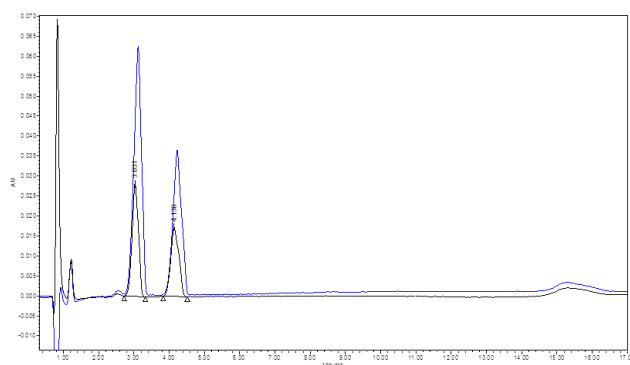


Figura 4. Cromatograma comparativo de los extractos de la piel 1 a diferentes velocidades. Extracción rápida (azul) y extracción lenta (negra)

### Comparativa entre la extracción simple y la múltiple

Se realizaron extracciones consecutivas de 12 muestras de piel para determinar si una única extracción permitía extraer la totalidad de los aniones y, en caso contrario, establecer el número de extracciones sucesivas necesarias para conseguir tal fin. Se repitieron las extracciones hasta conseguir concentración constante de aniones extraídos. Se trabajó a  $170 \pm 10$  rpm durante la extracción.

La segunda extracción y las posteriores se llevaron a cabo partiendo de la piel filtrada. Mediante las correspondientes pesadas se calculó el contenido aniónico del extracto que acompañaba la piel húmeda después de cada extracción. Este valor permitió corregir la concentración (restando al valor cuantificado por cromatografía)

En el 50% de las pieles analizadas se consiguió extraer aproximadamente el 75% del contenido aniónico con una única extracción. El resto de las pieles requirieron de 3 a 4 extracciones consecutivas hasta conseguir constancia en la concentración aniónica extraída.

La Figura 8 compara los cromatogramas de tres extracciones consecutivas de la piel 12 (detección indirecta). En cada uno de los aniones del cromatograma el pico de mayor área corresponde a la primera extracción.

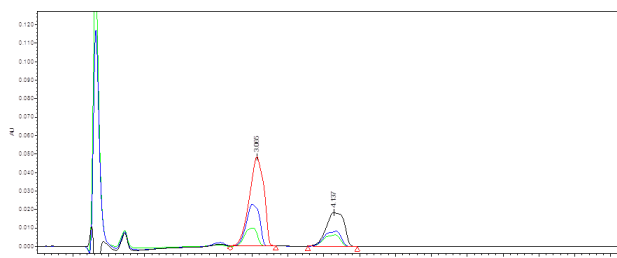


Figura 8. Cromatograma comparativo de tres extracciones consecutivas de la piel 12.

### Análisis de muestras de cuero

Las concentraciones aniónicas encontradas en las doce muestras analizadas (Tabla 6) variaron según la piel. Las pieles analizadas contienen formiato en concentraciones máximas de 8900 mg/Kg de piel. En el caso del anión cloruro, la concentración oscila entre 1-38211 mg/Kg de piel. Para el anión sulfato se obtuvieron unas concentraciones entre 51-9982 mg/Kg de piel.

# TOGETHER WE ARE STAHL

Now Clariant's Leather Business is part of Stahl. Together we will offer an increased level of service to the leather and performance coatings industries. As of now Stahl will cover the whole leather processing chain. Our expanded market coverage will result in clear advantages such as more innovation, greater expertise in sustainability and the best in class technical service. **Today we combine all our talents, our skills, our ideas and our passion. We are Stahl.**



**CLARIANT**  
LEATHER SERVICES

## WORLDWIDE COVERAGE

- 1 HQ
- 11 PLANTS
- 42 APPLICATION LABS / SALES OFFICES
- 1800+ EMPLOYEES

**HQ** Headquarters Stahl  
Waalwijk, Netherlands



En este estudio se observó que las cuatro pieles acabadas contenían nitrato en concentraciones entre 40-800 mg/Kg. En dos de las pieles acabadas se encontraron fosfatos (133 y 287 mg/Kg piel en cada una de ellas).

### Precisión y Recuperación en la determinación de aniones en piel

La reproducibilidad del método se evaluó realizando para una misma piel cinco análisis diferentes a lo largo de un mes, en fechas equidistantes y con una única extracción (Tabla 7).

	Formiato (detección directa)	Formiato (detección indirecta)	Cloruro (detección indirecta)	Sulfato (detección directa)
	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg
<b>Promedio (mg/Kg de piel)</b>	5697	6069	1286	1345
<b>±RSD (%)</b>	±3,0	± 4,1	±3,0	±1,2

Tabla 7. Reproducibilidad (promedio de cinco réplicas de la piel 4, una extracción, analizadas en el intervalo de un mes)

Para determinar la repetibilidad de la extracción se realizaron cinco extracciones el mismo día (mismo analista). La Tabla 8 recoge los resultados.

	Formiato (detección directa)	Formiato (detección indirecta)	Cloruro (detección indirecta)	Sulfato (detección indirecta)
	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg
<b>Promedio mg/Kg de piel</b>	5550	6051	1292	1339
<b>±RSD (%)</b>	±4,3	±3,7	±3,7	±0,77

Tabla 8. Repetibilidad de la extracción (cinco extracciones)

Se evaluó la repetibilidad del análisis cromatográfico introduciendo dos viales del primer extracto de una muestra de la piel 4 y programando cuatro inyecciones en el cromatógrafo (dos para cada vial) (Tabla 2)

	Formiato (detección directa)	Formiato (detección indirecta)	Cloruro (detección indirecta)	Sulfato (detección indirecta)
	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg
<b>Promedio (mg/Kg de piel)</b>	5732	5798	1800	2060
<b>±RSD (%)</b>	±0,33	±0,37	±0,13	±1,6

Tabla 2. Repetibilidad de la inyección cromatográfica

La determinación de la tasa de recuperación es importante para evaluar el desempeño general del método analítico y también permite detectar errores sistemáticos debido a la matriz de la muestra. Se adicionó a una muestra de 1 g de piel una alícuota de 50 mL de solución patrón de concentración conocida (50 mg/L de formiato, 15mg/L de cloruro i 15 mg/L de sulfato). Se realizó la extracción y el correspondiente análisis cromatográfico para cada una de las cinco réplicas de la piel 4. Las tasas de recuperación obtenidas cumplen la recomendación de 80-120% para el límite de recuperación, como se muestra en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..**

	Formiato (detección directa)	Formiato (detección indirecta)	Cloruro (detección indirecta)	Sulfato (detección indirecta)
% Recuperación				
<b>Promedio</b>	<b>99</b>	<b>99</b>	<b>125</b>	<b>118</b>

Tabla 10. Tasas de recuperación en la determinación de aniones en piel



- ▲ Especialmente diseñado para cueros hidrofugados con altos requerimientos en el test Maeser.
- ▲ Se fija con curtientes minerales.
- ▲ Tinturas igualadas.
- ▲ Tacto agradable y excelente plenitud.



**CROMOGENIA-UNITS, S.A.**

Farell, 9 - 08014 Barcelona (Spain)  
Tel. (34) 93 432 94 00  
Fax (34) 93 422 60 14  
E-mail: [cromogenia@cromogenia.com](mailto:cromogenia@cromogenia.com)  
[www.cromogenia.com](http://www.cromogenia.com)



#### 4. Conclusiones

La técnica HPLC con una fase estacionaria de intercambio iónico y detección UV proporciona un método fiable para la cuantificación simultánea de aniones absorbentes y no absorbentes en el ultravioleta presentes en diferentes muestras del sector de curtidos.

Mediante la detección indirecta se han determinado contenidos de cloruros y sulfatos en productos químicos comerciales. Se han cuantificado ácidos fórmicos utilizando la detección directa. La gran ventaja de este sistema de detección es que permite comprobar la identificación del anión formiato comparando los espectros UV-VIS del patrón y de la muestra. El método cromatográfico permite el análisis específico del ácido fórmico, mientras que el método volumétrico determina la acidez total presente en la muestra por lo que está expuesto a las interferencias de las trazas de otros ácidos.

El estudio de la mejora del proceso de extracción de aniones en el cuero se ha centrado en dos factores importantes: la velocidad y el número de extracciones. Los resultados obtenidos confirman que la velocidad descrita en la norma UNE-EN ISO 4098:2006 (IUC6) y la realización de una única extracción, son insuficientes para extraer la totalidad de los aniones:

- Se propone trabajar a una velocidad de  $170 \pm 10$  rpm (régimen turbulento) porque se obtienen resultados que son siempre mejores o iguales a los obtenidos con la velocidad indicada por la norma.

-Los análisis de doce muestras de piel han permitido concluir que en el 50% de las muestras se consigue extraer, con una única extracción, aproximadamente el 75% del contenido aniónico. Se ha observado que en las pieles acabadas el rendimiento de una única extracción es muy inferior al obtenido en las pieles no acabadas. Probablemente sería conveniente realizar un desengrase para determinar más eficazmente los aniones en las pieles acabadas. No obstante, esta conclusión debería confirmarse con un abanico más amplio de pieles.

Determinamos que los procedimientos descritos en la norma UNE-EN ISO 4098:2006 (IUC6), proporcionan solo cálculos estimativos y los resultados obtenidos con esta norma cometen sistemáticamente un error por defecto. Se obtiene un resultado muy inferior al real porque la norma indica una única extracción. Tal y como indica la literatura sobre la operación de extracción [19], siempre es más eficaz la extracción múltiple que la simple, hecho que apoya los resultados obtenidos en este estudio.

En algunas pieles, las que contienen fosfatos, la determinación del anión formiato es más compleja porque el tiempo de retención es el mismo para los dos aniones cuando se utiliza la detección indirecta. Pero se ha diseñado un protocolo que permite la cuantificación del formiato en presencia de fosfatos.

Se han obtenido datos de exactitud y precisión que servirán para una futura validación del método de análisis de aniones en pieles.

## Referencias bibliográficas

1. Font, J. *Análisis y ensayos en la industria del curtido*. Igualada : Escola Universitària d'Enginyeria Tècnica d'Igualada, 2007
2. Swartz, M. Ion Chromatography: An Overview and Recent Developments.LC-GD Chromatographonline.com. [En línea] 2010. [Consulta: 2 / 1 / 2015].Disponible a : <http://chromatographyonline.findanalytichem.com/lcgc/article/articleDetail.jsp?id=680293>
3. Trujillo E. et al. Evaluación de la Cromatografía Iónica para Fomentar su uso en la Investigación y Estudios de Posgrado en Ciencias del Agua. *Formación Universitaria. Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Ingeniería*. 2009, vol. 2, núm.1, p. 7-16
4. Claves en HPLC. *Química Informa. Boletín del Centro de Investigación y Desarrollo en Química y Petroquímica del INTI*. [En línea] . Mayo 2002, año 9,núm. 1,p.6 [Consulta: 1 / 1 / 2011].Disponible a [www.inti.gov.ar/quimica/quimicainforma/pdf/mayo2002.pdf](http://www.inti.gov.ar/quimica/quimicainforma/pdf/mayo2002.pdf)
5. Harrys D.C. *Análisis químico cuantitativo*. 3ª edició.Barcelona: editorial Reverté, 2007, p. 467
6. EN ISO 13365 Standard, Determination of preservative content (TCMTB-OPP- CMK-OIT) in leather, 2011, equivalent to IUC 29.
7. Font, J., Reyes, M., Cuadros, S. J. et al., Determination of TCMTB and other fungicides in leather. *J.Amer.Leather Chem. Ass.*, 2011, 106, 341.
8. Font, J., Reyes, M., Cuadros, S. et al., Determination of fungicides in residual tanning floats using Solid Phase Micro Extraction. *J.Amer.Leather Chem.Ass.*, 2013, 108, 41.
9. Beltran, J. et alt. Analisis de residus de plaguicidas en productos agroalimentarios por tecnicas cromatograficas. *Cromatografia y técnicas afines*. 1990, vol.11, num.1 p.11-20. .[en línea]. [consulta:25/04/15].Disponible a : <https://www.secyta.es/sites/default/files/docs/journals/1990/VOL11NUM1%201990.pdf>
10. Ahuja, S., Dong, M. W. *Handbook of pharmaceutical analysis by HPLC*. Boston : Elsevier Academic Press. . 2005, p.64
11. Skoog, D. i J., Leary. *Análisis Instrumental*. 4ªed. McGraw-Hill/Interamericana de España, S.A, 1995.
12. Harris D. C. Analisis químico cuantitativo. 3a edición. México:Grupo Editorial Iberoamericano,1992,p. 52,85-90,671-684.
13. Small, H. *Ion Chromatography*.New York:Plenum Press,1989, p .195-204.
14. Gennaro, A.R. *Remington Farmacia*. Ed. Médica Panamericana, 2003. p.707.
15. Shen, X. and Sterling, A . Indirect Photometric and fluorometric Detection in High-Performance Liquid Chromatography: A Tutorial Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 2007, vol.37, num. 2, p.107-126
16. Natishan T. K.; Sajonz P. Acetate and chloride determination by ion exchange HPLC with indirect photometric detection and its application to a beta-metilcarbapenem antibiotic. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies* ,2001,vol. 24, num.15 p .2583-2599.
17. Fung, Y.; Dao,K.L. Oxygen bomb combustion ion chromatography for elemental analysis of heteroatoms in fuel and wastes development. *Analytica Chimica Acta*,1995, vol.315,p. 347–355.
18. Fung Y.S.; Dao,L. Elemental analysis of chemical wastes by oxygen bomb combustion-ion chromatography. *Analytica Chimica Acta*.1996,vol. 334, p.51–56.
19. David Harvey. *Química analítica moderna*, p149. Apartado 7F.5