

03060

5



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

POSGRADO EN CIENCIAS DE LA TIERRA

DESARROLLO DE UNA TECNICA DE HPLC PARA EL
ANALISIS DE CARBONILOS EN LA ATMOSFERA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
(FISICA DE LA ATMOSFERA)
P R E S E N T A :
GUILLERMO MONTERO MARTINEZ

MEXICO, D. F.

ENERO 2000

273692



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Resumen

Se propone un método de análisis de muestras para la determinación de carbonilos en la atmósfera por medio de un gradiente de elución en cromatografía de líquidos. Se han empleado diferentes métodos de colección y análisis de este tipo de compuestos, los cuales tienen un papel muy importante en la formación de esmog fotoquímico. El presente trabajo proporciona un breve descripción de los métodos más comunes de colección de las muestras atmosféricas así como de las técnicas de análisis más importantes como un antecedente a una modificación en la técnica de análisis que se emplea en el Centro de Ciencias de la Atmósfera de la UNAM. Otro aspecto importante del trabajo es que, durante el mismo, se pudo incrementar el número de carbonilos determinados en las muestras colectadas por el Departamento de Ciencias Ambientales de la mencionada institución durante los años de 1996, 1997 y 1998. Cabe mencionar que el número de especies de carbonilos que se puede detectar por esta técnica puede ser ampliado una vez que se tengan nuevos estándares.

Agradecimientos.

Como hombre religioso es mi deber darle gracias a Dios por el tiempo de vida y la capacidad necesarios que me ha dado.

A mis padres por el apoyo y la educación que me brindaron y que han sido una de las bases más importantes durante mi vida.

A mis hermanos.

A mi asesor, Dr. Luis Gerardo Ruiz Suárez, por su ayuda y guía durante mis estudios y la formulación de la tesis.

A los sinodales y miembros del jurado por su colaboración y opiniones, las cuales fueron muy importantes para mejorar la calidad de este trabajo.

A mis amigos y compañeros, quienes me han animado en el transcurso de mis estudios.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo que me brindo durante mis estudios en el posgrado en Ciencias de la Tierra.

Índice

	Pág.
Introducción	3
Capítulo 1	
Compuestos orgánicos en la atmósfera	
1.1 Generalidades	7
1.2 Compuestos orgánicos que contienen oxígeno	10
1.2.1 Carbonilos alifáticos	11
1.2.2 Carbonilos olefinicos	11
1.2.3 Carbonilos aromáticos	12
Capítulo 2	
Colección de muestras de aire	13
2.1 Burbujeadores	13
2.2 Cartuchos de absorbentes	14
2.3 Despojadores	14
2.4 Cinética de reacción de derivatización con DNPH	16
Capítulo 3	
Métodos para la determinación de carbonilos de bajo peso molecular en la atmósfera	17
3.1 Técnicas espectroscópicas <i>in situ</i>	18
3.2 Técnicas de colorimetría	18
3.3 Técnicas de fluorescencia	19
3.4 Técnicas de análisis de carbonilos por cromatografía	19
3.4.1 Derivatización con 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazina (MBTH)	20
3.4.2 Derivatización de vinilaldehídos con antrona	20
3.4.3 Derivatización con 2,4-DNPH	20
3.5 Límites de detección	24
3.6 Interferencias	25
3.6.1 Dióxido de nitrógeno	26
3.6.2 Óxido nítrico	26
3.6.3 Dióxido de azufre	26
3.6.4 Ozono	26
Capítulo 4	
Cromatografía de líquidos	29
4.1 Clasificación de la cromatografía	30
4.1.1 Elución	32
4.2 Cromatografía de líquidos de alta resolución	32
4.3 Cromatografía en fase reversa	34
4.4 Componentes de un sistema de HPLC	35
4.4.1 Bombas	35
4.4.2 Columnas para HPLC	35

4.4.3 Detectores	37
4.5 Comparación de las técnicas	37
Capítulo 5	
Procedimiento experimental y resultados	39
5.1 Muestras y análisis	39
5.2 Experimentación	40
5.2.1 Preparación de los estándares	40
5.2.2 Obtención de las condiciones de separación por HPLC	41
5.3 Resultados	45
Capítulo 6	
Conclusiones y recomendaciones	50
Apéndice A	
Cromatogramas de los años 1996, 1997 y 1998	53
Apéndice B	
Cromatogramas de las mezclas de estándares y curvas de calibración Obtenidas	61
Apéndice C	
Espectros UV obtenidos y gráficas tridimensionales	81
Apéndice D	
Cromatogramas de resultados	95
Referencias	106

INTRODUCCIÓN.

La atmósfera es una mezcla de gases que rodea la Tierra, envolviéndola en capas concéntricas de espesor y densidad variables. Sujeta a la Tierra por su gravedad, su peso total es, por lo menos, de 5.25×10^{18} kilogramos.

La atmósfera terrestre está compuesta principalmente por nitrógeno y oxígeno. Además de los compuestos anteriores, existen muchas otras especies químicas en la mezcla; aunque su cantidad es mínima, su importancia puede ser muy grande en los procesos que se desarrollan en la atmósfera.

Un ejemplo claro de ello es el vapor de agua. Meteorológicamente el agua es el constituyente más importante en la atmósfera terrestre. Se encuentra presente en altitudes de hasta 13500 metros, en cantidades que varían desde cantidades cercanas a cero en algunas montañas y desiertos, hasta 4 % sobre océanos y mares.

En la troposfera existen cientos de compuestos orgánicos diferentes, particularmente en los ambientes muy contaminados. El grupo de compuestos orgánicos más numeroso es el de los hidrocarburos. Esto hace difícil el estudio de la composición química de estos ambientes.

Durante las últimas décadas se ha incrementado el número de investigaciones mediante las cuales ha sido posible conocer los principales mecanismos de transformación de los compuestos traza en la troposfera. Como resultado de éstas se han logrado desarrollar métodos de muestreo y análisis muy diversos y específicos para determinados tipos de compuestos, así como las diferentes interacciones que ocurren en las capas más cercanas a la superficie del planeta y la evolución de ciertos compuestos en ambientes donde existe una gran masa de compuestos contaminantes.

Un grupo de compuestos que despierta gran interés es el de los carbonilos (aldehídos y cetonas). Estos compuestos son emitidos directamente o bien pueden ser el resultado de las reacciones de una amplia variedad de especies orgánicas presentes en el ambiente. Además, pueden fotolizarse y reaccionar con los radicales $\cdot\text{OH}$ y $\text{HO}_2\cdot$ y con los óxidos de nitrógeno¹.

En la Ciudad de México y en otros lugares de la República se han llevado a cabo proyectos para la determinación de carbonilos tanto en fase gaseosa como en partículas y en agua de precipitación pluvial^{2,3}. Sin embargo, la información obtenida en proyectos realizados por

el Centro de Ciencias de la Atmósfera (CCA) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) ha sido reducida debido al limitado número de compuestos determinados en el análisis de las muestras, lo cual también ha limitado el alcance de estos estudios. El análisis de las muestras obtenidas se ha realizado por medio de equipos de cromatografía líquida.

Aunque esta técnica ha probado ser efectiva, el número de compuestos identificados hasta ahora es muy pequeño. En las muestras obtenidas durante los años de 1996, 1997 y 1998 por el Departamento de Ciencias Ambientales del CCA tanto en la Ciudad de México como en los alrededores de la misma (Desierto de los Leones, Parque Nacional El Chico y Volcán Ajusco), sólo se hizo la determinación de cinco carbonilos aunque en los cromatogramas, como el del siguiente esquema (Fig I.1), había más información disponible. En el apéndice A se muestran algunos de los cromatogramas obtenidos durante los años mencionados.

Areas, times, and heights stored in: C:\ALD282.AT8
 Data File = C:\ALD282.PTS Printed on 03-27-1996 at 17:29:48
 Start time: 0.00 min. Stop time: 35.00 min. Offset: 0 mv.
 Full Range: 1 millivolts

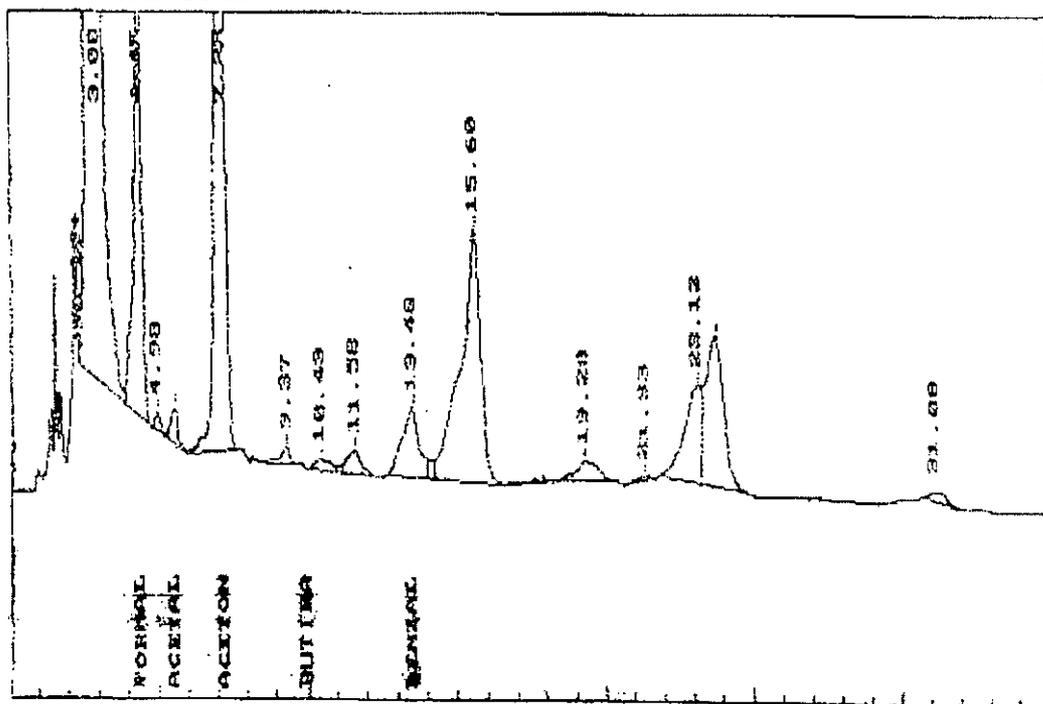


Fig I.1

Cromatograma obtenido en el año de 1996 durante los experimentos realizados por el departamento de Ciencias Ambientales del CCA

Uno de los principales problemas era que no se habían obtenido los estándares para formar nuevas curvas de calibración más completas. Otro de ellos era que, aunque se habían realizado las reacciones para la obtención del estándar, éste no se había purificado y por ello no era posible saber si la reacción se completaba o si existían otros compuestos secundarios de la reacción. Esto no permitía, por tanto, la cuantificación de ciertos picos en los cromatogramas como el benzaldehído.

Por tal motivo, el primero de los objetivos de este trabajo fue la ampliación del rango de compuestos a estudiar mediante la colección de carbonilos con los métodos ya empleados por los laboratorios del CCA, de modo que pudiese recuperarse alguna información de los resultados obtenidos en los años ya mencionados. Por otro lado, esto proporcionaría una mejor herramienta para contribuir al conocimiento de la química atmosférica en ambientes como el de la Ciudad de México pues, al identificar un mayor número de carbonilos, se pueden inferir precursores y/o mecanismos de reacción. De esta forma, se puede planear el diseño de nuevos métodos de muestreo que nos permita determinar un mayor número de carbonilos en la atmósfera.

El segundo objetivo fue la optimización del método de cuantificación a fin de que se pudiese lograr el primer objetivo sin un aumento significativo en el costo de análisis de muestras, aunque ello pudiese implicar la modificación de la técnica original. Tal modificación pudiera darse cambiando la composición de la fase móvil o bien de otros parámetros en el método analítico como el desarrollo de un programa de gradiente de elución.

El presente trabajo está estructurado de la manera siguiente: En el capítulo 1 se trata sobre las características de los compuestos orgánicos en la atmósfera terrestre, principalmente sobre los carbonilos. En el capítulo 2 se mencionan algunas de las técnicas de muestreo utilizadas para los compuestos mencionados anteriormente. En el capítulo 3 se tratan algunos de los métodos más importantes para la determinación de carbonilos de bajo peso molecular y algunas de las interferencias causadas por otros compuestos presentes en el ambiente. En el capítulo 4 se dan los antecedentes del método analítico utilizado en el presente trabajo: La cromatografía de líquidos. En el capítulo 5 se describe el trabajo experimental realizado para la obtención de resultados y en el capítulo 6 se dan las

conclusiones del trabajo y algunas recomendaciones para que el número de carbonilos detectados pueda incrementarse.

Capítulo 1

COMPUESTOS ORGÁNICOS EN LA ATMÓSFERA.

1.1 Generalidades.

Los compuestos orgánicos son contaminantes atmosféricos que pueden tener un fuerte efecto en la calidad del aire. Estos compuestos pueden originarse de diferentes fuentes, ya sean naturales o antropogénicas, e interactuar para producir a su vez otros efectos contaminantes. Los efectos de los contaminantes orgánicos en el ambiente se pueden clasificar en dos categorías de acuerdo a daños en la salud humana:

- Efectos directos.- Enfermedades o padecimientos producidos por la exposición de los organismos a algunos compuestos; tal es el caso del cloruro de vinilo o el pireno que producen cáncer.
- Efectos indirectos o secundarios.- Producción de otros compuestos que pueden ser también contaminantes, como ejemplo se tiene el que contribuyen a la formación de esmog fotoquímico (de la palabra inglesa *smog* que significa humo-niebla). Este tipo de efecto es el mayor interés para este trabajo.

El término de esmog fue usado por primera vez para describir la mezcla de humo y niebla que se formaba sobre Londres cuando se quemaba carbón con un alto contenido de azufre. Esta mezcla se caracteriza por la presencia de bióxido de azufre, el cual es un compuesto reductor, por lo que se le denomina esmog reductor o sulfuroso⁴. Por otro lado, para que se pueda producir esmog fotoquímico (como en Los Angeles o Cd. de México) se requiere de tres elementos:

1. Luz ultravioleta, la cual es provista por la luz solar.
2. Presencia de hidrocarburos.
3. Presencia de óxidos de nitrógeno.

La formación de esmog fotoquímico está asociada a la formación de compuestos oxidantes, particularmente el ozono⁴.

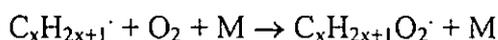
La mayoría de los compuestos orgánicos a escala global provienen de fuentes naturales como son los procesos de respiración de plantas o la descomposición de materia orgánica por parte de bacterias. De ellos, los hidrocarburos son los más numerosos de los principales grupos químicos. La vegetación es la fuente más importante de hidrocarburos en el aire, siendo mayoría los terpenos y el isopreno. Los terpenos son hidrocarburos con enlaces

olefinicos, usualmente dos ó más por molécula, y reaccionan rápidamente con el ozono y el radical oxhidrilo ($\cdot\text{OH}$), dos de los principales agentes oxidantes en la atmósfera. El isopreno (2-metil-1,3-butadieno), por su parte, es emitido típicamente por árboles como encinos, eucaliptos, sauces y pinos⁵. El isopreno es, como los terpenos, un compuesto muy reactivo con el ozono y el radical $\cdot\text{OH}$. Sus principales productos incluyen la metacroleína, metilglyoxal, metilvinilcetona y formaldehído⁶.

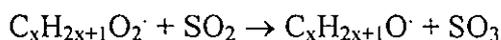
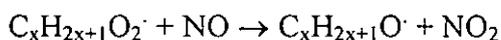
Los hidrocarburos son los contaminantes orgánicos que predominan en la atmósfera debido a que son componentes esenciales en los combustibles fósiles (los cuales pueden entrar como contaminantes directamente al aire ya sea por derrames o pérdidas por evaporación) o como subproductos de la combustión incompleta en los motores que los utilizan o por procesos industriales tales como la refinación del petróleo. Los subproductos son de particular importancia porque tienden a ser compuestos insaturados con oxígeno.

Dado el gran número de compuestos que están involucrados en este grupo, generalmente se hacen divisiones de acuerdo a la clasificación general de los compuestos orgánicos. De esta forma se encuentran los alcanos, alquenos, alquinos, hidrocarburos aromáticos, etc.

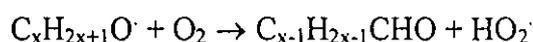
Se han identificado más de 100 diferentes tipos de alcanos presentes en el ambiente, tanto del tipo lineal como ramificado⁷. En condiciones atmosféricas, la reacción de los alcanos con ozono no tiene importancia, en cambio, la reacción con el radical $\cdot\text{OH}$ la que se considera el principal sumidero de este tipo de compuestos.



El radical peroxi puede reaccionar tanto con NO como con SO_2



Entonces el radical alcoxi reacciona para formar el correspondiente aldehído²

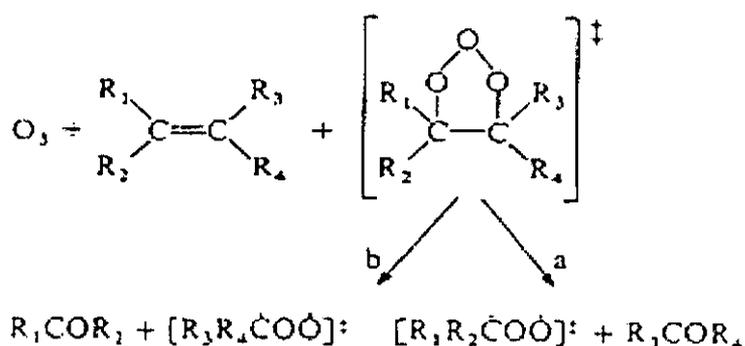


Los alquenos son compuestos extremadamente reactivos en condiciones atmosféricas y son de principal importancia en los procesos químicos de formación de esmog urbano o fotoquímico. Este tipo de compuestos puede reaccionar con los radicales $\cdot\text{OH}$ y $\text{NO}_3\cdot$ y con el ozono.

La principal reacción durante el día es con el radical $\cdot\text{OH}$, el cual se adiciona principalmente al doble enlace del alqueno¹. Por ejemplo, para el caso del propeno, el radical $\cdot\text{OH}$ puede adherirse a ambos lados del doble enlace, como se muestra a continuación:

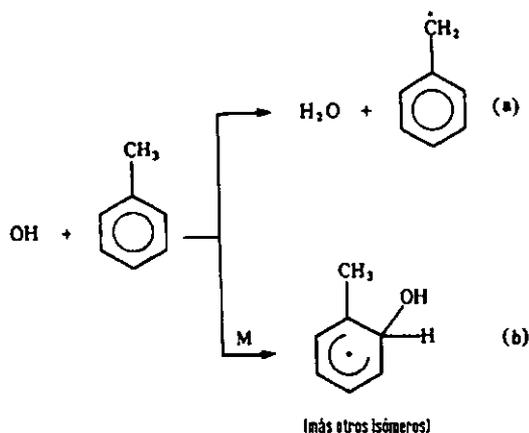


Sin embargo, cuando no se producen estos radicales por la radiación solar, es el ozono con lo que reaccionan los alquenos. La reacción procede mediante la adición del ozono al doble enlace para formar un biradical de alta energía y un carbonilo.

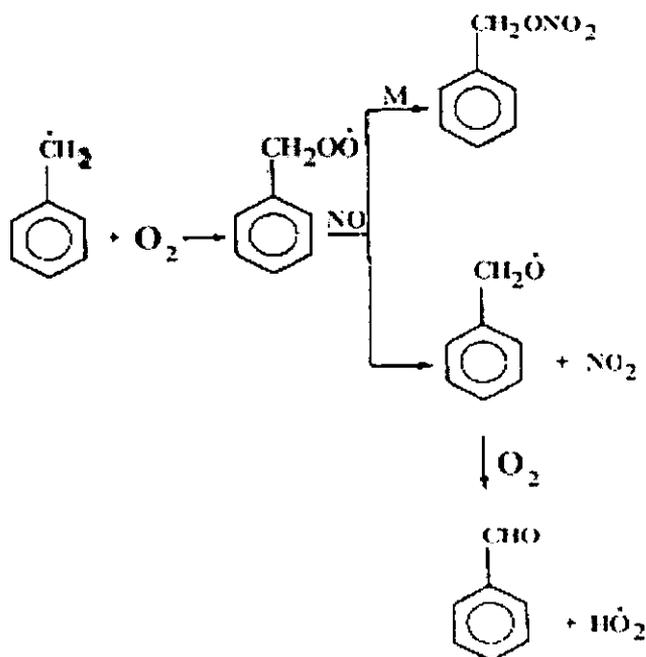


Los hidrocarburos aromáticos pueden dividirse en dos grupos principales: los que tienen un solo anillo aromático y aquéllos que tienen más. A este último grupo se le denomina hidrocarburos aromáticos policíclicos o, de acuerdo con sus siglas en inglés, PAHs. Las gasolinas libres de plomo son fuente de compuestos aromáticos con un solo anillo aromático, pero los solventes aromáticos, como benceno y tolueno, son de un amplio uso y son también empleados como materias primas en la fabricación de polímeros.

Los compuestos aromáticos monocíclicos reaccionan muy lentamente con ozono y con los radicales NO_3 . El único sumidero importante es la reacción con el radical $\cdot\text{OH}$. La reacción puede ocurrir por dos rutas: la sustracción de un hidrógeno de los sustituyentes alquilo o, la adición del radical al anillo aromático:



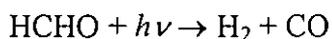
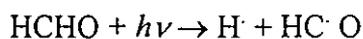
La reacción subsecuente a la sustracción del hidrógeno sigue un camino semejante a lo que ocurre con los alquenos:



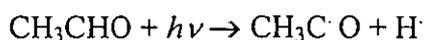
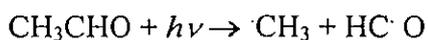
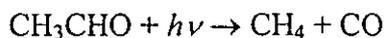
1.2 Compuestos orgánicos que contienen oxígeno.

Entre este tipo de compuestos destacan los aldehídos y las cetonas, en general denominados como carbonilos. Los carbonilos son especies frecuentes formadas por las reacciones de oxidación fotolítica de los hidrocarburos atmosféricos. Además de esta fuente, los carbonilos pueden entrar a la atmósfera desde un gran número de fuentes y procesos. Éstos incluyen la emisión directa por la combustión incompleta de automotores, incineradores, las pinturas en aerosol, producción de polímeros y petroquímicos, etc. Uno de los principales factores por los cuales los carbonilos han sido tan estudiados es que sólo los aldehídos y cetonas alifáticas absorben energía de la radiación solar disponible en la troposfera, $\lambda > 290 \text{ nm}$, y se disocian produciendo radicales libres¹.

Formaldehído



Acetaldehído



De modo que esta característica les otorga un papel esencial en los procesos químicos ya que sólo una docena de compuestos diferentes, como los óxidos y ácidos de nitrógeno, tienen un comportamiento similar.

Los carbonilos no alifáticos no se disocian en la troposfera. Sus procesos químicos parecen más bien tener una tendencia a la oxidación que a la producción de fragmentos reactivos.

1.2.1 Carbonilos alifáticos.

Tanto los aldehídos como las cetonas de este tipo comprenden un grupo bastante numeroso. Se sabe de al menos 25 aldehídos y otros tantos compuestos de cetonas que son emitidos al ambiente². Dentro de este grupo se encuentran compuestos de cadena lineal o bien ramificados. También se tienen indicios de compuestos que tienen dos grupos funcionales ya sean di-aldehídos hidroxi-aldehídos y con grupos ácidos.

De todos los compuestos detectados el formaldehído es el más abundante tanto en ambientes urbanos como rurales. Las concentraciones más comunes de este compuesto oscilan entre los 100 ppb en ambientes urbanos y 1 ppb en ambientes rurales. Por el lado de las cetonas, los compuestos más abundantes son la acetona y la butanona los cuales, en ambientes urbanos, se han detectado en niveles de varios ppb^{8,9}.

1.2.2 Carbonilos olefínicos.

Este grupo está compuesto por un conjunto de unos 15 aldehídos y 6 cetonas de diversos pesos moleculares⁷. Es en este grupo donde se encuentra la acroleína, un importante contaminante en los procesos de combustión e industriales; además, tiene la propiedad de ser un irritante muy potente para los ojos.

Las cetonas con uno o más grupos olefínicos no se fotodisocian en la troposfera pero podrían reaccionar con el radical $\cdot\text{OH}$ en el doble enlace. Los aldehídos también reaccionan

con este radical y el oxígeno atómico y sus constantes de velocidad de reacción han sido estudiadas y reportadas por varios investigadores^{10,11}.

Respecto a las concentraciones en las que se encuentran presentes en la atmósfera, sólo en el caso de la acroleína existen estudios donde se reportan concentraciones de apenas algunos ppb o bien cercanas al 15 % de la concentración de formaldehído detectado durante el estudio⁴.

1.2.3 Carbonilos Aromáticos.

Existe también un buen número de compuestos de este tipo presentes en la atmósfera, tanto en ambientes urbanos como rurales. La mayoría son emitidos por la vegetación o por procesos de combustión. Sus reacciones en el aire son producidas por su interacción con radicales OH u oxígeno atómico. No existen muchos reportes acerca de las concentraciones de estos compuestos a excepción de la acetofenona y benzaldehído⁷. Por otro lado, estos reportes indican que están presentes en muy pequeñas cantidades.

Capítulo 2

TÉCNICAS DE COLECCIÓN DE MUESTRAS DE AIRE.

Existen diversas formas de realizar el muestreo de aire para determinar carbonilos en la atmósfera. Entre las diferentes técnicas utilizadas se mencionan los cartuchos de sílica gel o cadenas hidrocarbonadas C₁₈, los cuales tienen 2,4-dinitrofenilhidrazina (2,4-DNPH por sus siglas en inglés) ligado al adsorbente, o los burbujeadores (*impingers*) con soluciones de 2,4-DNPH como las más usadas. Una técnica poco utilizada, o al menos reportada, es la de recubrir despojadores (*denuders*) con 2,4-DNPH para la determinación de carbonilos de bajo peso molecular¹². El muestreo es el paso más crítico para la exactitud y precisión de los métodos de cuantificación, sean éstos del tipo cromatográfico o del tipo continuo¹¹. A continuación se describen de forma somera algunas de las características de los métodos ya mencionados.

2.1 Burbujeadores.

El empleo de esta técnica comenzó al final de la década de los años setenta¹³. En forma general, la técnica ocupa soluciones ácidas, acuosas u orgánicas, de 2,4-DNPH. Desde su implementación se han llevado a cabo modificaciones como el empleo de diferentes ácidos, de solventes orgánicos o de sistemas que ocupan dos fases: una orgánica y otra acuosa. Las razones principales por las cuales se han implementado las modificaciones son:

- Incrementar la eficiencia de colección,
- reducir el volumen de la solución colectora y
- minimizar el número de pasos de la manipulación de las muestras.

Se ha observado que con los solventes orgánicos la eficiencia de la colección es mejor que usando soluciones acuosas debido a que la tensión superficial de los primeros permite un mejor mezclado del aire con el reactivo en la solución durante el muestreo. El empleo de una solución de 2,4-DNPH en acetonitrilo permite inyectar la muestra directamente al cromatógrafo sin ningún tipo de manipulación posterior¹⁴. En el caso de el empleo de diferentes ácidos, De Bortoli, *et. al*, (1987) reportaron que, usando ácido fosfórico, se incrementaba la eficiencia en la colección de cetonas¹⁵.

La principal ventaja del empleo de sistemas de dos fases reside en que la velocidad de la reacción de derivatización se incrementa, esto es la cantidad de 2,4-DNPH convertida en productos (hidrazonas de carbonilo). Por otro lado, los resultados han sido diversos: en tanto que algunos investigadores han reportado que esta modificación es buena para la colección de carbonilos alifáticos y aromáticos, otros proclaman que los carbonilos de pesos moleculares medios o mayores disminuyen el potencial de la técnica debido a su hidrofobicidad¹⁶.

Una desventaja de los burbujeadores es que éstos no son la mejor opción para el caso en que se requiere hacer el muestreo en lugares apartados y en los cuales se necesita que las muestras sean transportadas al laboratorio correspondiente para realizar el análisis por cromatografía de líquidos.

2.2 Cartuchos de adsorbentes.

El método de cartuchos ha tenido un incremento muy importante en cuanto a su uso. Esto es debido a que la técnica ha conseguido mejores resultados que los burbujeadores ya que los derivados son preconcentrados en un alto grado. Los adsorbentes empleados son diversos: esferitas de vidrio, filtros de fibra de vidrio, sílica gel y materiales enlazados con C₁₈. La eficiencia de colección de las esferitas de vidrio y filtros se ve afectada por la humedad^{17,18}.

2.3 Despojadores.

Los despojadores fueron utilizados en principio para atrapar compuestos gaseosos que podían interferir en muestreos con filtros¹⁹, posteriormente se usaron también para el muestreo de compuestos en fase gas.

Los primeros despojadores tuvieron como base un diseño cilíndrico, lo cual tenía la desventaja de que sólo se podían efectuar muestreos con flujos pequeños, de 0.5 a 3 litros por minuto. Por ello, sólo mediante muy largos tiempos de muestreo se podían obtener muestras representativas de aire²⁰. El desarrollo de despojadores anulares permitió que el flujo de muestreo tuviese un rango de 20 a 50 litros por minuto²¹, reduciendo con ello el tiempo de muestreo. Los despojadores anulares consisten en un sistema de tubos

concéntricos que permiten una mayor superficie de contacto (Fig 2.1), lo cual les proporciona las propiedades ya mencionadas anteriormente.

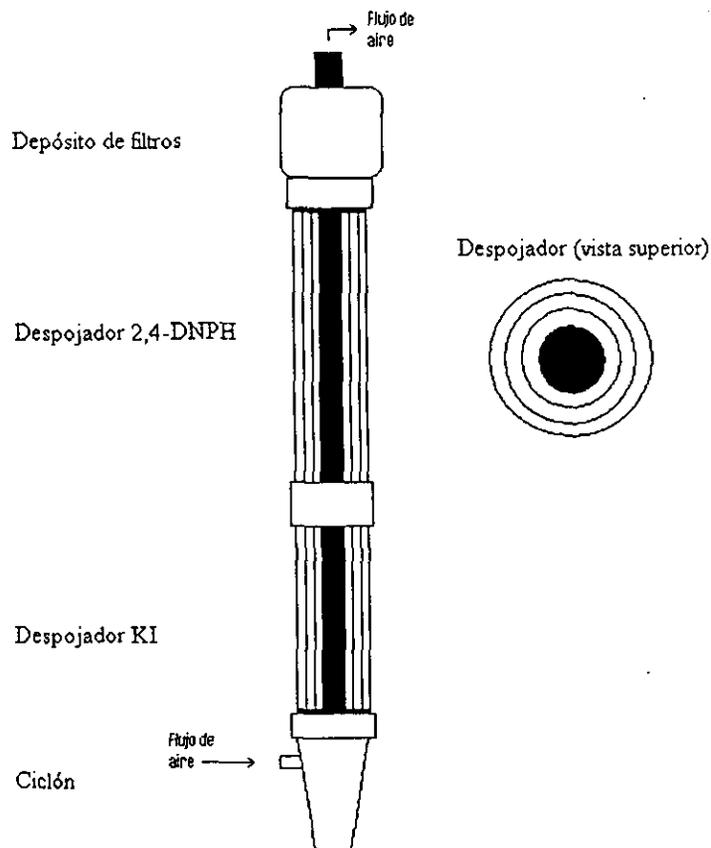


Fig 2.1

El diagrama muestra la disposición de los despojadores en forma vertical durante los muestreos realizados en los años de 1996, 1997 y 1998. Por otro lado, se muestra la forma en la cual están colocados los 3 cilindros concéntricos dentro del despojador.

El volumen de muestreo de los despojadores anulares permite la cuantificación de sustancias que se encuentran en muy bajas concentraciones, tales como H_2O_2 y sustancias orgánicas, que de otra forma sólo mediante un sistema de muestreo de alto volumen se puede coleccionar suficiente cantidad de ellas.

Se debe evitar la acumulación de partículas en el despojador. Algunos estudios han mostrado que las interferencias por partículas no son significativas cuando se operan los despojadores en posición vertical¹².

Los sistemas de despojadores van incrementando su importancia en el análisis de componentes gaseosos y partículas en la atmósfera. Una de sus ventajas es que en este sistema se puede discriminar entre componentes en diferentes fases. Por otro lado, han mostrado ser sistemas versátiles para la determinación de varios componentes¹².

Se han descrito varios métodos a fin de caracterizar diferentes compuestos o para la eliminación de interferencias. Uno de ellos consiste en recubrir los despojadores con una solución de 2,4-DNPH en medio ácido con acetonitrilo a fin de determinar carbonilos¹².

2.4 Cinética de reacción de derivatización con 2,4-DNPH.

El conocimiento de las variables que pueden afectar el proceso de derivatización en la colección de muestras es de suma importancia para los objetivos de una campaña de muestreo para la determinación de carbonilos en aire.

La reacción de derivatización con 2,4-DNPH en solución depende de muchas variables como el pH de la misma, la concentración del reactivo y la temperatura. Se han reportado estudios acerca del efecto del pH en la determinación de formaldehído y acetaldehído²². En general, se puede decir que no existe un cambio significativo de la reacción en un rango de pH entre 3 y 5 para formaldehído; en el caso de acetaldehído se observó que el rango de pH donde existe poca variabilidad fue, también, entre 3 y 5. Esto contrasta con el hecho de que la mayoría de los estudios fueron realizados a un pH < 3.

Se han reportado algunos experimentos diseñados para determinar el efecto de la temperatura. A pH=3 y 25°C la reacción para formaldehído requirió de 20 minutos para completarse^{23,24}. Por otro lado, existen reportes que indican que a pH=2 se requiere de un mayor tiempo (cerca de 2 horas) para que la reacción se complete²⁵.

La cinética de la reacción de derivatización con 2,4-DNPH en adsorbentes sólidos no está bien comprendida todavía. La reacción puede darse en una película de fase líquida o en la interfase sólido-gas. En el primer caso, es probable que suceda un mecanismo análogo al que se mencionó previamente. El alto enriquecimiento de los cartuchos puede ser determinante en la cinética. En estudios previos se ha comentado que la eficiencia de colección es más efectiva en éstos. En todo caso, la derivatización sobre una fase sólida puede ocurrir más rápidamente que en solución. Además, el poco contenido de agua en los cartuchos puede desplazar el equilibrio hacia la formación de las hidrazonas¹¹.

Capítulo 3

MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE CARBONILOS DE BAJO PESO MOLECULAR EN LA ATMÓSFERA.

Los compuestos carbonilos participan en forma importante en reacciones fotoquímicas contribuyendo a los procesos de formación de smog atmosférico. Este tipo de compuestos incluye contaminantes tanto primarios como secundarios. La mayoría de los carbonilos, particularmente los aldehídos, es conocida tanto por sus impactos fitotóxicos como por sus efectos en la salud humana^{26,27,28}. El formaldehído ha recibido especial atención por su posible efecto cancerígeno y la irritación del tracto respiratorio que tiene síntomas parecidos a los del asma²⁹. Las concentraciones de carbonilos en la atmósfera tienen un rango desde algunas décimas de ppb en atmósferas limpias hasta concentraciones mayores a 100 ppb en aire urbano y contaminado^{30,31}.

Antes del uso de cromatógrafos se utilizaron solamente métodos espectroscópicos para el análisis en la determinación de carbonilos en el ambiente. Dado que estos métodos son usados en la detección de grupos funcionales, los primeros métodos se usaron para medir las cantidades totales de carbonilos. Debido al papel principal del formaldehído en la química atmosférica, los mayores esfuerzos se centraron en el desarrollo de métodos para la determinación de este compuesto.

Fue en la década de los setenta cuando con el uso de cromatógrafos, junto con técnicas de derivatización, se hizo posible tener una mayor sensibilidad y determinaciones más selectivas de carbonilos en aire. Incluso algunos problemas de interferencias se han solucionado con el uso de la cromatografía. Aunque se han propuesto una gran cantidad de métodos cromatográficos, la derivatización con 2,4-DNHP acoplada con cromatografía líquida ha sido la más aceptada¹¹. A pesar de las ventajas de los métodos cromatográficos, éstos aún no se han adaptado para realizar análisis continuos; es en este caso, donde los métodos de fluorescencia para formaldehído se siguen utilizando^{32,33}.

Aunque existe un gran número de estudios sobre métodos analíticos para la determinación de carbonilos atmosféricos, aún se tienen demasiados problemas en el muestreo, interferencias y sistemas de análisis de muestras que no han sido resueltos. Los métodos espectroscópicos se ocupan para la detección *in situ* de formaldehído. Todos ellos son más simples y también más prácticos para mediciones en tiempo real.

3.1 Técnicas espectroscópicas *in situ*.

Usualmente requieren de caminos ópticos largos o de celdas de paso múltiple para tener una sensibilidad adecuada. Se han utilizado cuatro técnicas espectroscópicas diferentes:

1. Espectroscopía de absorción óptica diferencial (DOAS)
2. Absorción IR con transformadas de Fourier.
3. Espectroscopía de fluorescencia inducida por láser.
4. Espectroscopía de absorción láser por diodos.

El uso de este tipo de técnicas en la determinación de carbonilos es específica para el formaldehído. Aunque algunos de ellos pueden ser muy sensibles, tienen la desventaja de que los requerimientos del equipo son excesivos y la instrumentación es muy cara. Entre las ventajas que tienen algunos de ellos es que se pueden instalar en transportes como aviones o instalaciones de monitoreo móviles²⁷.

3.2 Técnicas colorimétricas.

Éstas se basan en la reacción del compuesto de interés con un reactivo a fin de que se forme una solución coloreada y su cuantificación se hace con un espectrofotómetro. Las técnicas más usuales son:

1. Método de ácido cromotrópico.
2. Método de pararosanilina modificado (reacción de Schiff).

En el primer caso, Altshuller, *et. al*, (1961) concluyen que, para el caso del formaldehído, las interferencias causadas por otros carbonilos, hidrocarburos aromáticos, fenoles, dióxido de carbono, etc., no son significativas³⁴. Sin embargo otros investigadores como Katz (1977) mencionan que tanto los fenoles como otros compuestos orgánicos sí tienen interferencia significativa en el análisis³⁵. El mayor problema en este método es que se requiere de tiempos de muestreo largos, aún en ambientes contaminados, para obtener una sensibilidad adecuada³⁴. El mismo autor menciona un límite de detección cercano a 66 ppb. Por otro lado, este método requiere del manejo de una sustancia en extremo peligrosa: ácido sulfúrico concentrado y caliente.

En el segundo caso, Miksch, *et. al*, (1981) mencionan que los aldehídos de bajo peso molecular y compuestos como sulfuros, cianuros y aminas hidroxiladas interfieren en la

determinación³⁶. Las comparaciones entre ambos métodos han tenido resultados diversos. Mientras Miksch, *et. al*, (1981) mencionan que el método de pararosanilina es superior (con un límite de detección cercano a 25 ppb), otros estudios proclaman que ambos métodos tienen precisión similar, pero el método del ácido cromotrópico tiene mayor exactitud³⁷. Por su parte, Baez, *et. al*, (1989) obtuvieron una sensibilidad del 0.1 ppb³.

3.3 Técnicas de fluorescencia.

El uso de este tipo de técnicas requiere que el compuesto de interés reaccione con ciertos compuestos para formar un reactivo que sea fluorescente a cierta longitud de onda.

Las más usuales son:

1. Formación de diacetil-1,4-dihidrolutidina.- Este es un método muy selectivo para formaldehído debido a que, aunque existen otros aldehídos que reaccionan de manera similar con este compuesto, éste tiene una fluorescencia mucho mayor³⁸. Una de las principales ventajas del método es que, debido a que éste utiliza una membrana, las partículas quedan eliminadas. Kelly, *et. al*, (1989) realizaron una modificación en la longitud de onda de excitación del compuesto, con lo cual obtuvo una sensibilidad tres veces mayor³⁹. Con esta modificación el método tiene un límite de detección de 20×10^{-9} moles por litro (0.6 ppm) para formaldehído en solución acuosa y 0.2 ppbv en fase gas. Debido a interferencias ocasionadas por otros aldehídos, la determinación del derivado ha requerido de la combinación de un HPLC con un detector electroquímico. Estos estudios indican que la sensibilidad se ha aumentado hasta 5 veces¹¹.
2. Derivatización con enzimas de catalización fluorescente.- El uso de enzimas ofrece la ventaja de una detección selectiva en una mezcla muy compleja. El método, además de selectividad, ofrece un límite de detección de cerca de 0.2 ppb. Sin embargo, su mayor desventaja es el elevado costo de la enzima, además de que no es muy estable y puede precipitar, con lo cual se reduce la respuesta⁴⁰.

Existen además técnicas de detección por químicoluminiscencia.

3.4 Técnicas de análisis de carbonilos por cromatografía.

Como se ha mencionado anteriormente, la derivatización de compuestos carbonílicos con 2,4-DNPH acoplada con HPLC es el método más utilizado para la determinación de

aldehídos. Existen otros tipos de derivatizaciones, las cuales se mencionan más adelante, pero no son tan versátiles como la primera. También con el uso de estas técnicas se han eliminado algunas interferencias, como la causada por ozono⁴¹.

La derivatización química se utiliza con varios propósitos:

- Reducir el “coleo” de los picos en el cromatograma y favorecer la linealidad de la respuesta del cromatógrafo en compuestos polares.
- Mejorar la resolución de compuestos semejantes en el cromatograma.
- Permitir el análisis de compuestos de poca volatilidad.
- Mejorar la detección en detectores específicos tales como el detector de captura de electrones (conocido por sus siglas en inglés como ECD), el detector de nitrógeno-fósforo (comúnmente llamado NPD), etc.

3.4.1 Derivatización con 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazina (MBTH).

El MBTH es un reactivo específico para aldehídos alifáticos. Igawa, *et. al.*, (1989) recientemente utilizaron esta técnica como una reacción post-columna en determinaciones de HPLC con columnas de fase reversa para nubes y neblinas⁴².

Este método no puede ser usado para la determinación de cetonas debido a que el MBTH reacciona con el acetonitrilo y por ello no se pueden usar gradientes de elución y, entonces, la línea base se ve afectada. Por otro lado, el método ofrece algunas ventajas en la determinación de aldehídos en muestras acuosas¹¹.

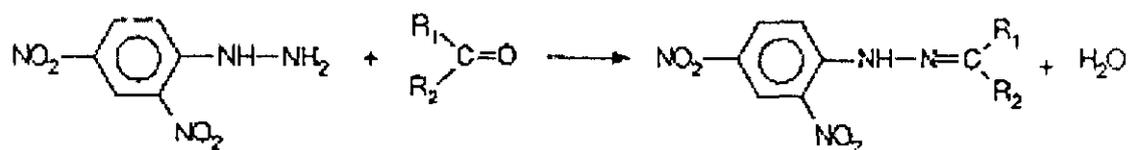
3.4.2 Derivatización de vinil aldehídos con antrona.

Este método de derivatización selectiva ofrece ventajas si éste tipo de compuestos son los de interés o en el caso de resoluciones bajas de aldehídos saturados y sus correspondientes insaturados (propanal y acrolina). Los productos de la reacción pueden ser determinados con un detector de fluorescencia¹¹.

3.4.3 Derivatización con 2,4-DNPH

La reacción de derivatización de carbonilos con 2,4-DNPH es la conocida para la determinación de éstos. Ocurre por medio de una adición nucleofílica y la eliminación de agua. Esta reacción da como producto una hidrazona y es útil para determinaciones por

cromatografía de gases o HPLC. No obstante, los métodos de cromatografía de gases no han encontrado mayor aceptación debido a la poca volatilidad del derivado, la relativa insensibilidad del detector de ionización de flama y la formación de picos dobles en isómeros *cis*- y *trans*-.



En el caso del acoplamiento con HPLC, el método más popular consiste en utilizar detectores U.V., pero también se han usado otros detectores, como espectrómetros de masas, para el análisis de picos poco resueltos o no identificados⁴³. El rango de longitud de onda utilizado en la detección por U.V. es entre 360 y 375 nm. La longitud de onda utilizada para el análisis depende de cada investigador, ya que los compuestos difieren significativamente en la longitud de onda en la cual tienen su absorción máxima. En estudios recientes de Druzik, *et. al*, (1990)⁴⁴ y Kiebel y Mopper (1990)⁴⁵, el uso de detectores U.V. de arreglo de diodos ha permitido el almacenamiento y procesamiento posterior de espectros completos, lo cual es una herramienta en la identificación de compuestos. Sin embargo, los detectores de arreglo de diodos tienen, actualmente, límites de detección más pobres.

Uno de los principales problemas de esta técnica es la falta de resolución de ciertas combinaciones de compuestos como la acroleína, acetona, propionaldehído y furfural; *iso*-butanal y 2-butanona; e *iso*-valeraldehído y 2-metil-butanal. Smith, *et. al*, (1989) demostraron que el uso de gradientes con mezclas ternarias de agua, metanol y acetonitrilo pueden resolver algunos de estos problemas⁴⁶. Puputti y Lehtonen (1986) mostraron que la temperatura de la columna también es otro factor que puede modificarse para resolver algunos de los picos⁴⁷.

Existen otras reacciones de derivatización acopladas a HPLC. Sin embargo, éstas no se mencionan porque son muy específicas o no tienen demasiada utilidad. A continuación se mencionarán algunas de las características de los métodos que utilizan la reacción con 2,4-DNPH, los cuales difieren en la preparación de reacciones y las condiciones de análisis.

1).- Uso de una solución de 2,4-DNPH para la determinación de carbonilos.

La 2,4-DNPH reacciona con los compuestos carbonílicos para formar 2,4-dinitrofenilhidrazonas, las cuales son denominadas comúnmente como hidrazonas. Las hidrazonas formadas son separadas y analizadas por cromatografía de líquidos (HPLC) que pueden tener diferentes variantes en la preparación de soluciones o en el análisis mismo.

Preparación de soluciones de 2,4-DNPH

Generalmente se utilizan soluciones ácidas de este reactivo. Las soluciones pueden contener agua y son hechas con solventes orgánicos a fin de que se puedan colectar varios carbonilos de diversos tipos. Si la solución es hecha con agua solamente, entonces sólo se colecta formaldehído.

a).- 10 ml de solución acuosa (2N HCl) de 2,4-DNPH y 10 ml de una mezcla ciclohexano-*iso*-octano (9:1 v/v).

b).- Pesar 0.25 g de 2,4-DNPH y disolverlos en acetonitrilo. Agregue 0.2 ml de H₂SO₄ concentrado y afore a un litro con acetonitrilo. El acetonitrilo utilizado debe ser de grado HPLC.

Después de obtener las soluciones, éstas se utilizan para impregnar o recubrir los instrumentos de muestreo de aire, ya sea que se utilicen filtros, despojadores o algún otro instrumento. Realizado lo anterior se procede a obtener las muestras para el análisis de las mismas por HPLC.

Obtención de muestras de carbonilos.

Existen también diversos procedimientos por los cuales se pueden adquirir las muestras. Entre ellos, lo más generalizado es la extracción con acetonitrilo grado cromatográfico. La extracción puede hacerse con diversos volúmenes del solvente mencionado, el rango varía desde los 3 hasta los 20 mililitros. En el caso de que las muestras se obtengan a partir de filtros, se agrega el solvente y se pone en un baño de ultrasonido durante algunos minutos. Se pueden ocupar, además de acetonitrilo, mezclas de este solvente con agua destilada y deionizada en diversas proporciones.

También existen otros métodos de extracción con otros solventes: Una técnica consiste en obtener las muestras con una solución de hexano y cloruro de metileno, agregar un estándar

interno y dejar evaporar el solvente de extracción. Una vez que ha sucedido lo anterior, entonces los residuos se vuelven a disolver con metanol. Las muestras deben mantenerse en refrigeración y oscuridad hasta el momento de su análisis.

Otro método es empleado en el caso de los cartuchos empacados, aunque se puede usar también la extracción líquida, como es la termo-desorción para que la muestra pase a un cromatógrafo de gases.

Análisis de muestras por HPLC.

Como en el caso de la extracción en solución, pueden existir varias formas o variedades de realizar el análisis de las muestras dependiendo de las posibilidades del equipo utilizado o de la forma en como se extraen los analitos.

a).- La siguiente configuración se ocupa para hacer las inyecciones de las extracciones con metanol en un cromatógrafo con las siguientes características:

Columna :	Fase reversa.
Fase Móvil:	Mezcla CH ₃ OH-H ₂ O.
Elución :	Isocrática.
Detector :	UV-Visible
Longitud analítica:	360 nm.

Mediante este sistema se pueden determinar formaldehído, acetaldehído, propanal, butanal, 2-butanona y benzaldehído⁴⁸.

b).- Otra variante⁴⁹, para filtros impregnados con 2.4-DNPH y extraídos según lo mencionado anteriormente, es:

Columna:	Fase reversa C ₁₈ ; 250 x 4 mm; 5μ
Fase móvil:	Acetonitrilo-H ₂ O (55/45) a 1.2 ml/min.
Elución:	Isocrática.
Detector:	UV-Visible
Longitud analítica:	365 nm.

c).- Otras configuraciones para el análisis de carbonilos consisten en modificaciones en el equipo por diferencias en las columnas, que por lo general son columnas ligadas con cadenas de hidrocarburos de 18 carbonos y que se denominan comúnmente C₁₈, volúmenes de inyección (10 ó 20 μl); composición en la fase móvil acetonitrilo-agua o, a veces,

poniendo un tercer componente en la misma como tetrahidrofurano o metanol; flujo de fase móvil; longitud analítica del detector; etc.

d).- Se pueden utilizar sistemas HPLC con uso de la técnica de gradiente, por ejemplo:

Columna :	Fase reversa ODS a 40°C
Volumen de inyección:	20 µl
Fase móvil:	Acetonitrilo-agua a 1.4 ml/min. con el siguiente programa: 49:51 (v/v) durante los primeros 26 minutos, de 49:51 a 100:0 en forma lineal y 14 minutos y continuar a 100:0 hasta el final del análisis.
Detector :	UV-Visible con arreglo de diodos con lecturas en barrido desde 290 hasta 600 nm.

e).- También se han utilizado equipos de cromatografía de líquidos acoplados con espectrómetros de masas como detectores (conocidos por sus siglas en inglés como HPLC-MS), los cuales pudieran contener los mismos elementos que los ejemplos anteriores pero el detector se usa con el modo de ionización química con metano como gas reactivo en la cámara del MS. Con éstos equipos se puede tener límites de detección de hasta nanogramos de carbonilos en aire.

Con los dos últimos ejemplos se determinan carbonilos en aire con un número de carbonos desde C₁ hasta C₁₄.

3.5 Límites de detección.

En todos los métodos que involucran 2,4-DNPH ya mencionados, los límites de detección para los diferentes carbonilos son acotados tanto por los equipos con los cuales se realiza la cuantificación como por la calidad de los blancos utilizados. Para la gran mayoría de los compuestos carbonilos; en especial para formaldehído, acetaldehído y acetona, los niveles del blanco son los que determinan los límites de detección.

De este modo, al reducir los niveles del blanco, se aumenta el límite de detección. Lo anterior puede realizarse cuidando algunos factores como son los reactivos, solventes y aparatos utilizados durante toda la técnica de muestreo y análisis así como la preparación de las soluciones. Las soluciones de 2,4-DNPH son en extremo reactivas con el ambiente y los materiales donde se almacenan, lo cual implica que la eliminación de carbonilos en el

blanco es muy difícil. Sin embargo, se pueden minimizar de modo que pueden alcanzarse niveles de detección de hasta ppt. Algunas de las formas en las cuales puede lograrse lo anterior se mencionan a continuación:

- utilizar reactivos de alta pureza, en especial para 2,4-DNPH y los solventes,
- ocupar soluciones de reciente preparación, y
- evitar el contacto de la solución de 2,4-DNPH con el ambiente o la luz¹¹.

Además, es siempre indispensable trabajar con sumo cuidado y en laboratorios adecuados para obtener buenos resultados.

Debido a lo reactivo de la solución de 2,4-DNPH existen también algunas sugerencias realizadas como que el evitar el uso de utensilios de baquelita (que es un polímero preparado de formaldehído y fenol) porque podrían contener suficiente cantidad de formaldehído libre que no permita obtener blancos de bajos niveles⁵⁰. Las botellas de vidrio requieren de un acondicionamiento previo con 2,4-DNPH debido a que puede haber una disminución de la adsorción del compuesto de interés cuando se usan materiales nuevos. El polietileno no presenta estas interacciones, pero parece que la señal en el formaldehído se incrementa con el tiempo de almacenamiento⁵¹, aun así parece ser el material más viable si los análisis se realizan en el menor tiempo posible.

3.6 Interferencias.

Debido a la compleja mezcla de gases y partículas que existen en el aire existe, siempre, la posibilidad de que algunos de los compuestos presentes en el ambiente no permitan que se observen resultados reales. Para el análisis y determinación de carbonilos existen algunos compuestos que pueden interferir potencialmente en la determinación; algunos de ellos se han estudiado y existen procedimientos por los cuales se puede eliminar estos problemas.

Entre los posibles compuestos que pueden ocasionar interferencias en el muestreo están los óxidos de nitrógeno, dióxido de azufre y ozono. No obstante, los resultados a los que se ha llegado en los estudios realizados han sido, en algunos casos, contradictorios y parecen depender de la técnica y la manipulación realizada por el investigador.

3.6.1 Dióxido de nitrógeno (NO₂).

Aún cuando se conoce que el NO₂ reacciona con la 2,4-DNPH y los productos generados⁵², diversos trabajos han mostrado que este compuesto no produce alguna interferencia significativa en la determinación de carbonilos en el ambiente^{53,54}.

3.6.2 Óxido nítrico(NO).

No existe alguna evidencia de que el NO reaccione con la 2,4-DNPH dado que al realizar experimentos no se producen picos extraños en los cromatogramas. Tampoco hay un decremento en la intensidad de los picos observados, por lo tanto, aún en ambientes extremadamente contaminados no existe la posibilidad de resultados erróneos en la determinación de carbonilos en el ambiente.

3.6.3 Dióxido de azufre (SO₂).

La interferencia por este compuesto es producida por la formación del compuesto de adición carbonil-bisulfato (ácido hidroxialcanosulfónico) el cual puede reducir el desarrollo del compuesto carbonílico⁵⁵. Sin embargo, bajo condiciones ácidas, la reacción de derivatización del formaldehído se lleva a cabo sin problemas a pesar de que existan altas concentraciones de SO₂⁵⁶. Esto indica que en las condiciones en las cuales se realizan los muestreos de aire, es decir a un pH < 3, hay muy poca probabilidad de que exista interferencia. No ocurre lo mismo en el caso de que se realicen muestreos de agua en la atmósfera, en este caso la formación de SO₂-HCHO puede afectar la reacción de derivatización o bien si el hidrometanosulfonato se ha formado previamente, éste se debe disociar primero a un pH de 13 antes de intentar la reacción con 2,4-DNPH⁵⁷.

3.6.4 Ozono (O₃).

El ozono es uno de los gases más reactivos que existen en la atmósfera terrestre. Existen numerosos estudios en los cuales se han determinado las posibles formas en las cuales este compuesto produce interferencias en las mediciones de acuerdo con la técnica utilizada durante el muestreo. También existen trabajos mediante los que se sugieren procedimientos para eliminar estas interferencias o, al menos, minimizarlas.

Los efectos por ozono pueden clasificarse en tres:

1. Formación de carbonilos por reacción con los materiales de muestreo,
2. degradación de las 2,4-DNPHidrazonas y
3. formación de otros compuestos que causan interferencias.

La 2,4-DNPH reacciona de forma rápida con el ozono atmosférico. Como las hidrazinas no se fotolizan en la región de radiación solar que llega a la superficie⁵⁸ ($\lambda > 290$ nm), un probable mecanismo de reacción en la atmósfera sería la reacción con ozono y el ataque de un radical hidroxilo, los cuales son generados tanto en el smog fotoquímico como en ambientes poco contaminados o rurales⁵⁹.

En un estudio de Arnst y Tejada (1989) se observó que, al realizar muestreos con cartuchos de sílica impregnada con 2,4-DNPH, la pérdida de la hidrazona formada por el formaldehído aumentaba proporcionalmente con la concentración de ozono en el ambiente. En contraste, al realizar muestreos con burbujeadores, no había pérdida de la hidrazona del formaldehído pero decrecía considerablemente la cantidad de 2,4-DNPH en la solución⁴¹. Esto redundaría en problemas de resolución del pico del formaldehído dado que los productos de la reacción de 2,4-DNPH-ozono pueden interferir en la separación cromatográfica.

También en el caso de los cartuchos de C₁₈ se observa que no hay pérdida de la hidrazona del formaldehído. En este caso se ha sugerido que los radicales generados por el ataque del ozono a la 2,4-DNPH pueden ser atrapados por los grupos de C₁₈ previniendo así la desaparición de las hidrazonas o de más 2,4-DNPH. Sin embargo, tales radicales pueden reaccionar también con las cadenas de C₁₈ lo cual resultaría en la formación de compuestos carbonílicos de mayor longitud¹¹.

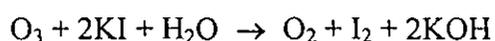
Los mecanismos de reacción mencionados anteriormente no han sido plenamente comprendidos. Atkinson y Carter (1984) han propuesto que se puede iniciar una cadena de reacciones por radical libre cuando el ozono reacciona con las hidrazinas, ya sea por la adición al nitrógeno o la sustracción de un hidrógeno en alguno de los enlaces débiles de N-H⁶⁰. Arnst y Tejada (1989) han puntualizado que bajo las condiciones ácidas del análisis, la adición del ozono al nitrógeno protonado está restringida y entonces la sustracción del hidrógeno podría ser el camino más probable⁴¹.

Lo mencionado anteriormente nos da una idea más precisa de lo importante que es la interferencia causada por el ozono durante las mediciones de carbonilos. Es por ello que

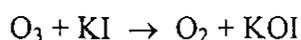
diversos investigadores se han dado a la idea de buscar procedimientos o aditamentos mediante los cuales eliminar las interferencias.

Uno de los procedimientos más aceptados por la comunidad es el colocar trampas de yoduro de potasio (KI) antes de los sistemas que contienen DNPH para eliminar el ozono. La trampa puede consistir de despojadores o simples tubos de cobre recubiertos por una solución de KI.

El mecanismo bajo el cual actúa el KI para eliminar el ozono se representa por la reacción⁶¹:



Sin embargo, se ha propuesto otro mecanismo, el cual no requiere agua, mediante el cual se elimina el ozono⁶¹:



Aunque el primero es más probable debido a la humedad presente en el ambiente.

Las trampas de KI han mostrado ser muy efectivas tanto a flujos elevados de muestreos como en diversas condiciones de humedad. Sin embargo, se ha reportado que debido a que las sales de yodo son muy higroscópicas el análisis se puede ver afectado⁶².

Capítulo 4

CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS.

¿Qué es la cromatografía? Aunque existen varias definiciones, en este trabajo sólo se escribirá aquella que proporcionó el comité especial de la Unión Internacional de la Química Pura y Aplicada (por sus siglas en inglés, IUPAC):

“La cromatografía es un método utilizado principalmente para la separación de los componentes de una mezcla, en dicho método los constituyentes de la mezcla son distribuidos en dos fases, una de las cuales es estacionaria mientras la otra se mueve. La fase estacionaria puede ser sólida, o de un líquido soportado en un sólido, o un gel. La fase estacionaria puede ser empacada en una columna o distribuida como una película⁶³.”

Pero la cromatografía es una técnica muy versátil y de gran aplicación en los laboratorios químicos y bioquímicos modernos en diversas áreas como el control de calidad, análisis, investigación y mediciones fisicoquímicas por mencionar algunas. Industrialmente, se utiliza para la purificación de fármacos, tierras raras y azúcares. En los laboratorios de investigación se utiliza para la separación de cantidades mínimas de sustancias en una mezcla compleja.

La mayoría de los procedimientos en cromatografía de líquidos están basados en una forma sólido-líquido, en la cual la fase estacionaria es esencialmente una superficie. En estos sistemas, el espacio que ocupa una molécula retenida de soluto estaba ocupado anteriormente por una molécula de fase móvil. La retención de un analito involucra por lo tanto una competencia entre las moléculas de éste y de la fase móvil por un espacio en la fase estacionaria.

Además de esto, existen interacciones entre las moléculas de los componentes de la mezcla y de la fase móvil. Entre las más importantes se encuentran:

1. Fuerzas de dispersión o London (P-P)
2. Fuerzas Keelson (D-P o P-D)
3. Fuerzas de Debye o de orientación dipolar (D-D)
4. Enlaces de hidrógeno (A-B y B-A)

Los términos P,D,A y B se refieren a la polaridad, momento dipolar, acidez y basicidad, respectivamente. Esto es muy útil para caracterizar a las moléculas de analito y solvente de acuerdo a su *polaridad*, la cual es una medida total de estas fuerzas. Se han propuesto algunas clasificaciones para los solventes más comunes en HPLC con base en su polaridad. No obstante, existen otros parámetros que deben tomarse en cuenta para la elección de un solvente adecuado para lograr la separación. Como se mencionó anteriormente, basándose en la naturaleza polar o apolar de la fase estacionaria las moléculas tendrán una preferencia para quedarse retenidas o no. La fuerza del solvente puede ser entonces controlada al ajustar la polaridad de la fase móvil mediante la mezcla de diferentes solventes.

4.1 Clasificación de la Cromatografía.

El realizar una clasificación de la cromatografía facilita y simplifica el estudio del método. La clasificación se puede realizar basándose en uno o varios de los factores que afectan la separación de los componentes de una mezcla. Para el objetivo propuesto en este trabajo, la clasificación se basa en la fase móvil utilizada⁶⁴. La clasificación, mostrada en la siguiente figura (Fig 4.1), hace notar la importancia de la fase móvil en el mecanismo de la separación y divide a la cromatografía en tres grandes ramas: cromatografía de líquidos, cromatografía de gases y cromatografía de fluidos supercríticos. La misma figura muestra que dependiendo del tipo de fase estacionaria y la configuración del equipo se da un nombre específico al método cromatográfico empleado durante un análisis. La configuración se refiere al equipo y procedimientos operacionales de desarrollo del proceso cromatográfico. En este caso existen dos formas principales: en columna o plana. Esto se refiere a la forma en la cual puede encontrarse la fase estacionaria. Cuando la fase estacionaria está empacada dentro de una columna o en forma de una película uniforme en las paredes de la misma se habla de una configuración en columna. Por otro lado, si la fase estacionaria se distribuye sobre una placa plana de vidrio, aluminio u otro material, se habla de una configuración plana o en placa.

El desarrollo del análisis se puede efectuar de tres distintas formas: frontal, desplazamiento o elución, siendo éste último el más importante.

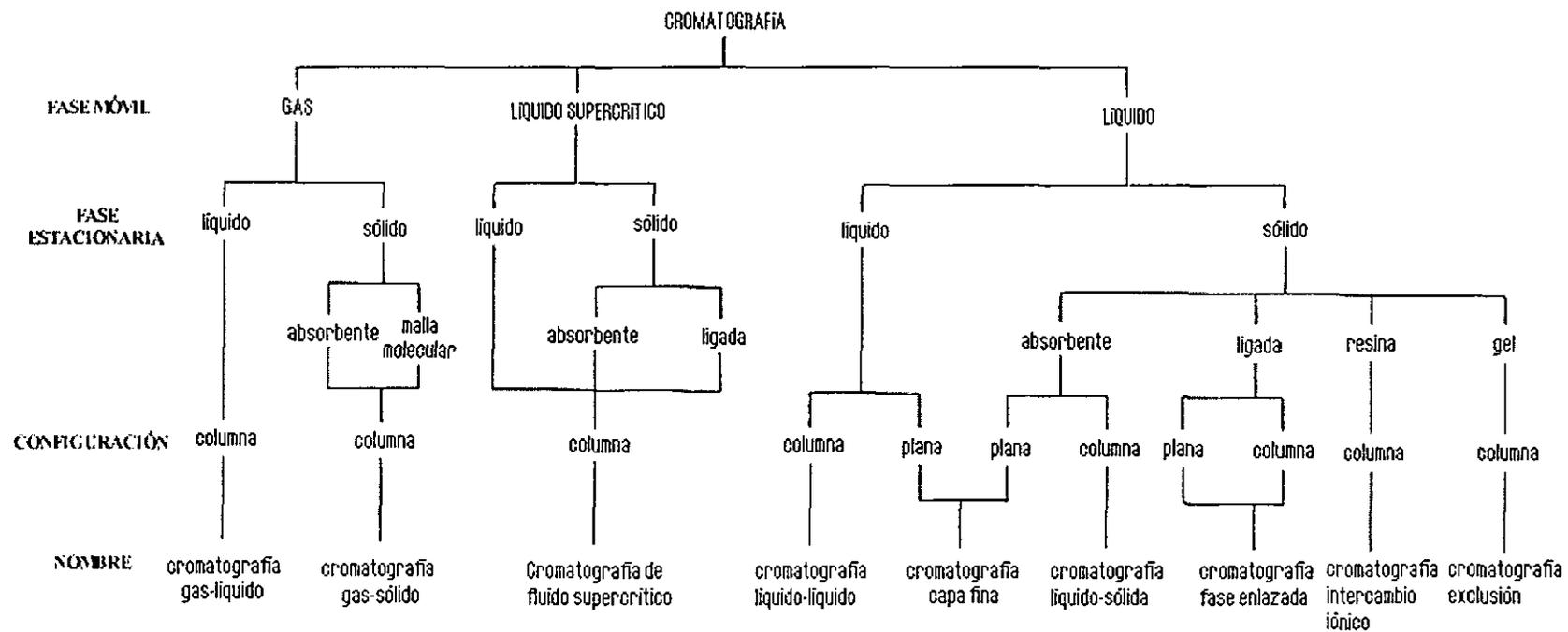


Fig 4.1
Clasificación de la cromatografía en base al estado físico de la fase móvil empleada.

4.1.1 Elución.

Esta técnica es la más empleada en los métodos cromatográficos y representa el fenómeno básico de las separaciones. Para explicar adecuadamente lo que sucede, imagínese una mezcla que contenga sólo dos sustancias (A y B) que se introducen en la parte superior de una columna empacada y que, mientras pasa un disolvente, se van separando.

Tras la introducción de una porción de la mezcla, el agregado de una cantidad de disolvente hace avanzar hacia abajo de la columna una parte de la muestra, la cual está disuelta en el disolvente, donde se producen interacciones entre la fase estacionaria, la muestra y el disolvente que avanza. Las adiciones continuas de disolvente desplazan a las moléculas de los solutos a través de la columna en una serie de interacciones entre las fases móvil y estacionaria. Debido a que el movimiento de los solutos puede tener lugar sólo en la fase móvil, la velocidad media a la que emigra un soluto depende de la fracción de tiempo en el que permanece en esa fase. Esta fracción de tiempo es pequeña para los solutos con relaciones de partición que favorecen la retención en la fase estacionaria y grande para aquéllos en los que la retención en la fase móvil es más importante. En condiciones ideales las diferencias resultantes en estas velocidades hacen que los componentes de la mezcla se separen en bandas localizadas a lo largo de la columna. Todo este procedimiento se esquematiza en el esquema (Fig. 4.2) ⁶⁴.

4.2 La cromatografía de líquidos de alta resolución.

La instrumentación necesaria para la cromatografía de líquidos se ha desarrollado constantemente durante las dos últimas décadas hasta el punto de lograr configuraciones muy diferentes a las de los primeros equipos que utilizaban columnas abiertas. La cromatografía de líquidos de alta resolución, o de alta presión como aparece en algunos textos (HPLC es la abreviación en el idioma inglés de *High Performance Liquid Chromatography*), ha revolucionado el campo de las separaciones. Los compuestos y mezclas que en alguna ocasión fueron considerados muy difíciles de separar por sus condiciones de polaridad, volatilidad o inestabilidad térmica pueden actualmente ser fácilmente separados mediante el uso de esta técnica. El mayor desarrollo en este campo ha sido logrado por la elaboración de columnas empacadas con materiales de tamaño de

partícula pequeño (5 ó 3 μm son las más pequeñas en el mercado actual) y uniforme que pueden además tener cadenas de hidrocarburos enlazadas en la superficie de dichas partículas.

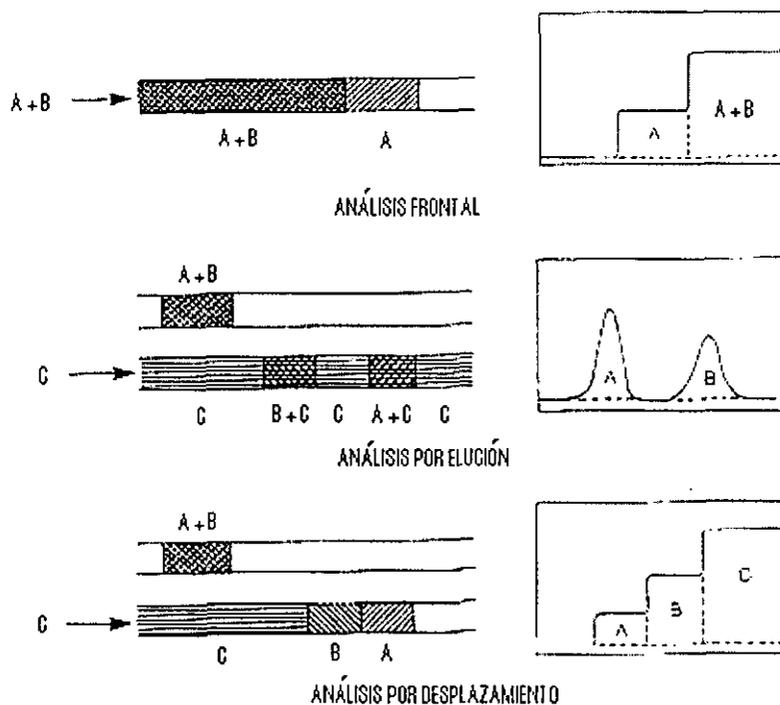


Fig. 4.2

Representación esquemática de los diferentes modos de desarrollo mostrando el efecto en la migración de los componentes de la mezcla y los perfiles resultantes. Los componentes de la mezcla son representados por las letras A y B y la fase móvil por la letra C.

Los componentes básicos de un sistema de HPLC consisten de un solvente (el cual se denomina fase móvil o eluyente) en un contenedor, un sistema de bombeo para el mismo, un sistema de inyección de muestra (inyector) que puede operarse en forma manual o automática, una columna, uno o más detectores y un sistema de integración de los datos. La columna, que contiene a la fase estacionaria sobre la cual la separación se llevará a cabo, esta conectada típicamente al inyector por medio de tubos de diámetro muy estrecho (0.1 pulgadas o menos) a fin de minimizar el efecto de ensanchamiento de bandas. Los compuestos separados pasan después al detector donde generan una señal, la cual es guardada por el sistema de integración. Se puede emplear más de un detector en un mismo

sistema para maximizar la información de la muestra en una misma inyección, para ello los detectores son conectados en serie. La señal de detección es generada sobre la base de alguna propiedad del soluto o de la fase móvil, por ejemplo absorbancia de luz, fluorescencia, conductividad u otra. El sistema integrador puede ser desde un simple graficador a una computadora.

Por medio de una computadora se puede manejar, actualmente, todo el sistema cromatográfico, como la bomba, el volumen de inyección o la longitud de onda del detector y su sensibilidad.

Las separaciones de mezclas a través de sistemas de HPLC se pueden clasificar en tres categorías: separaciones por adsorción o fase normal, separaciones en fase reversa y separaciones por intercambio iónico.

Las separaciones en fase normal requieren que la fase estacionaria sea más polar que la fase móvil. Esta modalidad fue la primera en utilizarse; sin embargo, actualmente no es la más usada en HPLC. Las separaciones iónicas aprovechan la propiedad de algunas sustancias para formar iones al cambiar el pH de la solución en la cual se encuentran inmersos. La fase reversa es utilizada en aproximadamente el 65% de las separaciones de HPLC⁶⁵ y es actualmente la más importante de las tres categorías mencionadas anteriormente. No obstante, este mecanismo de separación no es conocido del todo y sólo se acepta que ocurren interacciones entre el soluto y la fase móvil para lograr la separación.

4.3 Cromatografía en fase reversa.

Dado que esta modalidad de HPLC es la más común, se explicarán brevemente los principios involucrados:

La cromatografía en fase reversa se caracteriza por el uso de una fase móvil polar y una fase estacionaria no polar. La fase móvil más común es una mezcla de agua con algún solvente de tipo orgánico y miscible en un amplio rango. Los solventes más comunes son metanol, acetonitrilo y tetrahidrofurano. La fuerza de la fase móvil aumenta con el porcentaje de solvente orgánico empleado en el desarrollo del análisis. También el empleo de solventes menos polares aumenta la fuerza de elución.

Aunque el mecanismo de separación no se ha comprendido perfectamente, es comúnmente aceptada la teoría de interacciones solvofóbicas. En la mayoría de los casos, y especialmente cuando se separan compuestos muy poco polares, la separación es debida a la fuerte afinidad del soluto por la fase estacionaria. Entre mayor sea la afinidad del soluto por la fase estacionaria y menor por el solvente de la fase móvil, mayor es el tiempo que permanece en la columna. Se dice entonces que el soluto es más retenido cuanto más afin es por la fase estacionaria.

A continuación se describirán algunos de los componentes más importantes del sistema de HPLC.

4.4 Componentes de un sistema de HPLC.

4.4.1 Bombas.

La principal función del sistema dosificador del solvente al equipo es bombear la fase móvil de la manera más reproducible como sea posible. Para los trabajos comunes en HPLC el flujo común proporcionado por una bomba es del orden de hasta 10 ml/min. Debido al tamaño de partículas empleadas en las columnas, las bombas de equipos HPLC pueden trabajar hasta con presiones de 41.4×10^6 Pa (6000 psi) y dosificar el eluente de forma precisa. Sin embargo, generalmente no se trabaja a presiones mayores que 35.88×10^6 Pa (5200 psi) a fin de evitar daños en la bomba. La bomba debe proporcionar, además, un flujo libre de pulsaciones para que no se vea afectada la señal registrada por el integrador y debe tener un volumen mínimo para que sea capaz de proporcionar cambios de fase de forma rápida. Los materiales de los cuales la bomba es construida deben ser inertes, o resistentes químicamente, a los componentes de la solución del eluente.

4.4.2 Columnas para HPLC.

Existen diferentes clasificaciones para el material de empaque de las columnas modernas de HPLC de acuerdo al tamaño, tipo y material de la partícula, entre otras características. En la actualidad se emplean muchos materiales en el empaque de columnas cromatográficas de modo que se amplían las posibilidades para lograr un objetivo, pero también se tienen mayores problemas en la selección de la más adecuada. Al igual que cuando se requiere

elegir el tipo de cromatografía, la elección de una columna requiere que se respondan ciertas preguntas muy sencillas que nos puedan conducir a una buena elección. La figura muestra el camino a seguir (Fig 4.3); sin embargo, también es indispensable la experiencia y un juicio lógico para obtener resultados y optimizar el sistema de separación.

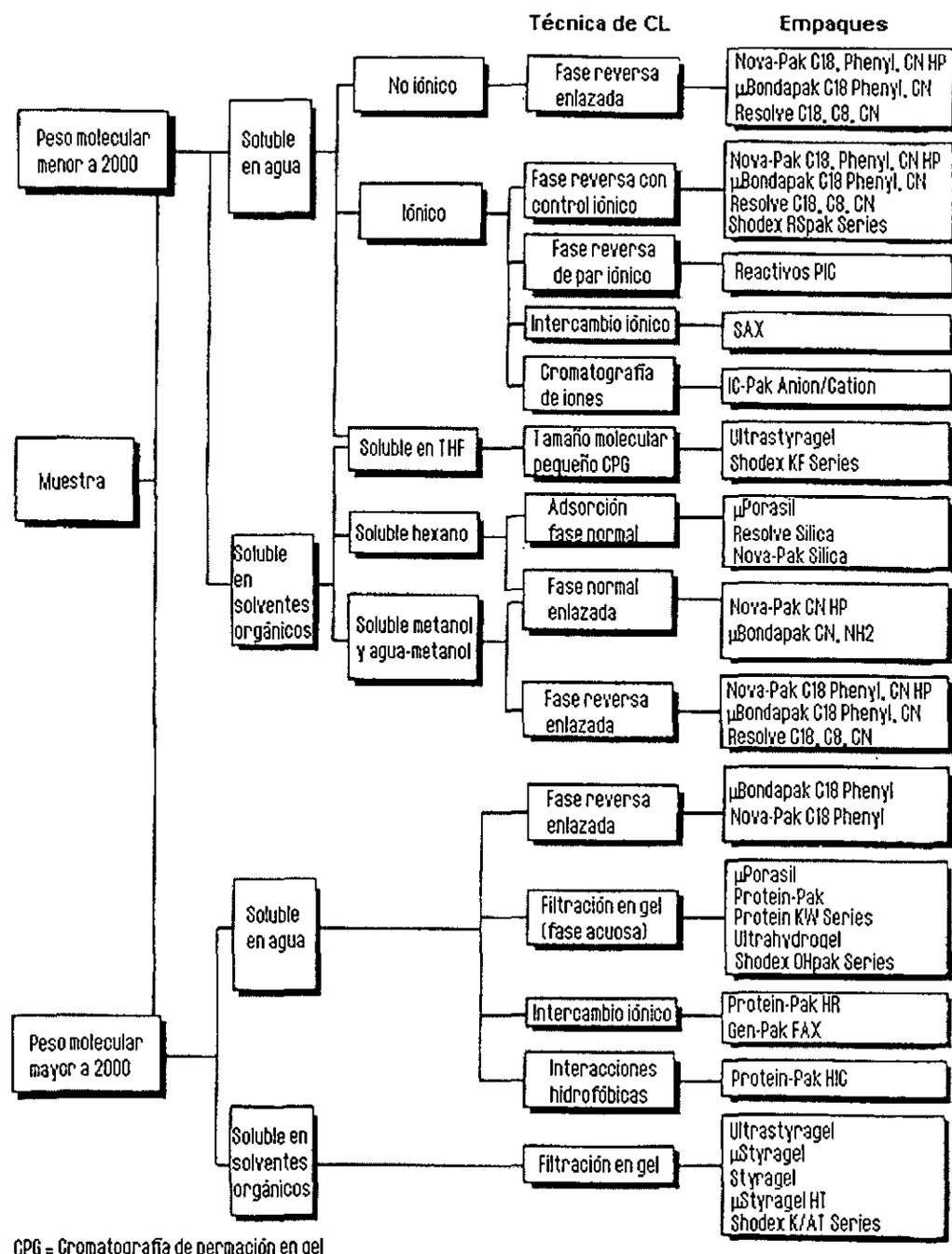


Fig 4.3

Guía para la selección del método cromatográfico y empaques de columnas a utilizar (Ref 64)

4.4.3 Detectores.

Actualmente no existe un detector universal para todas las determinaciones de HPLC. Es por ello que en algunas ocasiones se ocupan detectores en serie. Existen detectores que miden alguna propiedad intrínseca de los solutos o bien de la fase móvil. Aquellos detectores que miden la propiedad de un soluto son más selectivos que aquéllos que se basan en propiedades de la fase móvil.

El modo normal de operación de un detector de HPLC es medir una señal proveniente de la fase móvil que se toma como base. Al pasar un compuesto dentro de la solución, la propiedad que se mide cambia y esto es medido como un aumento o disminución de la señal que es registrada por el integrador con lo que se obtiene una gráfica característica en este tipo de análisis a la que se llama cromatograma.

Un detector para HPLC debe cumplir con las siguientes características: alta sensibilidad a los cambios de la propiedad de interés, bajo nivel de ruido, un rango de respuesta lineal, bajo volumen muerto, estable al trabajar durante períodos largos, que la respuesta que proporcione no sea dependiente de los cambios de los parámetros de operación (como presión, temperatura, flujo o composición de la fase móvil). Aunque no todos los detectores cumplen con todas las características, los más comunes cumplen con la mayoría de ellas y con eso es suficiente.

4.5 Comparación de las técnicas.

La elección de una técnica apropiada es una cuestión muy importante. Sin embargo, existen ciertas preguntas que, al responderlas, nos pueden proporcionar la técnica más idónea para la realización de nuestro objetivo (Fig. 4.4).

La naturaleza del analito y la matriz son las primeras consideraciones así como la disponibilidad de alguna pieza particular del equipo. Algunas veces puede ser obvia la elección de la técnica pero en otras no es así, de modo que la experiencia del operador es importante.

En principio, la elección entre la cromatografía de gases, la de líquidos y la de fluidos supercríticos es relativamente fácil. Si el analito es volátil, es decir, que tiene un punto de ebullición menor a 500°C, la elección sería en favor de la cromatografía de gases. La versatilidad de la cromatografía de líquidos estriba en que se pueden detectar una gran

gama de sustancias que van desde orgánicas hasta inorgánicas, con alto o bajo peso molecular, si son especies iónicas o no, a través de diversos detectores. Además de lo anterior, se pueden realizar derivatizaciones de los analitos para modificar sus propiedades y así poder ocupar otra técnica que incremente el panorama del análisis.

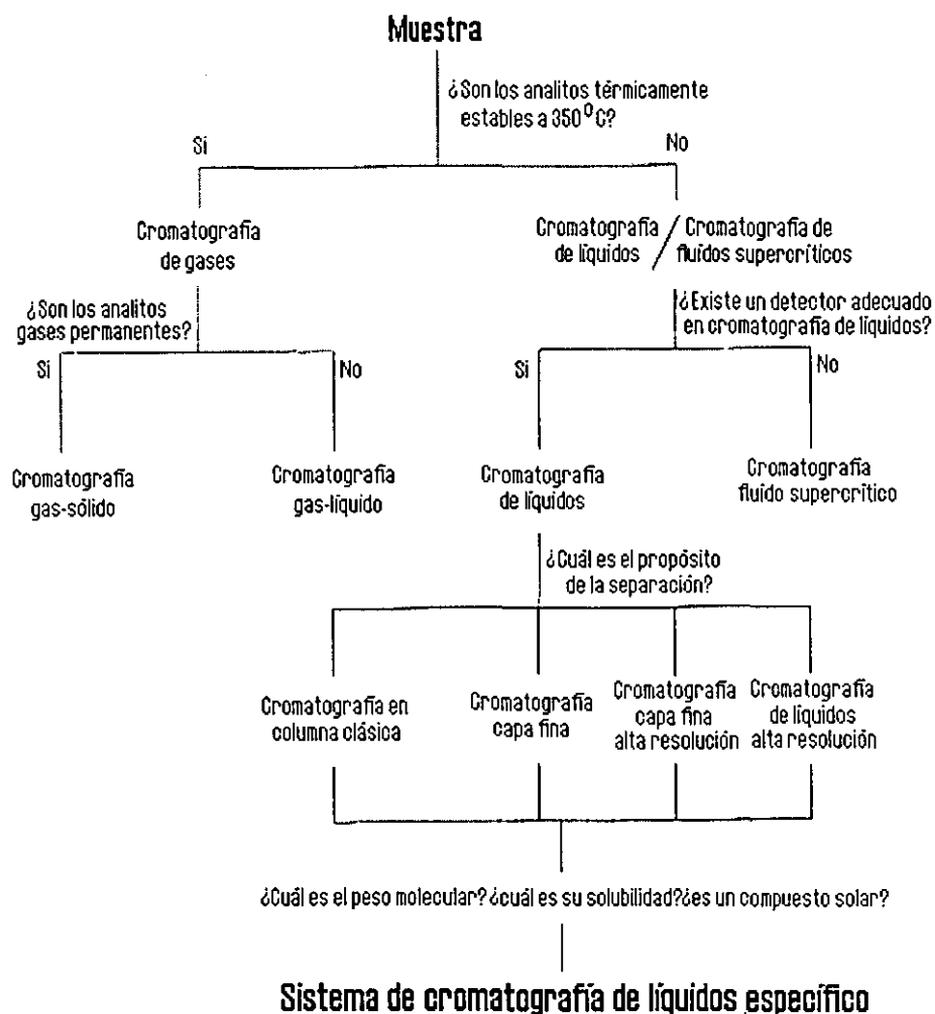


Fig. 4.4

Diagrama de selección de técnica cromatográfica.

Capítulo 5

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL Y RESULTADOS.

5.1 Muestreos y análisis.

Los muestreos realizados desde 1996 han sido con base en lo propuesto por Possanzini y colaboradores (1989)¹². De esta forma se utilizan despojadores concéntricos de 3 tubos de 25 cm de largo impregnados con una solución de 1% en peso de 2,4-DNPH y 1.5% de ácido fosfórico (H_3PO_4) en acetonitrilo (que será representado por MeCN) grado cromatográfico. Además del despojador con DNPH se coloca debajo de éste otro con una solución de KI al 10 % en agua para eliminar las interferencias causadas por el ozono. Los despojadores se secan pasando una corriente de aire cero a una velocidad de 2 ó 3 litros por minuto durante 5 minutos aproximadamente. Una vez listos se colocan en el sistema de muestreo para que pase aire del ambiente a través de los despojadores a un flujo de 10 litros por minuto durante períodos de 6 y 12 horas (6600 y 13200 litros de aire por período, respectivamente).

Una vez concluido el tiempo de muestreo, se retiran los despojadores y se extraen con 20 ml de una solución H_2O -MeCN (1:1 en volumen) realizando dos extracciones de 10 ml cada una. El volumen total se deposita en frascos de polietileno hasta el momento de su análisis.

El análisis de las muestras en los años de 1996 y 1997 se realizó inyectando 20 μ l de la solución de extracción en un cromatógrafo Perkin Elmer con bomba isocrática y un detector de UV de longitud variable marca GBC. La columna cromatográfica usada era del tipo usado en cromatografía de fase reversa, marca Spherisorb ODS (ODS se refiere a que tiene cadenas de octadecilsilano o C_{18} ligadas a la superficie de las partículas de sílice del empaque de la columna), de 15 cm de largo y 4.5 mm de diámetro con partículas de 5 μ m de diámetro. Como fase móvil se utilizaba una solución de H_2O - CH_3CN (45:55) a un flujo de 1 ml/min.

El número de muestras fue de al menos 100 durante 1996, 90 durante 1997 y al menos 76 durante 1998. De todas ellas, sólo se tomó un grupo representativo de ellas (20 aproximadamente) y se muestran los mejores ejemplos en este trabajo (Apéndices A y D).

5.2 Experimentación.

Para comenzar el trabajo experimental fue necesario tomar decisiones sobre cómo formar los estándares, es decir las hidrazonas correspondientes, y cuáles de ellos serían los más probables de encontrar en las muestras de los años mencionados.

Para formar los estándares correspondientes se tomó como punto de partida lo que se realiza en el Laboratorio de Química Atmosférica del CCA de la UNAM. En el laboratorio mencionado se utiliza una técnica de derivatización de los carbonilos con 2,4-DNPH en solución⁶⁶. No obstante, se hizo una modificación del método para preparar algunos de los estándares. Dicha modificación se menciona durante la descripción de la recristalización de las hidrazonas obtenidas.

Después de ello se seleccionaron los compuestos con los cuales ampliar el espectro de los carbonilos estudiados hasta ese momento. Dichos compuestos son listados a continuación:

1. 2-butanona
2. 3-metil-2-butanona.
3. 2-pentanona
4. 3-pentanona
5. 4-metil-3-penten-2-ona
6. 3,3-dimetil-2-butanona
7. Acetofenona

Estos compuestos se sumarían a la lista de los primeros cinco carbonilos:

- Formaldehído
- Acetaldehído
- Acetona
- Propanal o propionaldehído
- Butanal o butiraldehído

5.2.1 Preparación de los estándares (derivados).

El procedimiento propuesto, basado en el de Shiner, *et. al*, (1965)⁶⁶, es el siguiente:

Se pesa aproximadamente 0.8 gramos de DNPH en un matraz Erlenmeyer, se agregan 6 mililitros de agua deionizada y 4 mililitros de ácido sulfúrico concentrado y al final se adicionan 20 mililitros de etanol grado cromatográfico.

Por otro lado, en un matraz Erlenmeyer de 125 mililitros se pesa aproximadamente un gramo del carbonilo que se desea derivar y se diluye con 40 mililitros de etanol grado cromatográfico. Se combina el contenido de ambos matraces y se espera hasta que la reacción se complete dejando la solución durante toda la noche a temperatura ambiente y protegida de la luz.

Al día siguiente, se filtra el contenido del matraz y se realiza una recristalización disolviendo los cristales con etanol caliente o, en casos como 4-metil-3-penten-2-ona y acetofenona, con acetonitrilo y agua (máximo 10 mililitros) para después filtrar la solución caliente y dejar reposar el filtrado durante la noche.

Finalmente, al día siguiente se filtran al vacío los cristales obtenidos y se lavan con un poco de etanol. Los cristales obtenidos se dejan en frascos de vidrio color ámbar dentro de un desecador. Los cristales tienen, en general, un color naranja a rojizo y son de aspecto fibroso, es decir, largos y delgados.

5.2.2 Obtención de las condiciones de separación por HPLC.

Una vez obtenidos los cristales de los derivados de interés, se procedió a realizar pruebas cualitativas en el equipo de HPLC. Para ello se prepararon soluciones de los derivados con acetonitrilo para inyectarse en el cromatógrafo. Nuevamente se tomó como punto de partida el método utilizado en el laboratorio ya mencionado para obtener los tiempos de retención correspondientes a los nuevos compuestos, los cuales se fueron agregando a la mezcla original de carbonilos poco a poco. El procedimiento cromatográfico original era de la siguiente manera:

Columna:	Hypersil ODS-2 de 25 cm. de largo y con tamaño de partícula de 5 μm .
Fase móvil:	Acetonitrilo-agua (45-55) a 1.5 ml/min.
Elución:	Isocrática.
Detección:	UV-Vis a 360 nm. con un detector marca GBC de longitud variable.

Sin embargo, se notó que el sistema original no lograba separar los derivados de C_4 (butanal y 2-butanona), además de los de C_5 (3-metil-2-butanona, 2-pentanona y 3-

pentanona). Esto dio paso a que se realizaran pruebas de elución en gradiente variando la composición de la mezcla eluente y, después, el solvente orgánico en la fase móvil.

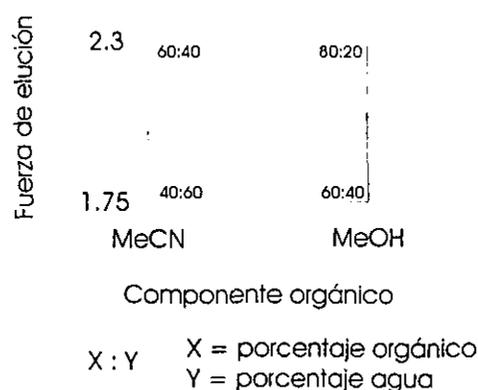
Haciendo uso del diseño de experimentos, se estableció un diagrama para realizar las pruebas basándose en lo que se menciona en el párrafo anterior. El diseño se basó en la técnica de diseño factorial, que tiene las ventajas de poder estimar la respuesta de todos los factores a evaluar en diferentes niveles. Por otro lado, se pueden determinar interacciones entre los factores, en caso de que éstas ocurriesen, y se minimiza el número de experimentos u observaciones realizados para determinar resultados.

Como se conocía de la fuerza de elución de la fase apoyándose en un diagrama proporcionado por Ahuja⁶⁵ (1989), el factor de fuerza se estableció alrededor del valor conocido (la fuerza de elución era aproximadamente igual a 2 para la fase móvil original).

El segundo factor fue el tipo de solvente empleado en la preparación de la fase móvil, esto implica que el tipo de interacciones analito-solvente usadas en el proceso de separación son diferentes por la naturaleza del solvente utilizado.

Sólo fue necesario ocupar dos niveles para cada factor. Ello permitió realizar pruebas con dos solventes y usar dos soluciones de diferente composición para cada solvente (los números en el interior del cuadrado muestran la composición de la fase móvil). Los solventes empleados fueron acetonitrilo y metanol (MeOH).

El diagrama utilizado quedó de la siguiente forma:



La evaluación se realizó por medio de la forma de los cromatogramas obtenidos. En ninguna ocasión fue necesario el evaluar la resolución obtenida por el uso de la fase móvil empleada.

Las pruebas realizadas con una fase móvil de metanol-agua (60-40) dieron una buena separación de los carbonilos de C₄ (butanal y 2-butanona) y las pentanonas (2-pentanona y 3-pentanona) pero no se lograba separar la acetona del propanal. En los casos con fase móvil agua-acetonitrilo sí se identificaron acetona y propanal, pero el resto de los compuestos en la mezcla no fue posible separarlos.

En ninguna de las pruebas realizadas se logró la separación de 2-pentanona y 3-metil-2-butanona.

Dados los datos mencionados, se procedió al desarrollo de una técnica de elución por medio de un gradiente ternario; esto es, un gradiente que involucrara los tres solventes que se habían utilizado en las pruebas anteriores: metanol, acetonitrilo y agua.

El desarrollo de un gradiente de este tipo se basó en el hecho de que ya en la literatura se tenían antecedentes de que otros experimentadores habían logrado la separación de los carbonilos de C₄ gracias a una mezcla ternaria⁶⁷, de modo que se comenzó a delinear cuáles serían los parámetros del gradiente.

En primer lugar se estableció que en el inicio de la corrida debía de haber acetonitrilo en la fase móvil, para después ir decreciendo en su concentración dentro de la fase móvil a medida que el sistema se fuera desarrollando. Esto era con el fin de que la separación de los compuestos más pesados que C₃ pudiesen separarse adecuadamente. Por otro lado, la proporción orgánica de la fase móvil no debía ser mayor a la de las pruebas en las cuales se había logrado una buena separación, por lo que se decidió que la proporción orgánica de la fase móvil al inicio de la corrida no debía ser mayor al 60 % en volumen.

A continuación se procedió a determinar la proporción inicial de acetonitrilo en la fase móvil y se obtuvieron resultados aceptables con 20 y 25 % en volumen de acetonitrilo y 30% de metanol. Posteriormente se realizaron pruebas para determinar el gradiente con el cual la proporción de acetonitrilo iría decreciendo y, de ser necesario, se eliminara.

De acuerdo con los datos que se obtuvieron, el acetonitrilo tenía que eliminarse uno o dos minutos después de que eluyeran los carbonilos C₃. Se iniciaría con una proporción de 20% de acetonitrilo para que fuese disminuyendo hasta que la mezcla se volviese binaria después de los 15 ó 20 minutos de iniciada la corrida con un flujo de 1.0 ml/min.

Después de esto, se procedió a optimizar el gradiente, quedando de la siguiente forma:

Min	0	10	20	25
% MeOH	35	50	70	80
% MeCN	20	10	0	0
% H ₂ O	45	40	30	20

Después de 25 minutos, la proporción quedaría igual hasta el final de la corrida. Con el programa anterior se obtuvo el siguiente cromatograma denominado e-150 (Fig. 5.1).

Page 1 of 1

File : c:\winchrom\crom-c-1\e-150
 Method : c:\winchrom\methods\draken-a.mct
 Sample ID : STD-20ppm
 Acquired : Mar 29, 1999 08:59:50
 Printed : Jun 21, 1999 17:01:40
 User : GMM-K
 File Desc. : Std-20 ppm con gradiente de MeOH:H2O:MeCN.

Channel B Results

Pico	Tiempo	Compuesto	Area	Altura	Anchura	T. inicio	T. final
1	8.7	Formaldehído	239053	11836	1.38	8.32	9.70
2	12.2	Acetaldehído	258605	9838	1.78	11.23	13.02
3	17.2	Acetona	273380	12307	3.80	13.67	17.47
4	17.7	Propanal	252154	11394	1.38	17.47	18.85
7	22.0	Butanal	222756	13885	2.20	20.23	22.43
8	22.8	2-butanona	214319	12684	1.40	22.43	23.83
9	27.9	2-pentanona	245492	11229	1.33	26.97	28.30
10	28.6	3-pentanona	181586	8492	0.98	28.30	29.28
11	32.1	4Me-3penten-2ona	184308	7172	1.15	31.37	32.52
12	33.0	3,3diMe-2butanona	182534	6470	0.98	32.52	33.50
13	34.0	Acetofenona	180577	6573	1.42	33.50	34.92

c:\winchrom\crom-c-1\e-150 - Channel B

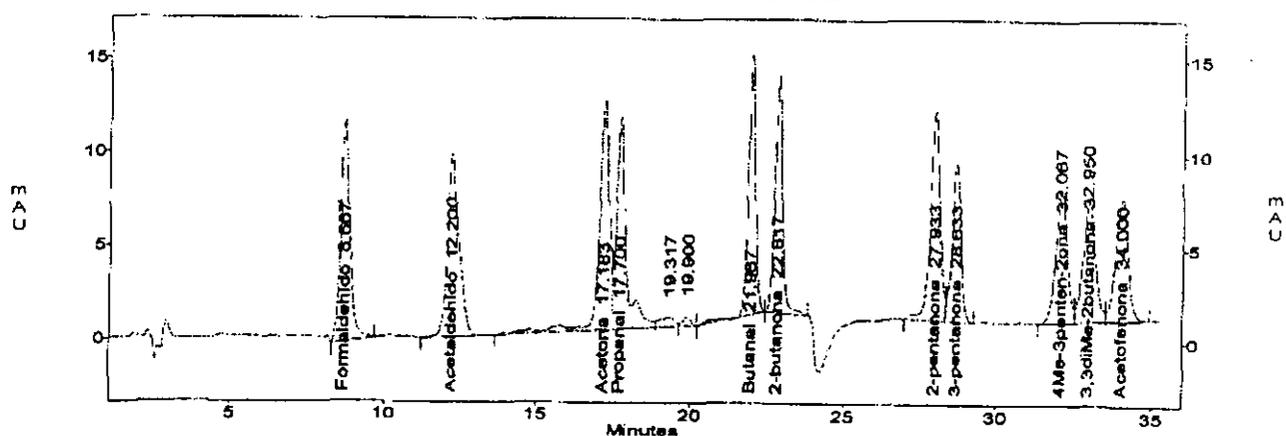


Fig. 5.1

Cromatograma de la mezcla con 20 mg de compuesto por litro de solución de los estándares de carbonilos obtenido con el primer gradiente antes de la falla del equipo.

Al empezar a realizar la curva de calibración el sistema comenzó a dar señales falsas en los cromatogramas, haciendo imposible la cuantificación de las áreas de los picos de los compuestos de interés. Por otro lado, la bomba y la columna tuvieron también problemas en

su funcionamiento. Todo esto tuvo como consecuencias cambios en el sistema, principalmente en la bomba, en la cual se tuvo que hacer una modificación en la cámara de mezclado de solventes. Dicha modificación fue la cancelación de una de las válvulas que controlan el flujo de alguno de los solventes que componen la fase móvil y el cambio de otra de ellas.

Otro factor que cambió fue la columna dado que se tuvieron que limpiar los filtros de la cabeza de la columna Hypersil de 25 cm. de largo. Esto provocó un cambio en su capacidad para resolver los picos correspondientes a los componentes de la mezcla a separar.

Sin embargo, el problema de las señales falsas siguió presentándose hasta que, finalmente, se descubrió que la calidad del agua utilizada no era la adecuada para el análisis. Esto se resolvió al usar agua grado cromatográfico.

5.3 Resultados.

Todo lo anterior provocó que el desarrollo del sistema cromatográfico cambiara significativamente, de tal modo que fue necesario volver a buscar condiciones adecuadas de separación y cuantificación de los compuestos. Así, el sistema que mejor funcionó fue empleando las condiciones siguientes:

Columna: Hypersil ODS-2 de 25 cm. de largo y 4.4 mm de diámetro y con tamaño de partícula de 5 μ m.

Volumen de inyección: 20 μ l.

Detección: a). UV-Vis de longitud variable a 360 nm.

b). Detector de diodos GBC.

Gradiente:

Comp	Min	0	12	20	28	45	55	56	65
% Agua		50	45	40	35	30	30	50	50
%MeOH		30	45	60	65	70	70	30	30
% MeCN		20	10	0	0	0	0	20	20

Flujo de eluente: 1 ml. / min.

Bajo estas condiciones se lograron obtener tiempos reproducibles y correr una curva de calibración de los compuestos antes mencionados a excepción del 3-metil-2-butanona. El

perfil típico de los cromatogramas se muestra en el siguiente cromatograma (Fig 5.2), pero los resultados de la calibración se muestran en el apéndice B.

Page 1 of 1

File : c:\winchrom\chrom\p.027
 Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Sample ID : STD-20 ppm
 Acquired : Apr 16, 1999 05:44:41
 Printed : Jun 22, 1999 10:42:14
 User : GMM-K
 File Desc. : Punto de curva de calibración con 20 ppm
 Channel B Results

Pico	Tiempo	Compuesto	Area	Altura	Anchura	T. inicio	T. final
1	8.2	Formaldehido	187919	6951	2.55	6.55	9.10
2	11.4	Acetaldehido	218295	6145	3.33	9.10	12.43
5	16.7	Acetona	193415	5299	2.67	14.67	17.33
6	17.8	Propanal	160848	4394	1.53	17.33	18.87
8	27.0	Butanal	167167	3177	2.77	24.88	27.65
9	28.2	2-Butanona	184119	3720	2.82	27.65	30.47
12	39.2	2-Pentanona **	165678	3351	3.67	36.02	39.68
13	40.1	3-Pentanona	160599	3372	1.93	39.68	41.62
15	46.5	4Me-3penten-2ona	158536	3400	2.07	44.92	46.98
16	47.3	3,3diMe-2butanona	149376	3113	1.43	46.98	48.42
17	50.2	Acetofenona	179555	3015	3.80	48.42	52.22

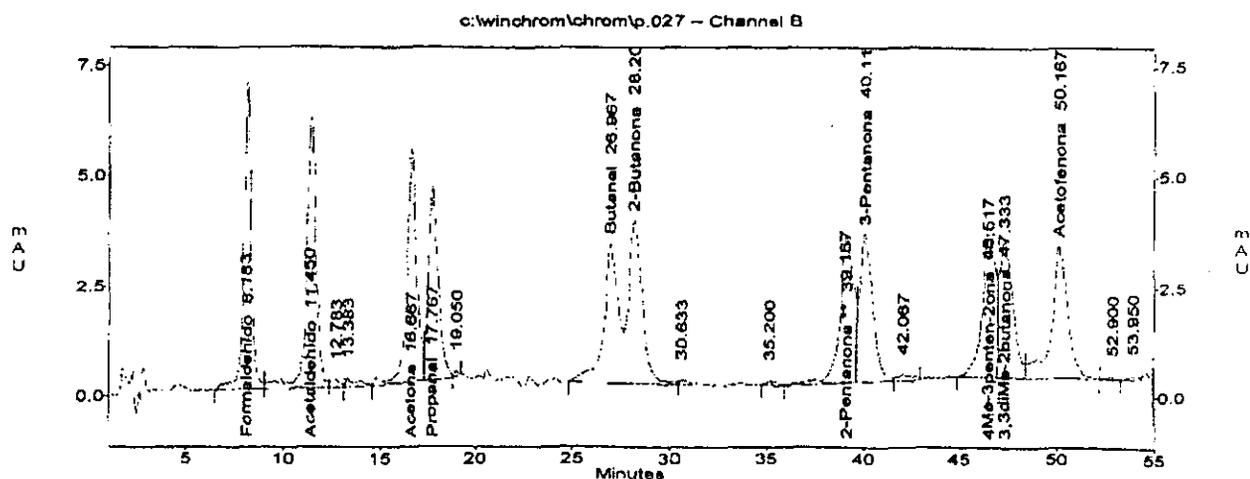


Fig 5.2

Cromatograma obtenido de la mezcla de estándares con concentración de 20 mg de compuesto por litro de solución utilizando el programa de elución definitivo después de corregir los errores en el sistema.

Por otro lado, en el apéndice C se muestran los espectros de los compuestos determinados en el detector de arreglo de diodos, así como algunas imágenes tridimensionales del cromatograma obtenido para el estándar de 100 mg de compuesto por litro de solución.

Una vez obtenida la curva de calibración, se volvieron a realizar inyecciones con las soluciones de estándares, ocupando fase móvil de acetonitrilo y agua solamente. Se ocuparon dos fases, variando solamente las proporciones del solvente orgánico (se usaron las fases ya mencionadas anteriormente). Por otra parte, también se cambió de columna,

una Spherisorb ODS-2 con partículas de 5µm y de 15 cm. de largo. El cambio de columna obedeció al hecho de que los cromatogramas obtenidos hace dos años fueron realizados con esta columna pero, debido a que en algún momento perdió selectividad al dejarse secar, se cambió por una de 25 cm. de largo, aunque con las mismas características. Después de obtener los cromatogramas con la columna Spherisorb mencionada, se procedió a evaluar los datos de picos o compuestos separados y los tiempos de retención en el sistema:

Areas, times, and heights stored in: D:\ALD282.ATB
 Data File = C:\ALD282.PTS Printed on 03-27-1996 at 17:29:48
 Start time: 0.00 min. Stop time: 35.00 min. Offset: 0 mv.
 Full Range: 1 millivolts.

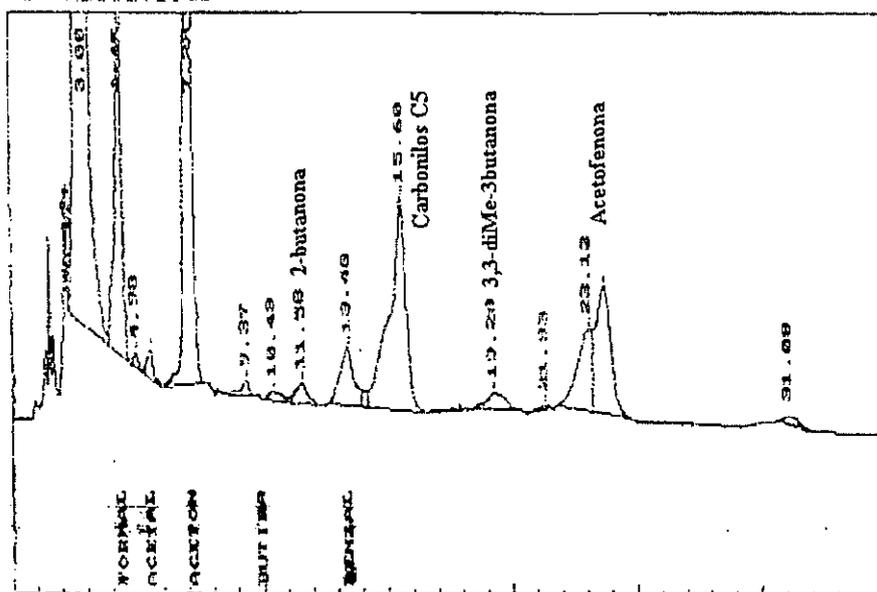


Fig 5.3

Cromatograma que despliega los resultados del análisis de picos para la muestra de la Fig. I.1 tomada en 1996.

1. El pico obtenido alrededor de los 11.4 minutos se atribuye a la presencia de 2-butanona en las muestras, suponiendo que la columna lograba la separación entre el butanal (que aparece a los 10.4 minutos) y la 2-butanona ya mencionada.
2. El pico correspondiente a los 15.5 minutos se atribuye a alguna de las pentanonas estudiadas (2-pentanona, 3-pentanona ó 3-metil-2-butanona) o de todas ellas juntas, dado que en los experimentos realizados no se logró la separación de ellas a menos que se utilizara un gradiente ternario.
3. El pico observado en la cercanía de los 19.2 minutos indica la presencia de los carbonilos C₆, en especial al compuesto denominado 3,3-dimetil-2-butanona, por el

perfil observado en los cromatogramas de m.012 y m.013 (Fig D.2 y Fig D.3 en el apéndice D, respectivamente) obtenidos durante el presente trabajo.

4. Respecto a los picos entre 22 y 24 minutos, éstos se pudiesen atribuir a la acetofenona. Sin embargo, se desconoce cuál de los dos es más probable, ya que cualquiera de ellos tiene la misma probabilidad.

Para los cromatogramas de 1997 y 1998 no se tiene tanta información, dado que el tiempo de análisis se recortó por cuestión de recursos y tiempo. Aún así, los posibles compuestos presentes en la muestra y que no se cuantificaron se presentan en la siguiente tabla:

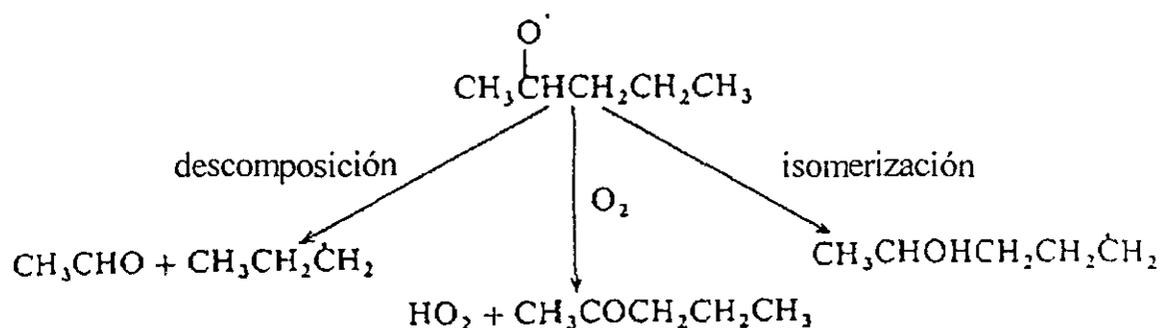
Tiempo de retención 1997	Tiempo de retención 1998	Compuesto propuesto
12	15.3	2-butanona
14.3	18.7	Carbonilos C5

Los cromatogramas de los años 1996, 1997 y 1998 analizados se muestran en el apéndice D junto con los obtenidos durante este trabajo y, los cuales, sirvieron como base en la identificación de otros constituyentes en las muestras obtenidas en los años mencionados.

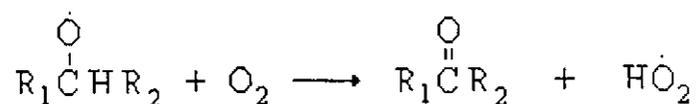
Precursores .

Todos los compuestos anteriores pueden ser producidos por diversos precursores y procesos atmosféricos. Es claro que algunas de las posibilidades son las reacciones de los alcanos o bien procesos que involucren alquenos o, en el caso de los carbonilos aromáticos, compuestos de este último tipo.

Aquí se muestran algunos de los procesos que pueden ocurrir con el radical alcoxi; el que nos interesa sobremanera es el que ocurre por la presencia de oxígeno molecular para formar la 2-pentanona y otro radical¹.



Lo mismo puede ocurrir para el caso de la 2-butanona y 3-pentanona o bien para cualquier otro de los compuestos de cadena lineal propuestos, si consideramos como reacción general el esquema precedente.



Tomando en cuenta lo anterior, algunos de los precursores podrían ser el n-butano (butanal, 2-butanona, acetaldehído), proveniente del gas LP que se vende para la mayoría de los hogares; el n-pentano (pentanal, propanal, acetaldehído, 2-pentanona y 3-pentanona), que es emitido a partir de los combustibles para automotores, además de otros hidrocarburos lineales o ramificados.

Costos de análisis.

El tiempo que se toma en realizar un análisis de gradiente se incrementa por el tiempo que debe uno esperar para equilibrar la columna en las condiciones iniciales, lo cual también aumenta el costo del análisis. A pesar de ello el costo del análisis en las condiciones con las cuales se trabajó en el equipo es ligeramente menor utilizando la técnica de elución con gradiente: \$6.50 (pesos mexicanos) contra \$6.60 para un análisis de 30 minutos con fase MeCN:H₂O [55:45]. Por otro lado, si consideramos los datos obtenidos en el cromatograma denominado e.150 (Fig. 5.1), el cual tiene mucho mejor aspecto que los obtenidos para la curva de calibración, el costo se aproximaría a los \$ 4.12, lo cual hace que el análisis de las muestras utilizando un gradiente de fase móvil para su elución sea más productivo.

No obstante, no se debe perder de vista que lo más interesante es que se ha logrado incrementar la cantidad de información que se puede obtener de la técnica de análisis utilizada.

Capítulo 6

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

A pesar de las diferencias en algunas de las condiciones de trabajo como son el cambio de columna, el cambio en el desarrollo del sistema después de abrir la columna para la limpieza de los filtros y el uso de un gradiente ternario para la elución de la muestra, es posible observar algunas regularidades en los resultados de los años 1996, 1997 y 1998 debido a que el método de muestreo es específico para carbonilos. Esto permite tener una serie homóloga que presentará algunas similitudes al ser analizada por HPLC.

Es por ello que se pueden dar algunas hipótesis acerca de los cromatogramas obtenidos en los años ya mencionados. También es justo decir que no se puede dar un diagnóstico seguro porque no se tienen los elementos suficientes pero, dados los antecedentes de la técnica de determinación de carbonilos por derivatización de los mismos con DNPH, podemos proponer las siguientes conclusiones:

1. El uso de un gradiente de elución ternario permitió definir claramente un mayor número de compuestos en los cromatogramas. Esto gracias a la diferencia de interacciones soluto-fase móvil que se presentan al cambiar la composición del eluyente, principalmente por el cambio de solvente orgánico.
2. La técnica propuesta muestra que es posible la determinación de carbonilos con un alto grado de exactitud ya que todas las curvas de calibración tienen coeficientes de correlación muy próximos a la unidad.
3. Se debe destacar que el número de compuestos que se pueden determinar con el nuevo método se incrementó a más del doble. Esto es, ahora se pueden determinar hasta 11 carbonilos en un solo análisis.
4. Por otro lado se logró una pequeña reducción en el costo del análisis, aun cuando el tiempo del mismo no es el ideal, lo que hubiera sido diferente en el caso de no tener los problemas de equipo.
5. El método de obtención de los estándares produce cristales de alta pureza, como se logró ver al correr diversos cromatogramas cuando se realizaron las pruebas de elución para determinar los tiempos de retención de las diferentes hidrazonas obtenidas. En los cromatogramas que se mencionan no se observaron picos extraños a los del derivado en cuestión.

6. La recristalización de los estándares de las hidrazonas de carbonilos con más de 5 carbonos es posible mediante el empleo de acetonitrilo. No obstante, el rendimiento de la reacción se ve reducido ya que se obtienen pocos cristales.

Es justo decir que la técnica de cromatografía de líquidos no es suficiente para asegurar plenamente que los picos de los cromatogramas sean por la presencia de los compuestos que se mencionan en este trabajo; sin embargo, los espectros UV obtenidos del detector de arreglo de diodos pueden ayudar a la plena identificación de los compuestos presentes en las muestras si se compara la longitud máxima de absorción, que debe ser ligeramente diferente para cada derivado.

Por otro lado, la forma de los espectros es muy similar debido a que la molécula de 2,4-DNPH es muy grande respecto a los carbonilos que se integran en la reacción de derivatización. Esto implica que la absorción de radiación UV sea principalmente por parte de la hidrazina.

Con respecto al diseño de nuevos muestreos, se pueden realizar experimentos incrementando el flujo de aire al sistema de despojadores, una vez teniendo los nuevos sistemas de eliminación de partículas o ciclones que permiten flujos de hasta 17 litros por minuto, con lo que el tiempo de muestreo sería reducido significativamente o bien coleccionar una mayor cantidad de carbonilos en el mismo tiempo de muestreo.

Lo anterior no quiere decir que se haya obtenido toda la información posible de los cromatogramas de los años 1996, 1997 y 1998. Existen aún algunos picos de los que no se tiene un parámetro que nos ayude a su identificación y su cuantificación -del benzaldehído sólo se tenía el tiempo de retención, pero en realidad no se había obtenido un estándar lo suficientemente puro para correr una curva de calibración-. Eso quiere decir que se deben obtener más estándares que nos permitan darnos una mayor idea acerca de lo que existe allí. Un ejemplo de los estándares a producir es el derivado de la vinilmetilcetona, que es uno de los productos de las reacciones del isopreno. Pero lo más importante es que el incrementar la cantidad de los estándares nos permitiría conocer más acerca de la química atmosférica de nuestro medio ambiente, además de conocer la concentración de estos compuestos en el aire.

En resumen, los objetivos planteados en este trabajo se lograron plenamente. El Departamento de Ciencias Ambientales del CCA de la UNAM podrá contar con un mejor

método para la determinación de carbonilos sin que éste tenga un costo mayor. Además, una vez que la bomba este operando en mejores condiciones, se podrán realizar las modificaciones pertinentes al método para mejorarlo con lo que se optimizarán los recursos de este departamento.

Apéndice A

Cromatogramas de los años 1996, 1997 y 1998 que se utilizan como referencia para este trabajo.

Areas, times, and heights stored in: C:\ALD187.AIR
 Data File = C:\ALD187.D18 Printed on 08-13-1996 at 14:35:42
 Start time: 5.00 min. Stop time: 55.00 min. Offset: 0 mv.
 Full Range 1 millivolt

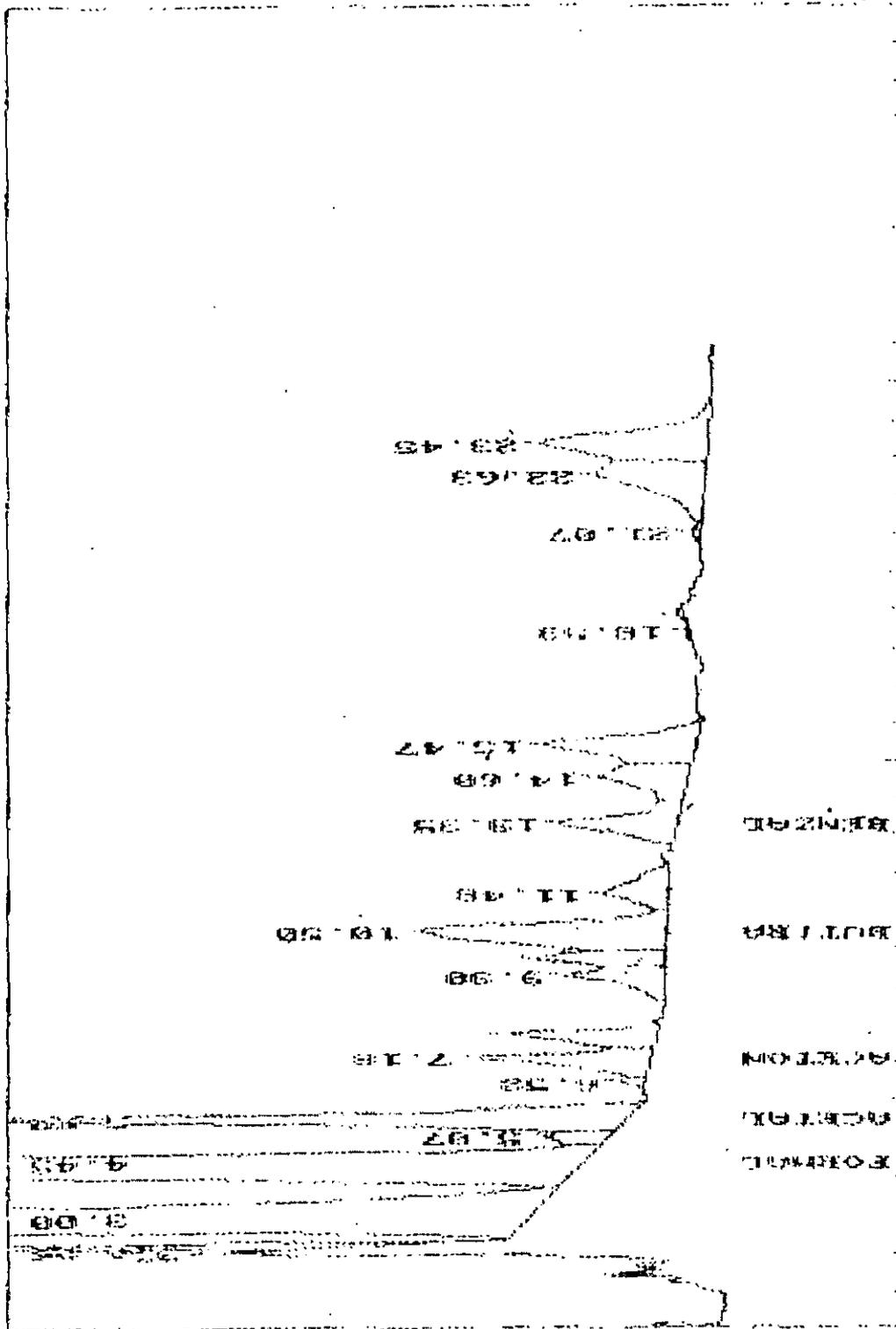
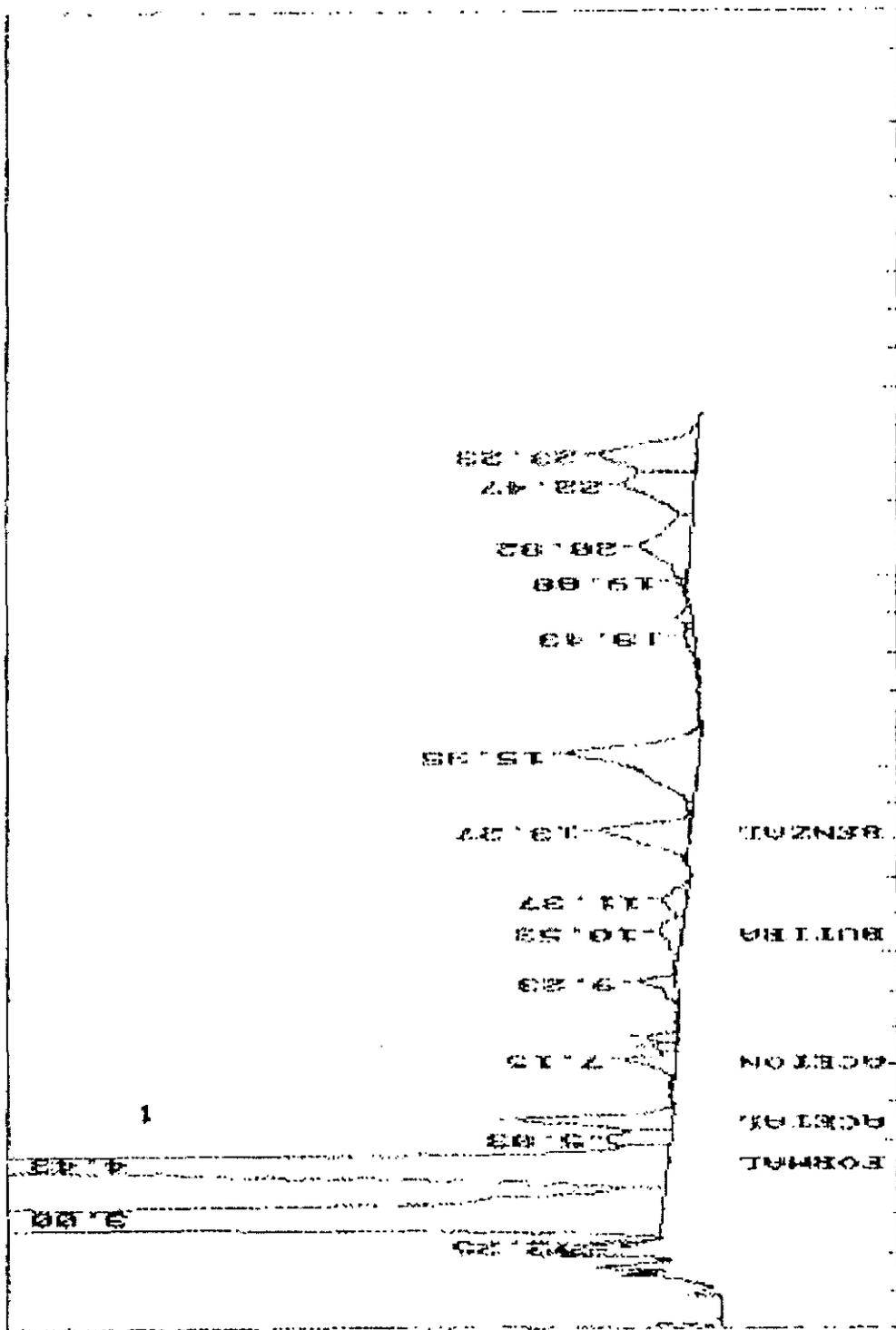


Fig A.1 Cromatograma de la muestra ALD187 tomada en febrero de 1996.

Areas, times, and heights stored in: C:\ALD195.ATE
 Data File = C:\ALD195.DTS Printed on 03-13-1996 at 17:01:18
 Start time: 0.00 min. Stop time: 25.00 min. Offset: 0 mv.
 Full Range: 1 pA/div



Output redirected to LPT1:

1-7 CL C:\ALD195.DTS Processed: 03-13-1996 17:01:18. segment 1, byte 197
 RAW DATA STORED IN FILE C:\ALD195.DTS

Fig A.2 Cromatograma de la muestra ALD195 tomada en febrero de 1996.

Areas, Lines, and Heights stored in C:\ALD282.ALI
 Data file - C:\ALD282.PTO printed on 03-27-1996 at 17:29:48
 Total Lines: 0.00 min. stop time: 35.00 min. Offset: 0.00
 Plot Range: 1 min/10vol

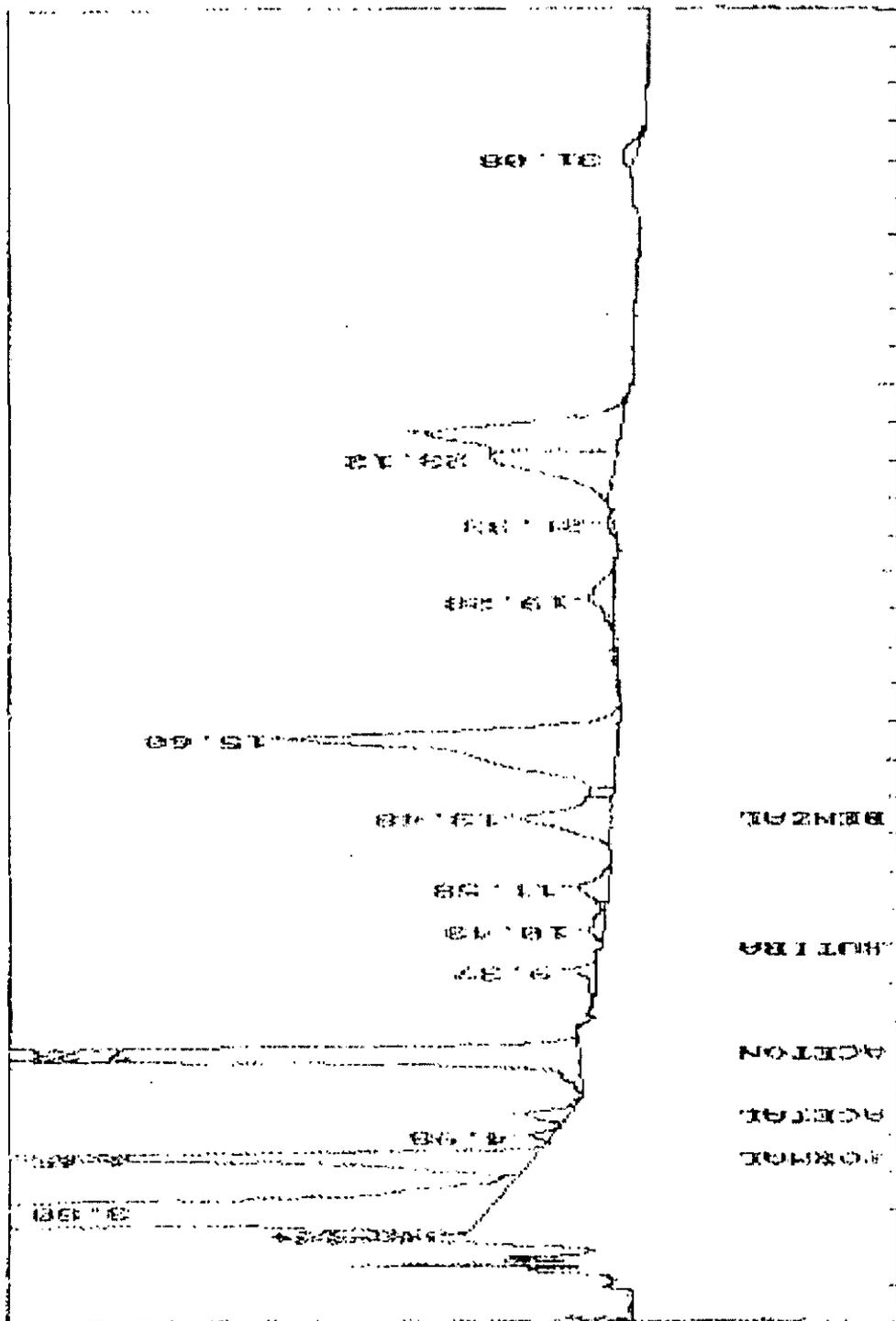


Fig A.3 Cromatograma de la muestra ALD282 tomada en marzo de 1996.

Plot of data file: C:\ald715.PTS

Date: 07-07-1999 Time: 11:05:10

Sample Name: D1-1/AJS-F 24-3-97

Start Time= 0.03 Stop Time = 15.02 Min. Scale= 0 Max. Scale= 1000

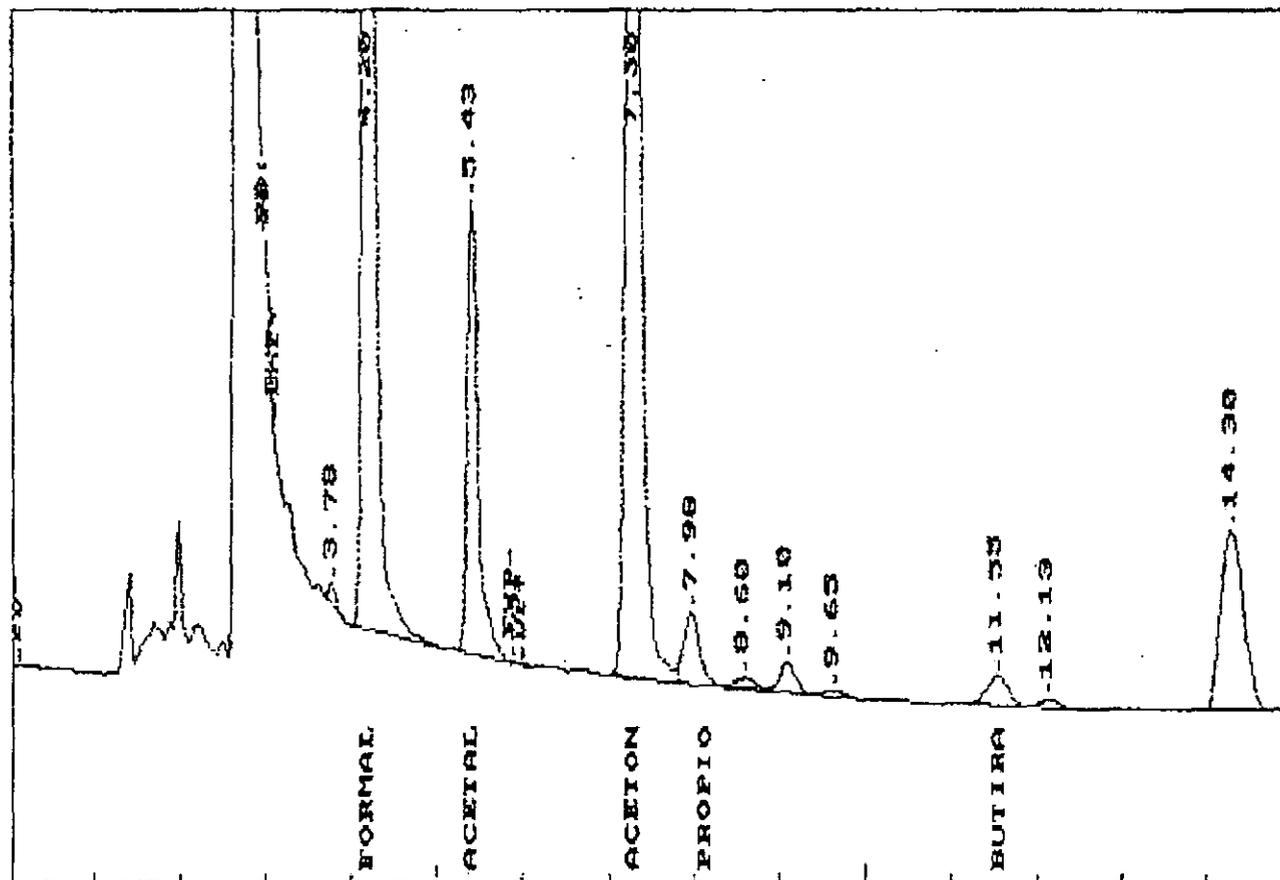


Fig A.4 Cromatograma de la muestra ALD715 tomada en marzo de 1997 en el volcán Ajusco.

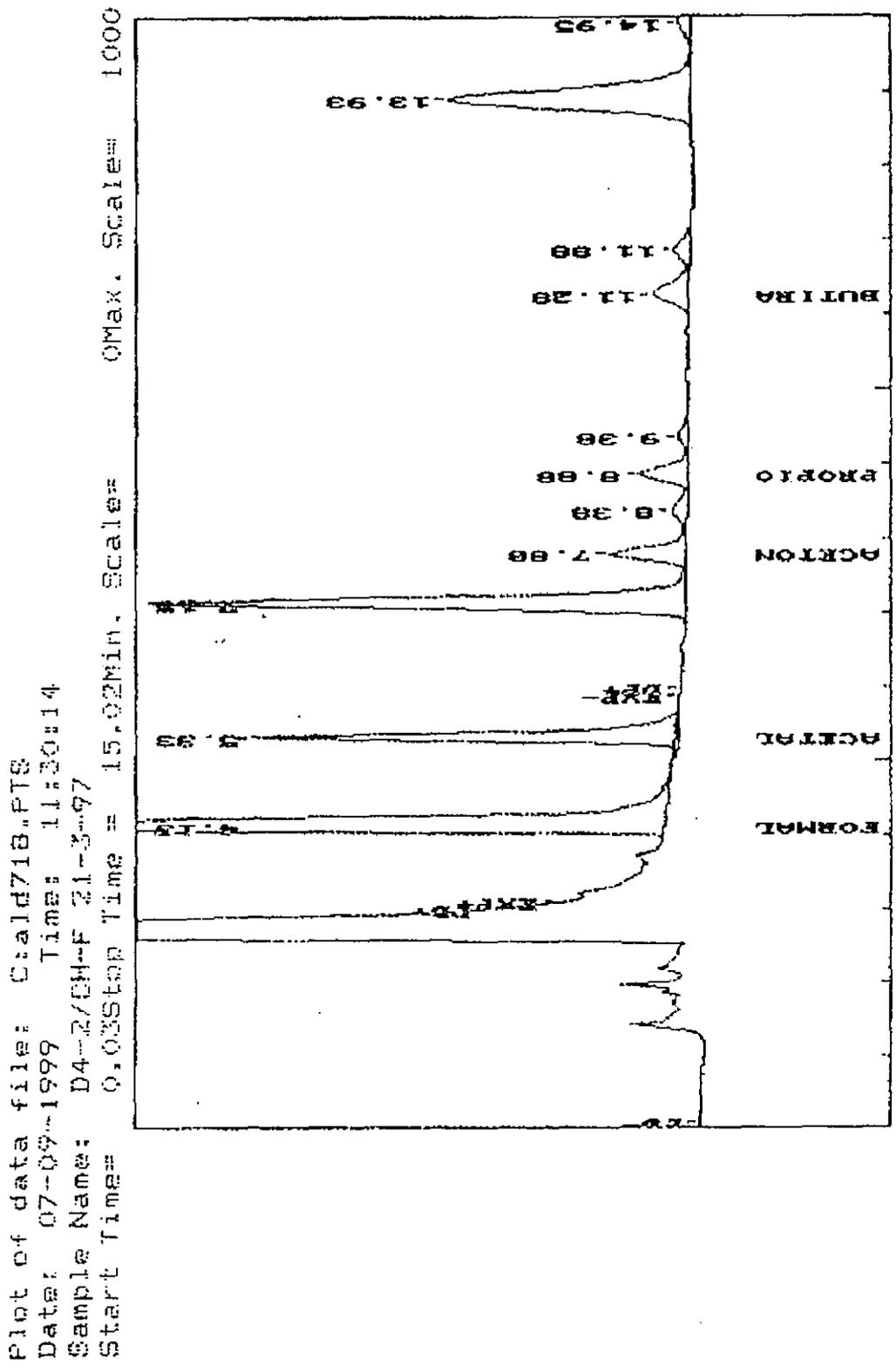


Fig A.5 Cromatograma de la muestra ALD718 tomada en marzo de 1997 en el parque nacional El Chico.

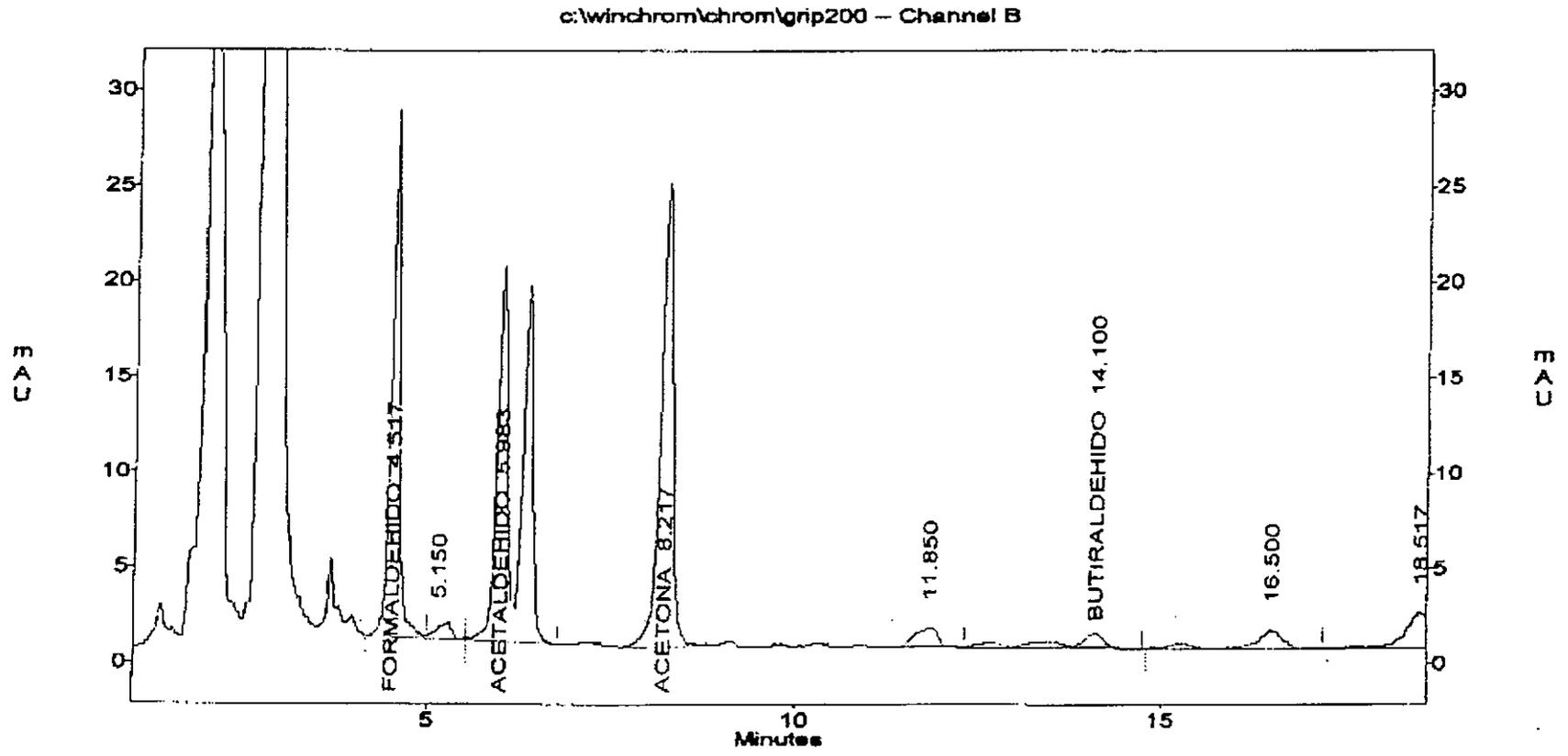


Fig A.6 Cromatograma de la muestra AJS/D4-E1 tomada en 1998 en el volcán Ajusco.

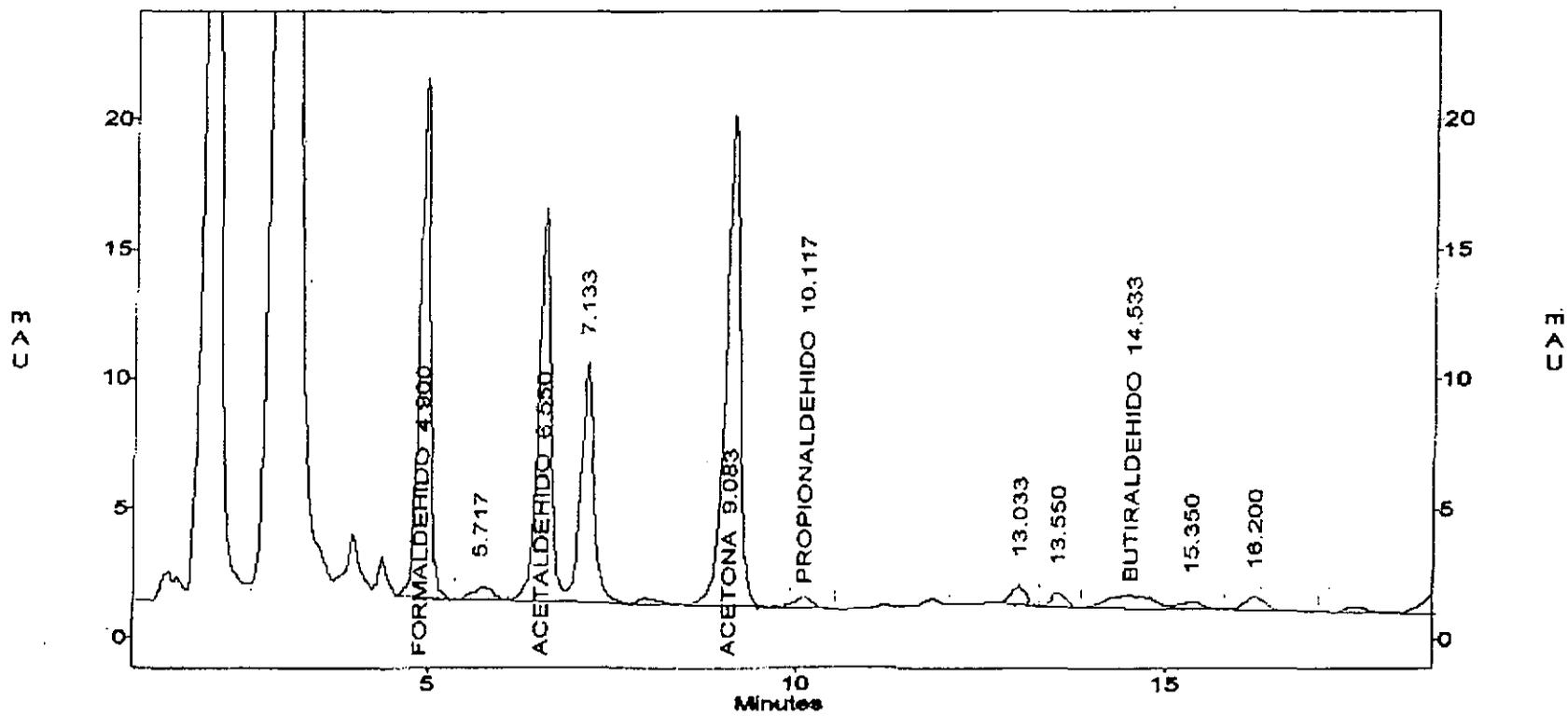


Fig A.7 Cromatograma de la muestra AJS/D5-E1 tomada en 1998 en el volcán Ajusco.

Apéndice B

Cromatogramas de las mezclas de estándares y curvas de calibración obtenidas.

File : c:\winchrom\chrom\p.026
 Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Sample ID : STD-2 ppm
 Acquired : Apr 16, 1999 04:39:21
 Printed : Jun 22, 1999 10:45:04
 User : GMM-K
 File Desc. : Punto de curva de calibración con 2 ppm
 Channel B Results

Pico	Tiempo	Compuesto	Area	Altura	Anchura	T. inicio	T. final
1	8.1	Formaldehído	21470	801	1.18	7.52	8.70
2	11.4	Acetaldehído	25238	688	1.73	10.67	12.40
3	16.5	Acetona	21098	571	2.15	14.85	17.00
4	17.7	Propanal	21551	506	1.50	17.00	18.50
5	27.0	Butanal	19030	424	1.37	26.32	27.68
7	28.3	2-Butanona	29276	489	1.75	27.70	29.45
13	39.4	2-Pentanona **	18999	428	1.38	38.52	39.90
14	40.4	3-Pentanona	18688	435	1.48	39.90	41.38
17	46.9	4Me-3penten-2ona	19264	513	1.23	46.05	47.28
18	47.5	3,3diMe-2butanona	14569	330	1.23	47.28	48.52
20	50.5	Acetofenona	14564	267	2.07	49.45	51.52

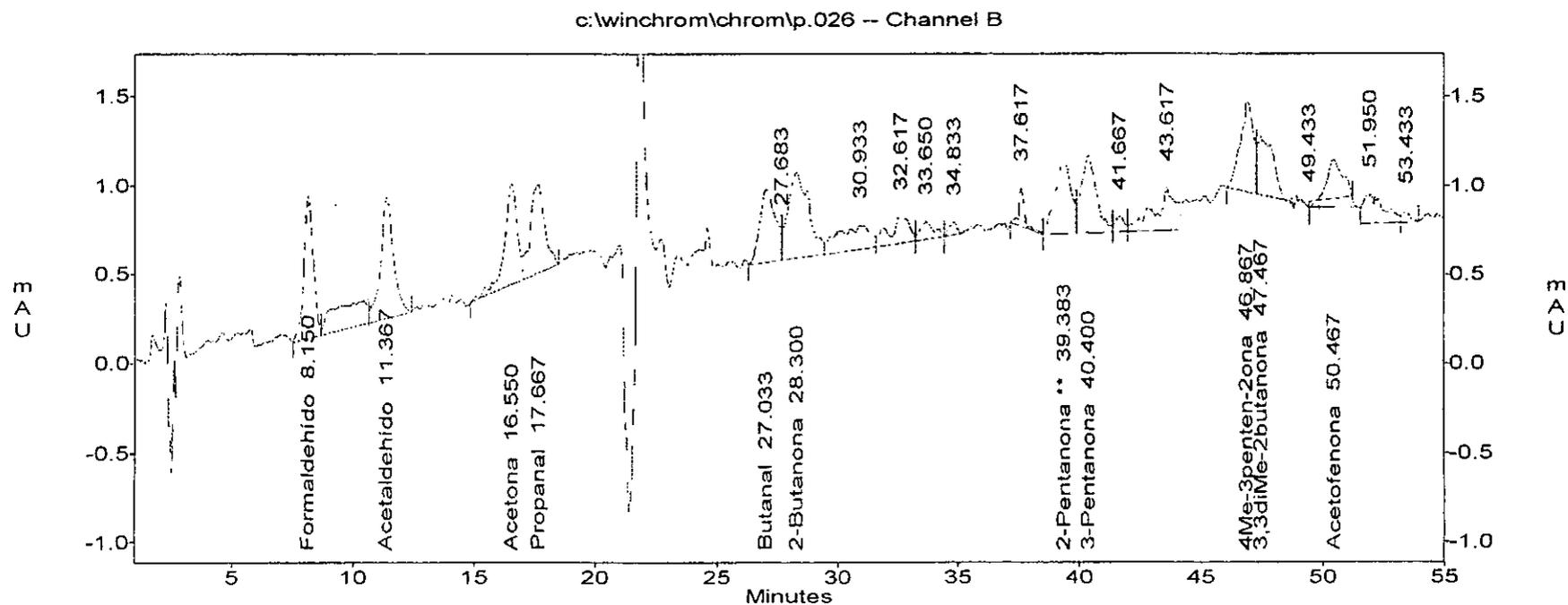


Fig B.1 Cromatograma de mezcla de calibración con 2 mg. de compuesto por litro de solución.

File : c:\winchrom\chrom\p.024
 Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Sample ID : STD-5 ppm
 Acquired : Apr 16, 1999 02:29:10
 Printed : Jun 22, 1999 10:47:49
 User : GMM-K
 File Desc. : Punto de curva de claiibración con 5 ppm
 Channel B Results

Pico	Tiempo	Compuesto	Area	Altura	Anchura	T. inicio	T. final
2	8.2	Formaldehído	45523	1762	1.87	7.50	9.37
3	11.5	Acetaldehído	69615	1753	2.83	9.45	12.28
5	16.6	Acetona	54792	1361	2.98	14.27	17.25
6	17.7	Propanal	41747	1115	1.42	17.25	18.67
8	27.0	Butanal	37576	772	1.92	25.63	27.55
9	28.2	2-Butanona	51020	924	2.03	27.55	29.58
14	39.2	2-Pentanona **	39140	848	1.50	38.22	39.72
15	40.2	3-Pentanona	44115	841	1.80	39.72	41.52
18	46.7	4Me-3penten-2ona	48546	886	1.72	45.33	47.05
20	47.5	3,3diMe-2butanona	45999	870	1.57	47.08	48.65
22	50.5	Acetofenona	42209	818	1.98	49.78	51.77

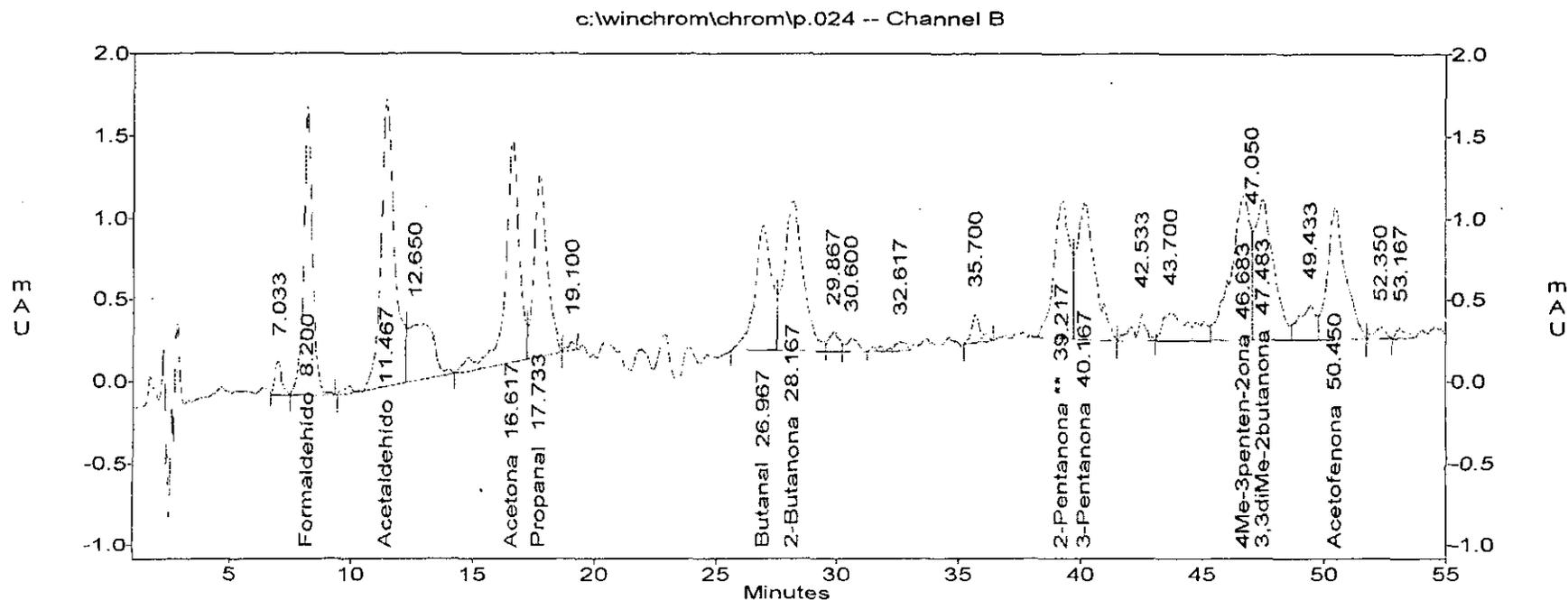


Fig.B.2 Cromatograma de mezcla de calibración con 5 mg. de compuesto por litro de solución.

File : c:\winchrom\chrom\p.025
 Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Sample ID : STD-10 ppm
 Acquired : Apr 16, 1999 03:34:32
 Printed : Jun 22, 1999 10:46:19
 User : GMM-K
 File Desc. : Punto de curva de calibración con 10 ppm
 Channel B Results

Pico	Tiempo	Compuesto	Area	Altura	Anchura	T. inicio	T. final
1	8.2	Formaldehído	86441	3469	1.97	7.30	9.27
2	11.4	Acetaldehído	102393	3141	3.15	9.32	12.47
3	16.5	Acetona	112129	2788	4.68	12.47	17.15
4	17.6	Propanal	71711	2338	1.08	17.15	18.23
6	27.0	Butanal	78282	1575	2.68	24.92	27.60
7	28.2	2-Butanona	89313	1799	1.88	27.60	29.48
11	39.2	2-Pentanona **	99961	1784	3.42	36.27	39.68
12	40.1	3-Pentanona	87764	1727	1.85	39.68	41.53
14	46.5	4Me-3penten-2ona	92615	1666	3.67	43.33	47.00
15	47.4	3,3diMe-2butanona	85763	1603	1.58	47.00	48.58
16	50.3	Acetofenona	101586	1624	3.32	48.58	51.90

c:\winchrom\chrom\p.025 -- Channel B

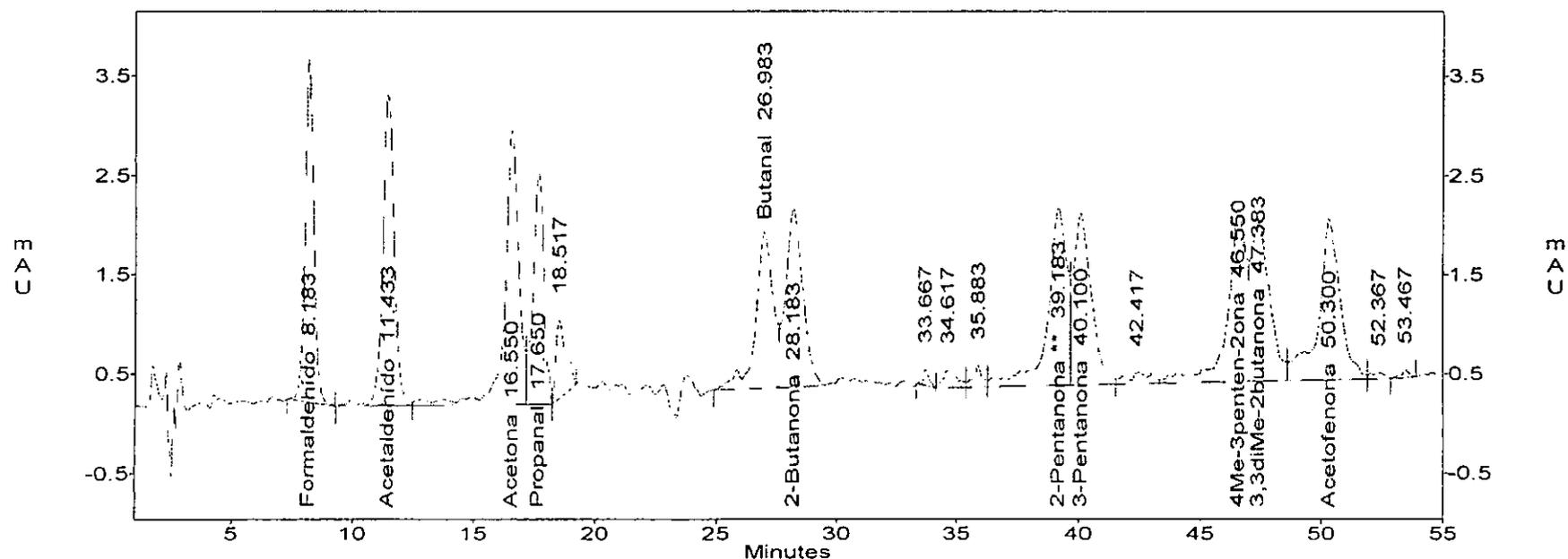


Fig B.3 Cromatograma de mezcla de calibración con 10 mg. de compuesto por litro de solución.

File : c:\winchrom\chrom\p.027
 Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Sample ID : STD-20 ppm
 Acquired : Apr 16, 1999 05:44:41
 Printed : Jun 22, 1999 10:42:14
 User : GMM-K
 File Desc. : Punto de curva de calibración con 20 ppm
 Channel B Results

Pico	Tiempo	Compuesto	Area	Altura	Anchura	T. inicio	T. final
1	8.2	Formaldehído	187919	6951	2.55	6.55	9.10
2	11.4	Acetaldehído	218296	6145	3.33	9.10	12.43
5	16.7	Acetona	193415	5299	2.67	14.67	17.33
6	17.8	Propanal	160848	4394	1.53	17.33	18.87
8	27.0	Butanal	167167	3177	2.77	24.88	27.65
9	28.2	2-Butanona	184119	3720	2.82	27.65	30.47
12	39.2	2-Pentanona **	165678	3351	3.67	36.02	39.68
13	40.1	3-Pentanona	160599	3372	1.93	39.68	41.62
15	46.5	4Me-3penten-2ona	158536	3400	2.07	44.92	46.98
16	47.3	3,3diMe-2butanona	149376	3113	1.43	46.98	48.42
17	50.2	Acetofenona	179555	3015	3.80	48.42	52.22

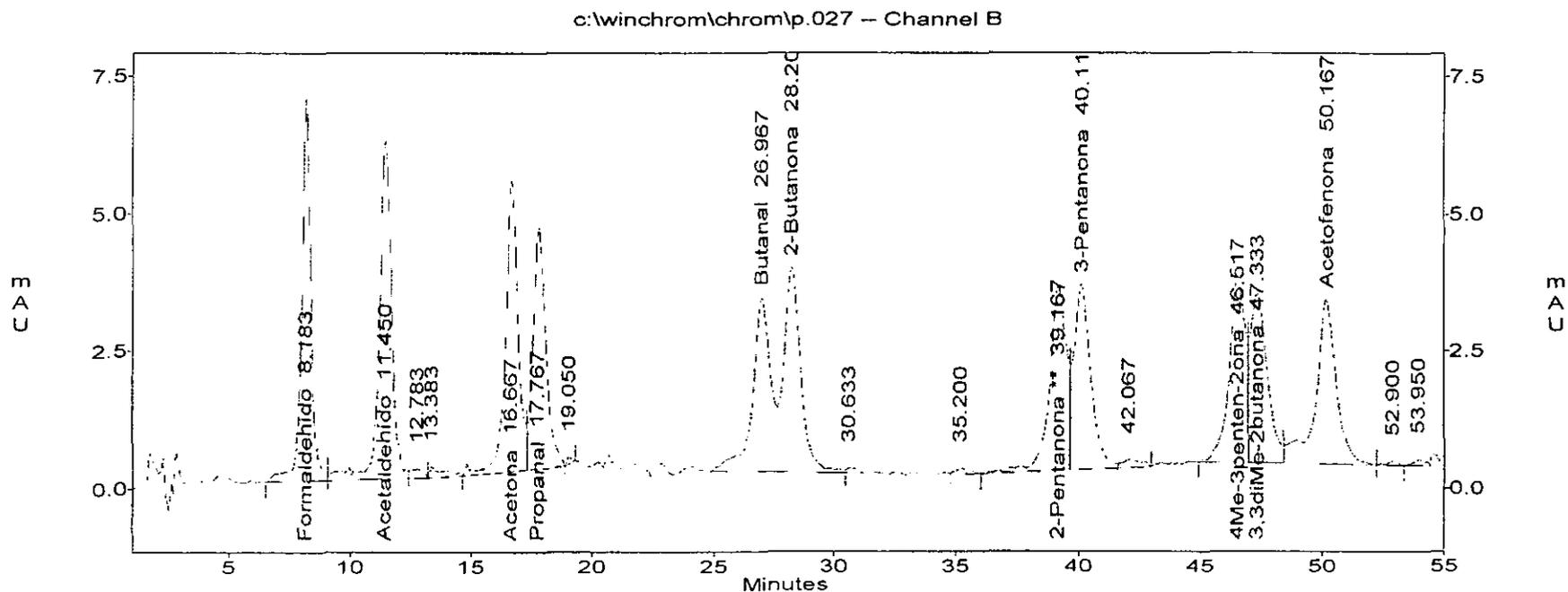


Fig B.4 Cromatograma de mezcla de calibración con 20 mg. de compuesto por litro de solución.

File : c:\winchrom\chrom\p.021
 Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Sample ID : STD-50 ppm
 Acquired : Apr 16, 1999 00:19:01
 Printed : Jun 22, 1999 10:48:56
 User : GMM-K
 File Desc. : Punto de curva de calibración con 50 ppm
 Channel B Results

Pico	Tiempo	Compuesto	Area	Altura	Anchura	T. inicio	T. final
1	8.1	Formaldehído	419707	16803	3.08	6.37	9.45
2	11.3	Acetaldehído	483310	14952	3.13	9.45	12.58
5	16.5	Acetona	440453	12514	1.78	15.32	17.10
6	17.6	Propanal	385585	10243	2.03	17.10	19.13
7	27.1	Butanal	400876	6612	2.87	24.70	27.57
8	28.1	2-Butanona	449057	8806	2.00	27.57	29.57
14	39.0	2-Pentanona **	412905	8331	3.00	36.48	39.48
15	39.9	3-Pentanona	399680	8262	2.30	39.48	41.78
18	46.4	4Me-3penten-2ona	390614	7771	3.03	43.88	46.92
19	47.3	3,3diMe-2butanona	371853	7268	1.63	46.92	48.55
20	50.3	Acetofenona	427583	7006	4.00	48.55	52.55

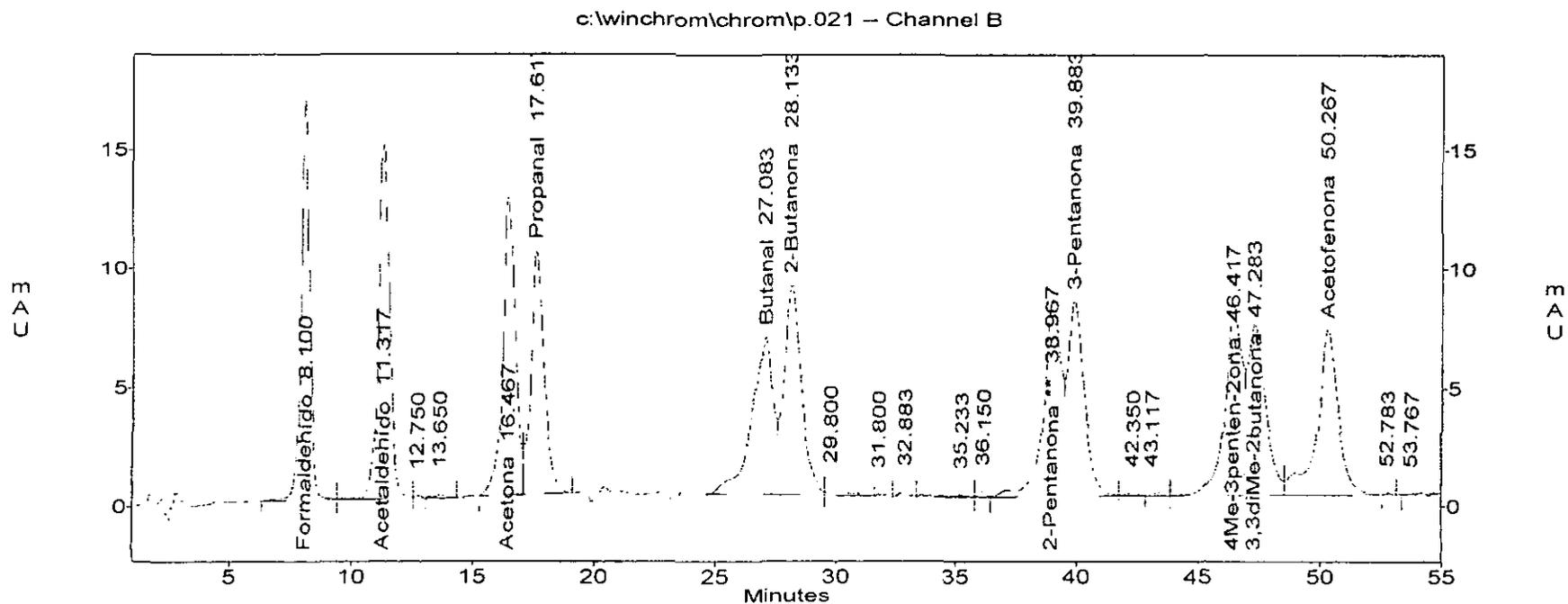


Fig B.5 Cromatograma de mezcla de calibración con 50 mg. de compuesto por litro de solución.

File : c:\winchrom\chrom\p.028
 Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Sample ID : STD-100 ppm
 Acquired : Apr 16, 1999 06:49:25
 Printed : Jun 22, 1999 10:44:02
 User : GMM-K
 File Desc. : Punto de curva de calibración con 100 ppm
 Channel B Results

Pico	Tiempo	Compuesto	Area	Altura	Anchura	T. inicio	T. final
3	8.2	Formaldehído	839440	33870	1.87	7.40	9.27
5	11.4	Acetaldehído	968382	30198	3.63	10.22	13.85
7	16.6	Acetona	879664	26265	2.13	15.07	17.20
8	17.7	Propanal	777843	21850	2.10	17.20	19.30
9	26.7	Butanal	797423	15770	2.75	24.63	27.38
10	28.0	2-Butanona	887919	18435	2.98	27.38	30.37
14	38.8	2-Pentanona **	835409	17022	3.97	35.42	39.38
15	39.8	3-Pentanona	776874	16779	2.45	39.38	41.83
16	46.3	4Me-3penten-2ona	790075	16711	2.30	44.42	46.72
17	47.1	3,3diMe-2butanona	724713	15521	1.48	46.72	48.20
18	49.8	Acetofenona	869917	15004	3.67	48.20	51.87

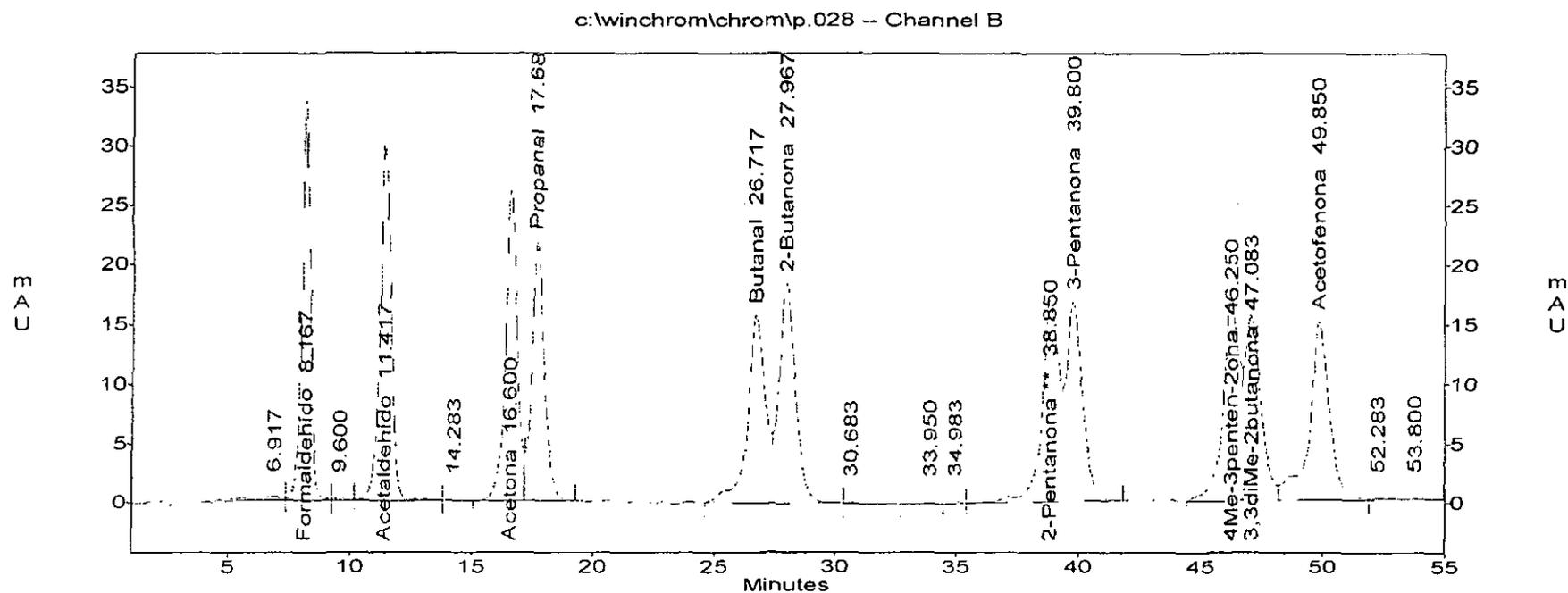


Fig B.6 Cromatograma de mezcla de calibración con 100 mg. de compuesto por litro de solución.

Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Printed : May 10, 1999 11:01:23
 Channel : B
 Peak : Formaldehído

* - Replicate Not Used

Level	Area	Amount	RF	Rep Area 1	Rep Area 2	Rep Area 3	Rep Area 4	Rep Area 5	Replic STD	Replic %RSD	Old Area
1	419707	50	8394.14	419707							0
2	45523	5	9104.60	45523							0
3	86441	10	8644.10	86441							0
4	21470	2	10735.00	21470							0
5	187919	20	9395.95	187919							0
6	839440	100	8394.40	839440							0

Calib Flag: Replace

Average RF: 9111.36
 RF StdDev: 890.395
 RF %RSD: 9.772

RF Definition: Area / Amount
 Weighting Method: None
 Fit Through Zero: No

Linear Fit: Amount = 0.000120073 x Area - 0.862872
 $R^2 = 0.999502$

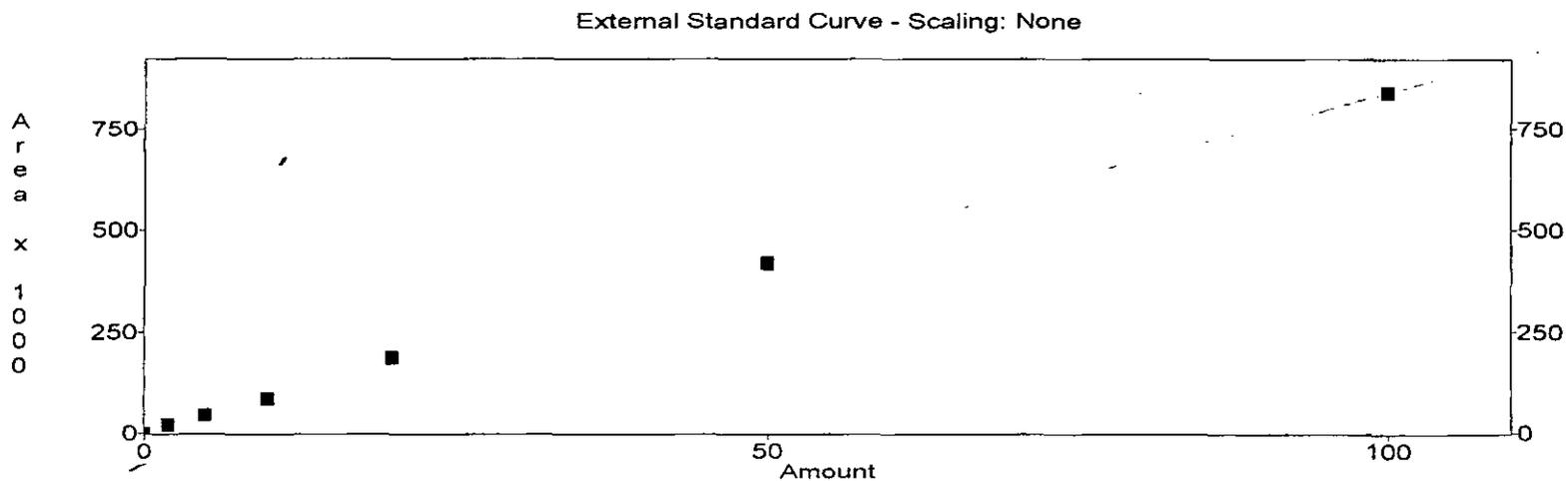


Fig B.7 Curva de calibración obtenida para formaldehído.

Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Printed : May 10, 1999 11:01:23
 Channel : B
 Peak : Acetaldehído

* - Replicate Not Used

Level	Area	Amount	RF	Rep Area 1	Rep Area 2	Rep Area 3	Rep Area 4	Rep Area 5	Replic STD	Replic %RSD	Old Area
1	483310	50	9666.20	483310							0
2	69615	5	13923.00	69615							0
3	102393	10	10239.30	102393							0
4	25238	2	12619.00	25238							0
5	218296	20	10914.80	218296							0
6	968382	100	9683.82	968382							0

Calib Flag: Replace

Average RF: 11174.4
 RF StdDev: 1736.66
 RF %RSD: 15.541

RF Definition: Area / Amount
 Weighting Method: None
 Fit Through Zero: No

Linear Fit: Amount = 0.000104907 x Area - 1.48105
 R^2 = 0.999368

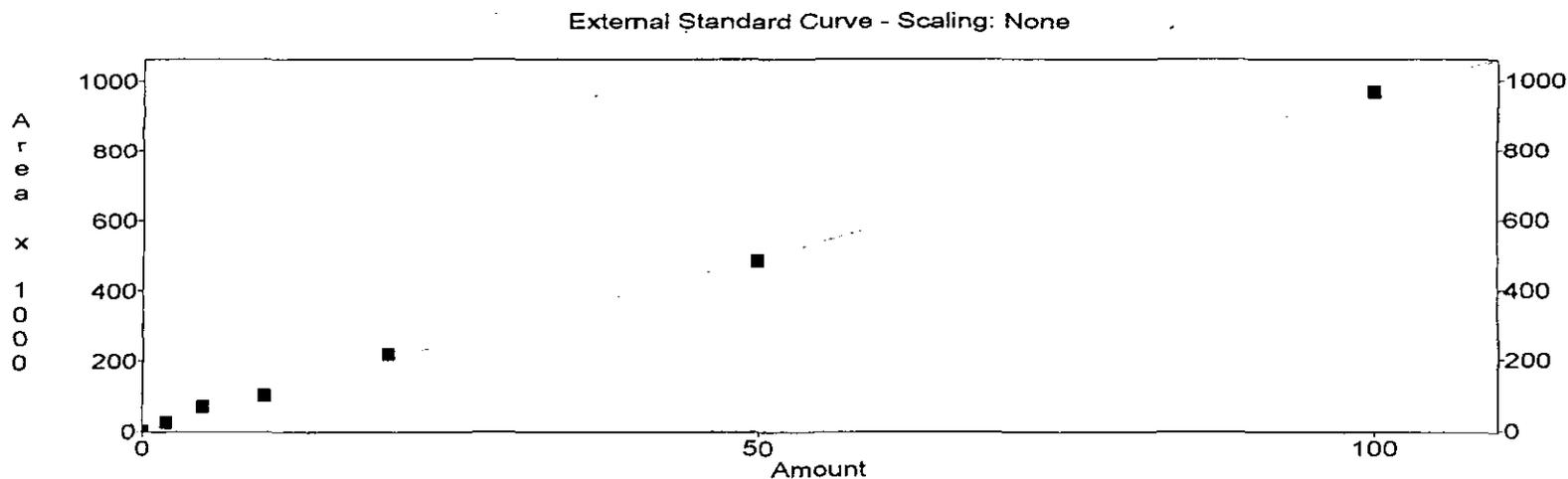


Fig B.8 Curva de calibración obtenida para acetaldehído.

Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Printed : May 10, 1999 11:01:24
 Channel : B
 Peak : Acetona

* - Replicate Not Used

Level	Area	Amount	RF	Rep Area 1	Rep Area 2	Rep Area 3	Rep Area 4	Rep Area 5	Replic STD	Replic %RSD	Old Area
1	440453	50	8809.06	440453							0
2	54792	5	10958.40	54792							0
3	112129	10	11212.90	112129							0
4	21098	2	10549.00	21098							0
5	193415	20	9670.75	193415							0
6	879664	100	8796.64	879664							0

Calib Flag: Replace

Average RF: 9999.46
 RF StdDev: 1064.51
 RF %RSD: 10.646

RF Definition: Area / Amount
 Weighting Method: None
 Fit Through Zero: No

Linear Fit: Amount = 0.000115582 x Area - 1.61151
 R^2 = 0.9994

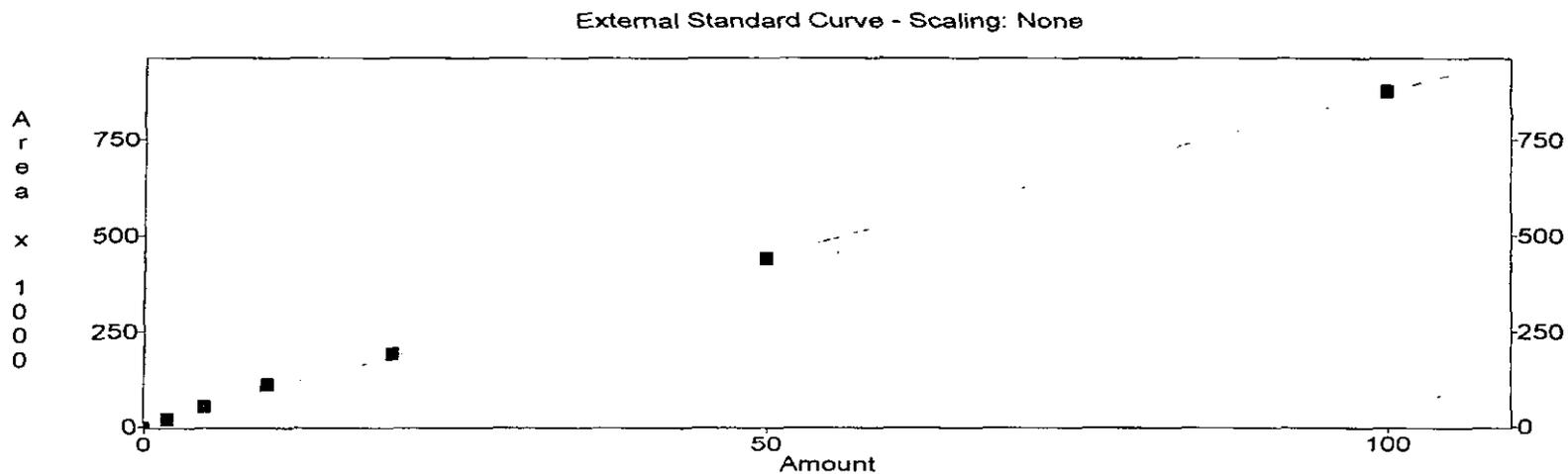


Fig B.9 Curva de calibración obtenida para acetona.

Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Printed : May 10, 1999 11:01:24
 Channel : B
 Peak : Propanal

* - Replicate Not Used

Level	Area	Amount	RF	Rep Area 1	Rep Area 2	Rep Area 3	Rep Area 4	Rep Area 5	Replic STD	Replic %RSD	Old Area
1	385585	50	7711.70	385585							0
2	41747	5	8349.40	41747							0
3	71711	10	7171.10	71711							0
4	21551	2	10775.50	21551							0
5	160848	20	8042.40	160848							0
6	777843	100	7778.43	777843							0

Calib Flag: Replace

Average RF: 8304.75
 RF StdDev: 1271.95
 RF %RSD: 15.316

RF Definition: Area / Amount
 Weighting Method: None
 Fit Through Zero: No

Linear Fit: Amount = 0.000129088 x Area - 0.229363
 R² = 0.99975

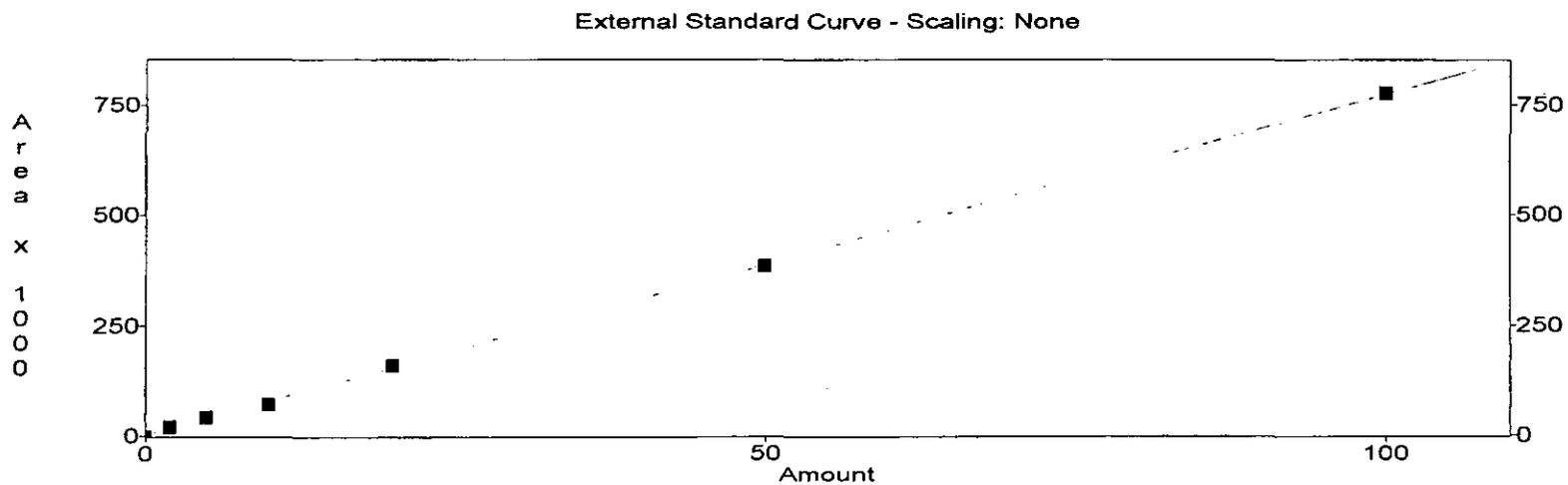


Fig B.10 Curva de calibración obtenida para propanal.

Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Printed : May 10, 1999 11:01:24
 Channel : B
 Peak : Butanal .

* - Replicate Not Used

Level	Height	Amount	RF	Rep Hgt 1	Rep Hgt 2	Rep Hgt 3	Rep Hgt 4	Rep Hgt 5	Replic STD	Replic %RSD	Old Height
1	6612	50	132.24	6612							0
2	772	5	154.40	772							0
3	1575	10	157.50	1575							0
4	424	2	212.00	424							0
5	3177	20	158.85	3177							0
6	15770	100	157.70	15770							0

Calib Flag: Replace

Average RF: 162.115
 RF StdDev: 26.4273
 RF %RSD: 16.302

RF Definition: Height / Amount
 Weighting Method: None
 Fit Through Zero: No

Linear Fit: Amount = 0.00644576 x Height + 0.731959
 R² = 0.992394

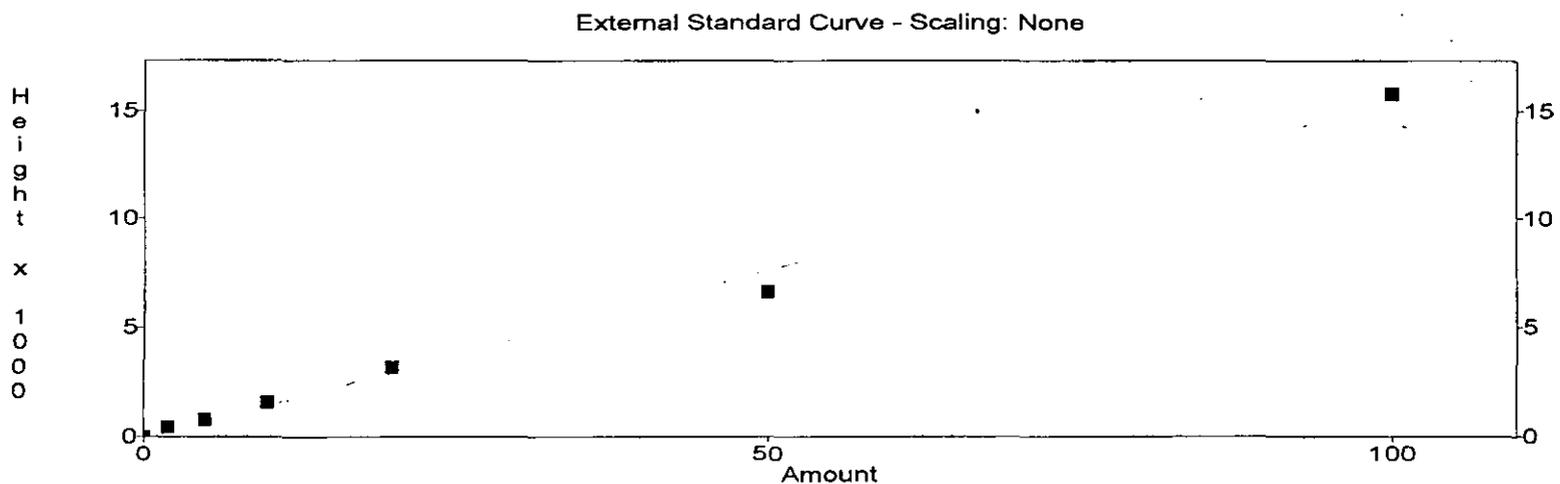


Fig B.11 Curva de calibración obtenida para butanal.

Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Printed : May 10, 1999 11:01:27
 Channel : B
 Peak : 2-Butanona

* - Replicate Not Used

Level	Height	Amount	RF	Rep Hgt 1	Rep Hgt 2	Rep Hgt 3	Rep Hgt 4	Rep Hgt 5	Replic STD	Replic %RSD	Old Height
1	8806	50	176.12	8806							0
2	924	5	184.80	924							0
3	1799	10	179.90	1799							0
4	489	2	244.50	489							0
5	3720	20	186.00	3720							0
6	18435	100	184.35	18435							0

Calib Flag: Replace

Average RF: 192.612
 RF StdDev: 25.6864
 RF %RSD: 13.336

RF Definition: Height / Amount
 Weighting Method: None
 Fit Through Zero: No

Linear Fit: Amount = 0.00546519 x Height + 0.0396776
 R^2 = 0.999353

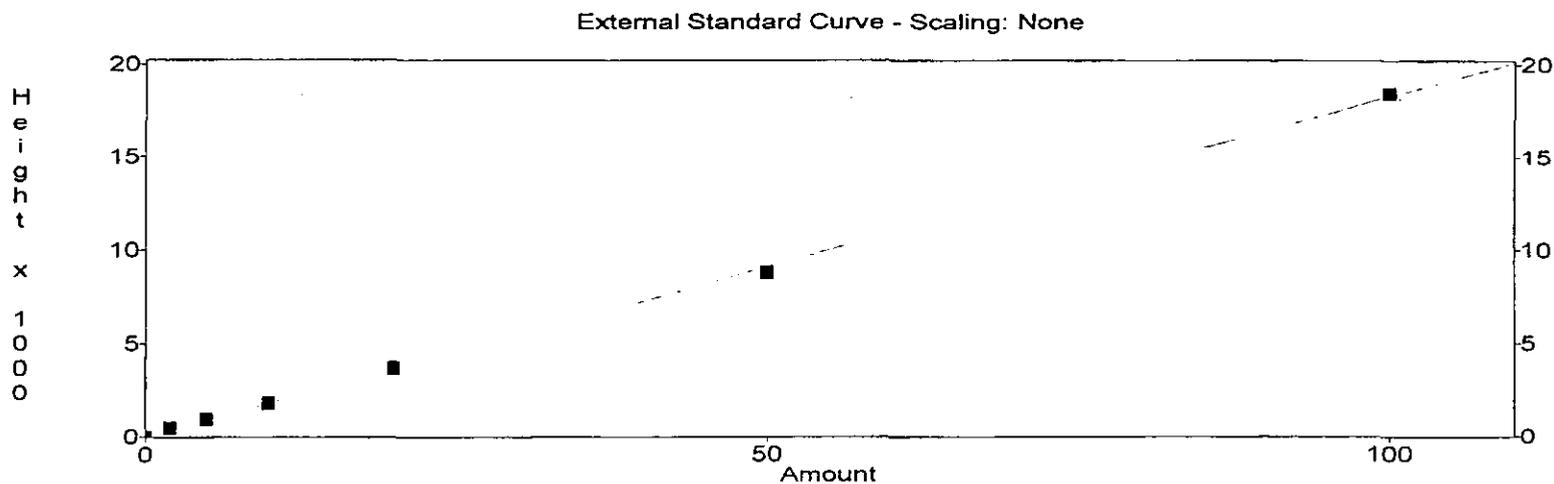


Fig B.12 Curva de calibración obtenida para 2-butanona.

Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Printed : May 10, 1999 11:01:27
 Channel : B
 Peak : 2-Pentanona **

* - Replicate Not Used

Level	Height	Amount	RF	Rep Hgt 1	Rep Hgt 2	Rep Hgt 3	Rep Hgt 4	Rep Hgt 5	Replic STD	Replic %RSD	Old Height
1	8331	50	166.62	8331							0
2	848	5	169.60	848							0
3	1784	10	178.40	1784							0
4	428	2	214.00	428							0
5	3351	20	167.55	3351							0
6	17022	100	170.22	17022							0

Calib Flag: Replace

Average RF: 177.732
 RF StdDev: 18.2512
 RF %RSD: 10.269

RF Definition: Height / Amount
 Weighting Method: None
 Fit Through Zero: No

Linear Fit: Amount = 0.00590728 x Height - 0.106463
 R² = 0.999796

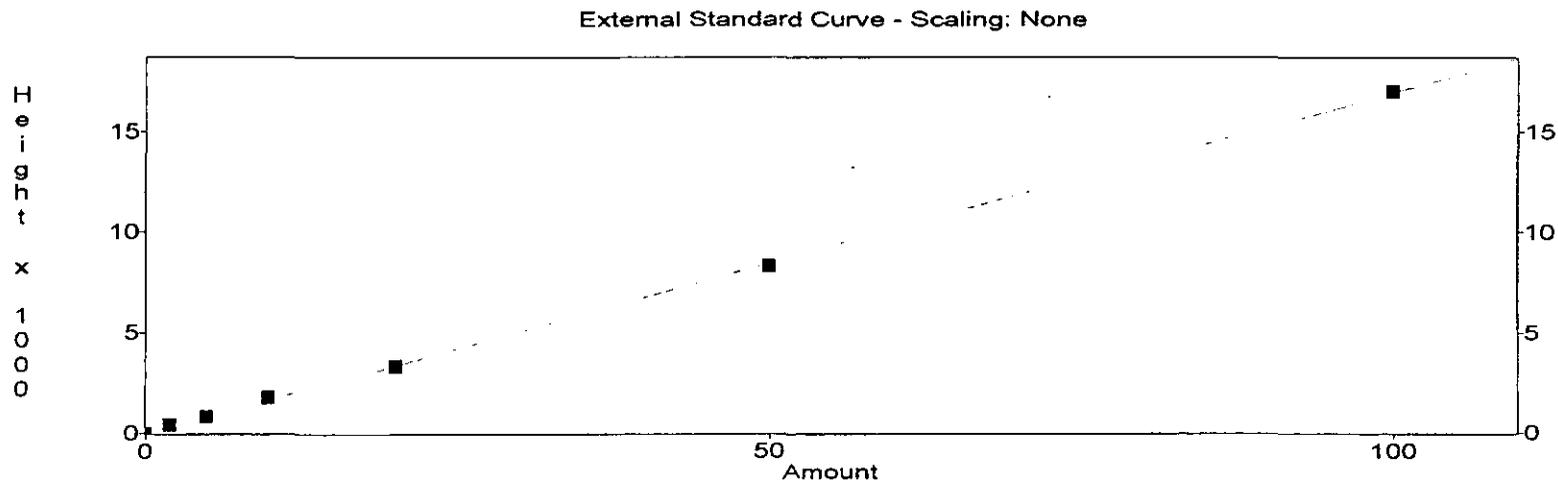


Fig B.13 Curva de calibración obtenida para 2-pentanona.

Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Printed : May 10, 1999 11:01:27
 Channel : B
 Peak : 3-Pentanona

* - Replicate Not Used

Level	Height	Amount	RF	Rep Hgt 1	Rep Hgt 2	Rep Hgt 3	Rep Hgt 4	Rep Hgt 5	Replic STD	Replic %RSD	Old Height
1	8262	50	165.24	8262							0
2	841	5	168.20	841							0
3	1727	10	172.70	1727							0
4	435	2	217.50	435							0
5	3372	20	168.60	3372							0
6	16779	100	167.79	16779							0

Calib Flag: Replace

Average RF: 176.672
 RF StdDev: 20.1455
 RF %RSD: 11.403

RF Definition: Height / Amount
 Weighting Method: None
 Fit Through Zero: No

Linear Fit: Amount = 0.00599177 x Height - 0.206219
 R² = 0.999888

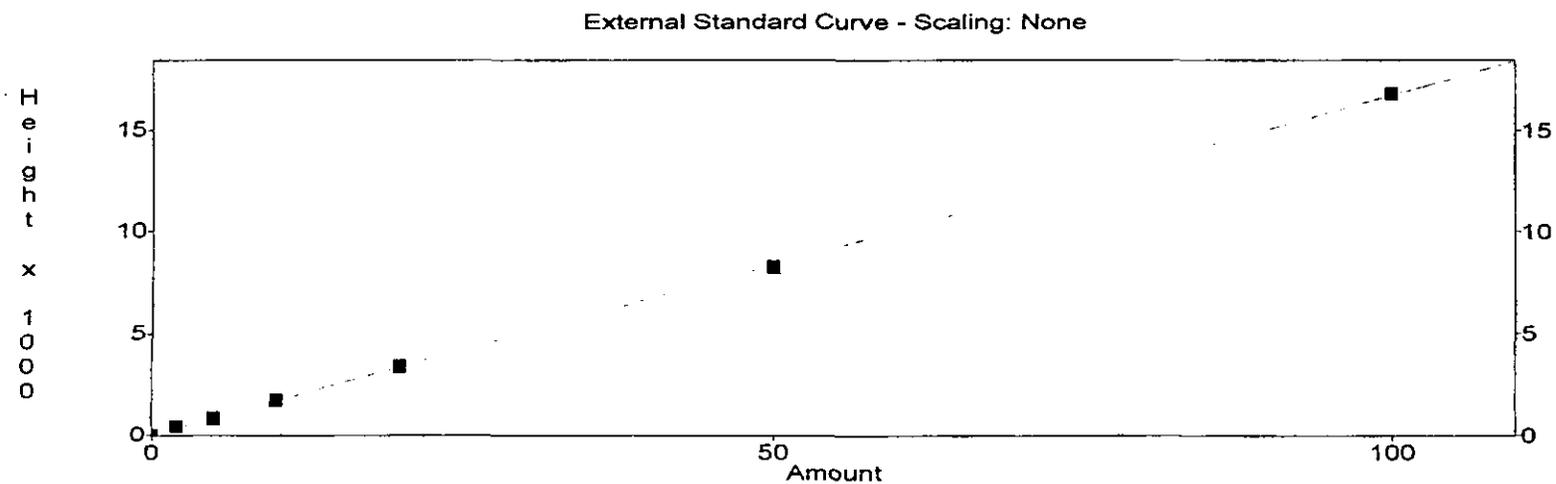


Fig B.14 Curva de calibración obtenida para 3-pentanona.

Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Printed : May 10, 1999 11:01:28
 Channel : B
 Peak : 4Me-3penten-2ona

* - Replicate Not Used

Level	Height	Amount	RF	Rep Hgt 1	Rep Hgt 2	Rep Hgt 3	Rep Hgt 4	Rep Hgt 5	Replic STD	Replic %RSD	Old Height
1	7771	50	155.42	7771							0
2	886	5	177.20	886							0
3	1666	10	166.60	1666							0
4	513	2	256.50	513							0
5	3400	20	170.00	3400							0
6	16711	100	167.11	16711							0

Calib Flag: Replace

Average RF: 182.138
 RF StdDev: 37.1013
 RF %RSD: 20.370

RF Definition: Height / Amount
 Weighting Method: None
 Fit Through Zero: No

Linear Fit: Amount = 0.00606545 x Height - 0.117921
 R² = 0.998368

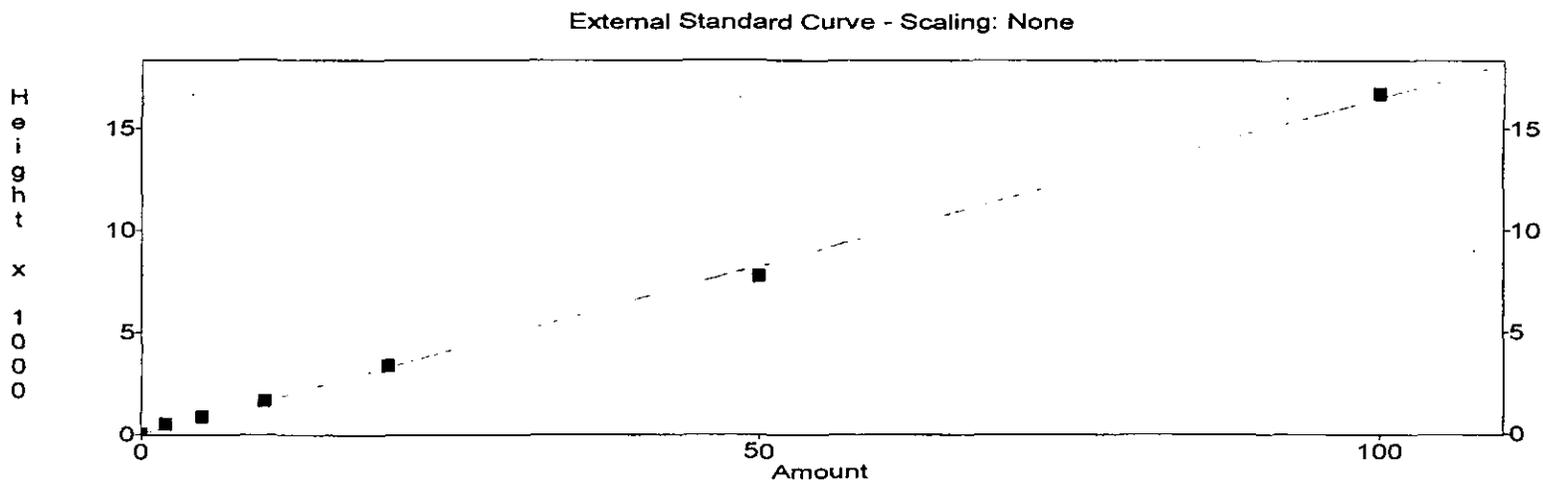


Fig B.15 Curva de calibración obtenida para 4-metil-3-penten-2-ona.

Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
Printed : May 10, 1999 11:01:28
Channel : B
Peak : 3,3diMe-2butanona

* - Replicate Not Used

Level	Height	Amount	RF	Rep Hgt 1	Rep Hgt 2	Rep Hgt 3	Rep Hgt 4	Rep Hgt 5	Replic STD	Replic %RSD	Old Height
1	7268	50	145.36	7268							0
2	870	5	174.00	870							0
3	1603	10	160.30	1603							0
4	330	2	165.00	330							0
5	3113	20	155.65	3113							0
6	15521	100	155.21	15521							0

Calib Flag: Replace

Average RF: 159.253
RF StdDev: 9.73592
RF %RSD: 6.113

RF Definition: Height / Amount
Weighting Method: None
Fit Through Zero: No

Linear Fit: Amount = 0.00651338 x Height + 0.00557041
R² = 0.998748

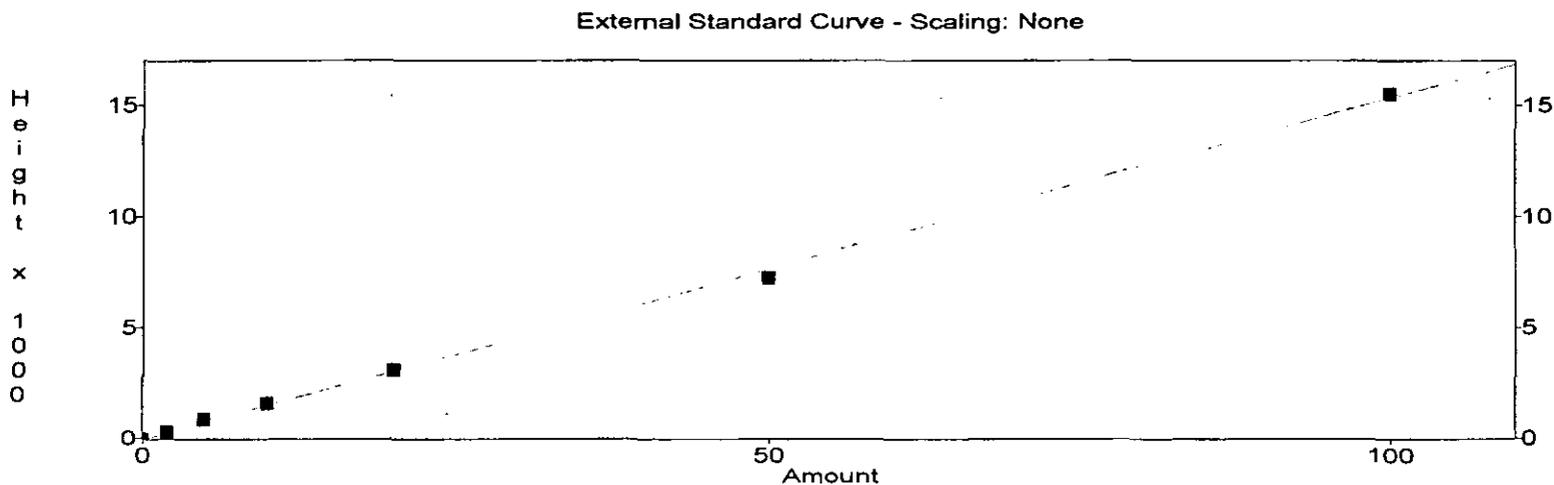


Fig B.16 Curva de calibración obtenida para 3,3-dimetil-2-butanona.

Method : c:\winchrom\methods\drakken.met
 Printed : May 10, 1999 11:01:28
 Channel : B
 Peak : Acetofenona

* - Replicate Not Used

Level	Height	Amount	RF	Rep Hgt 1	Rep Hgt 2	Rep Hgt 3	Rep Hgt 4	Rep Hgt 5	Replic STD	Replic %RSD	Old Height
1	7006	50	140.12	7006							0
2	818	5	163.60	818							0
3	1624	10	162.40	1624							0
4	267	2	133.50	267							0
5	3015	20	150.75	3015							0
6	15004	100	150.04	15004							0

Calib Flag: Replace

Average RF: 150.068
 RF StdDev: 11.909
 RF %RSD: 7.936

RF Definition: Height / Amount
 Weighting Method: None
 Fit Through Zero: No

Linear Fit: Amount = 0.00673595 x Height + 0.0308776
 R^2 = 0.998571

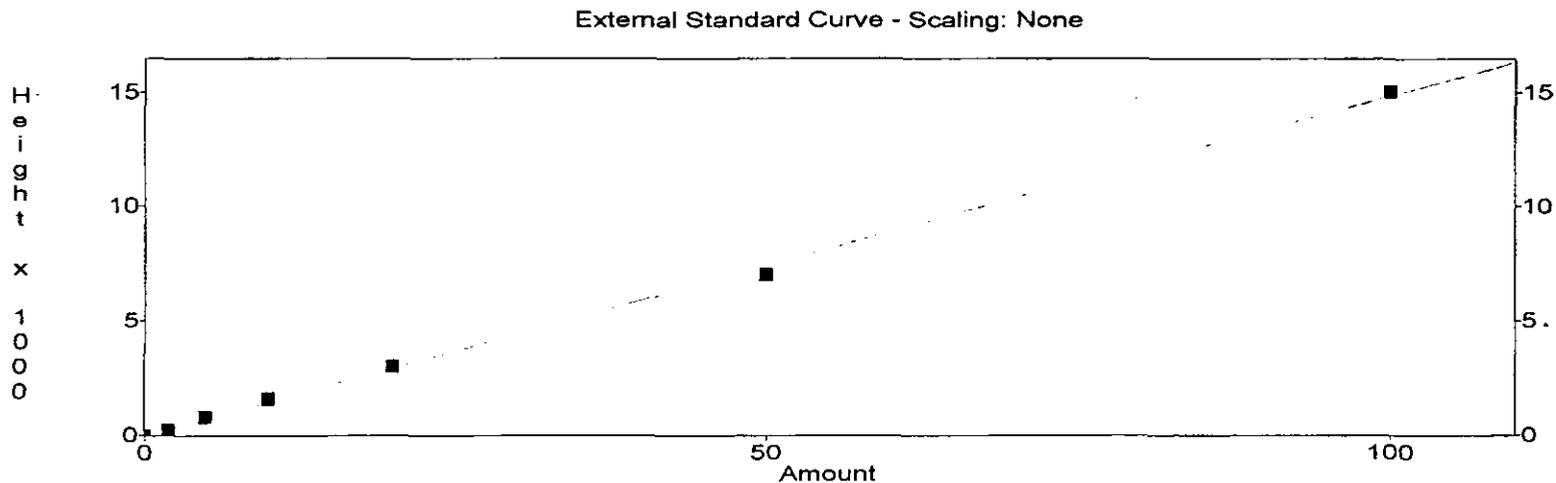


Fig B.17 Curva de calibración obtenida para acetofenona.

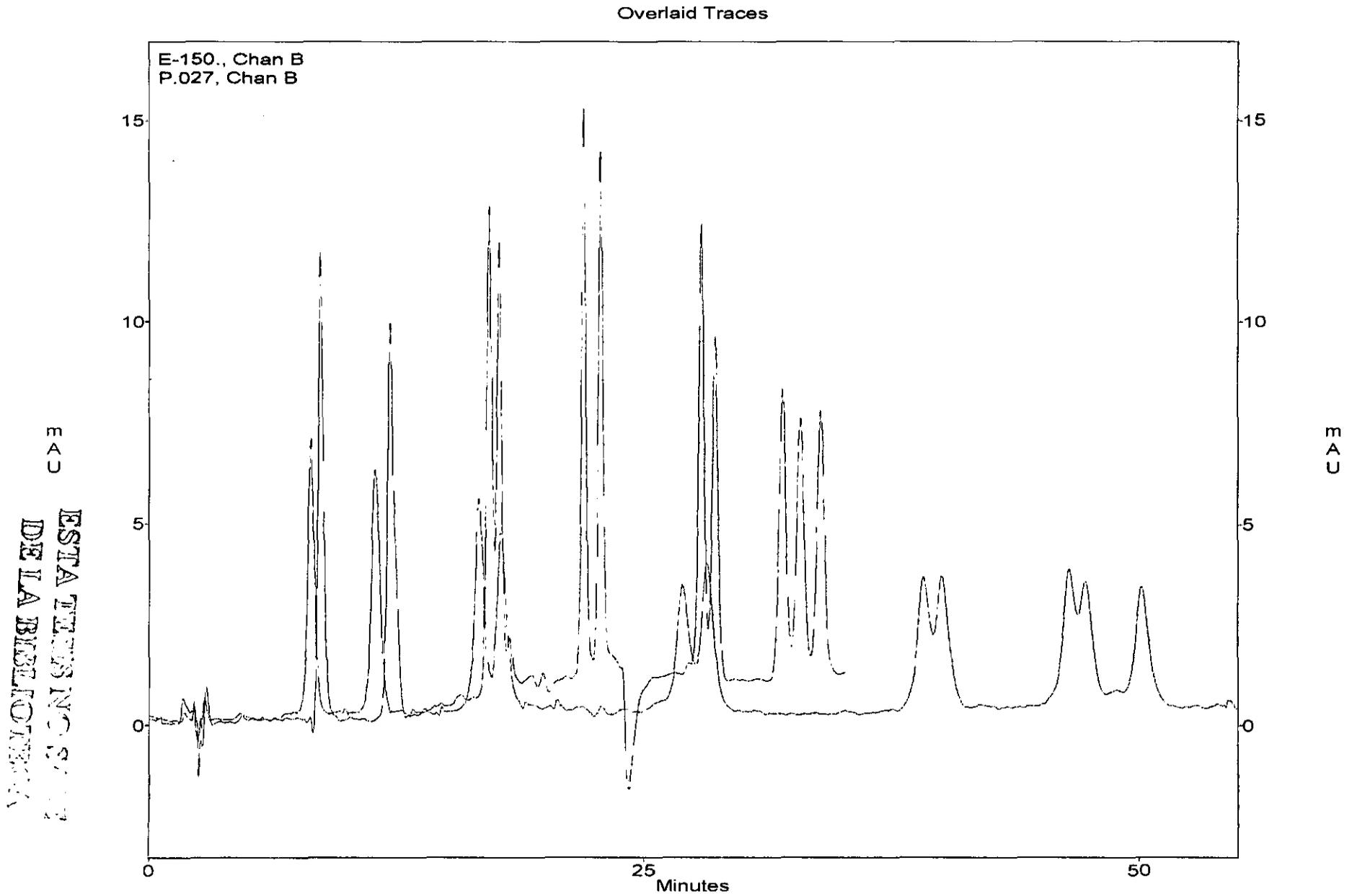


Fig B.18 Comparación de los programas de elución por gradiente de los cromatogramas obtenidos antes (E-150) y después de abrir la columna (P.027)

Overlaid Traces

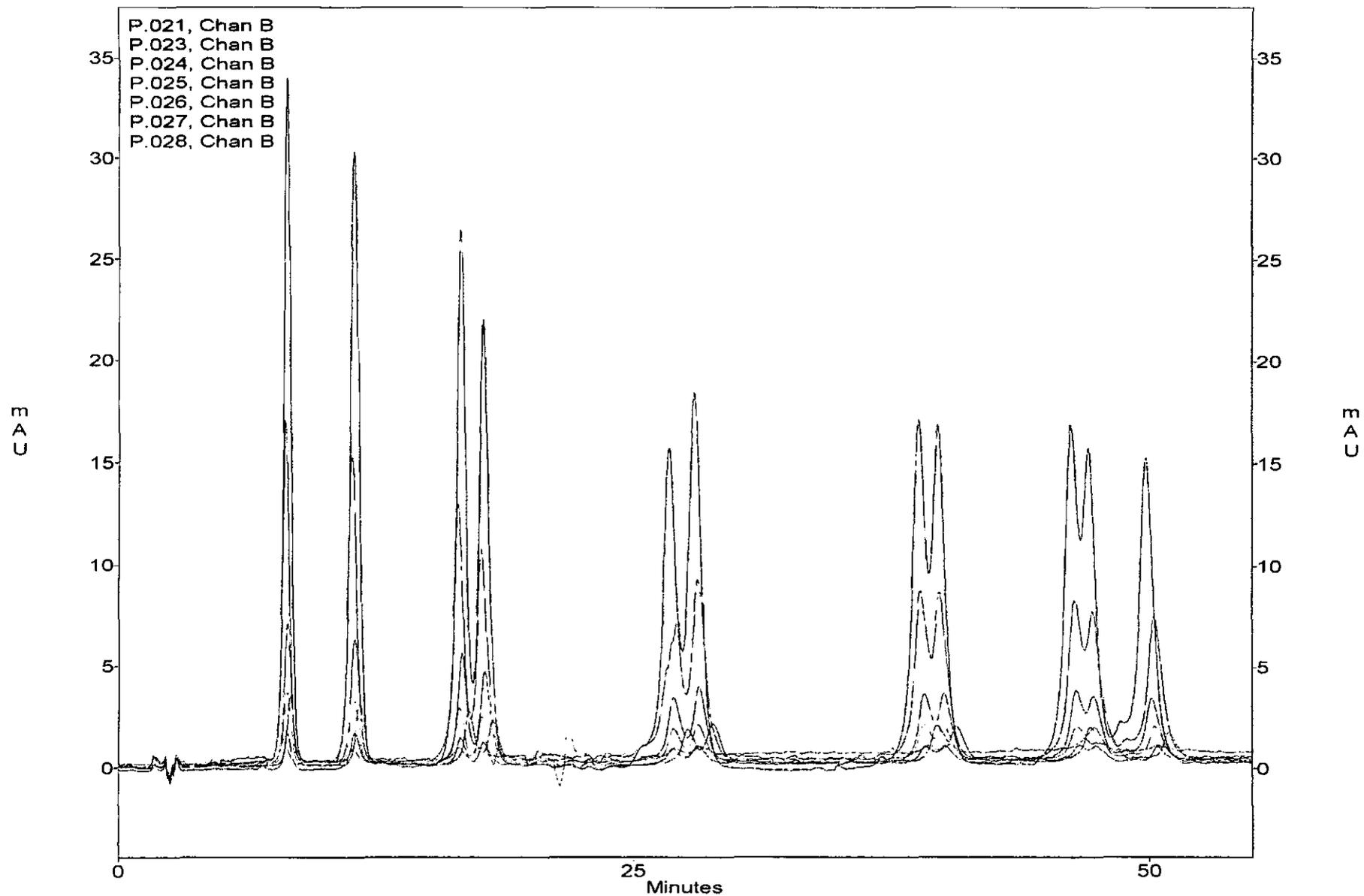
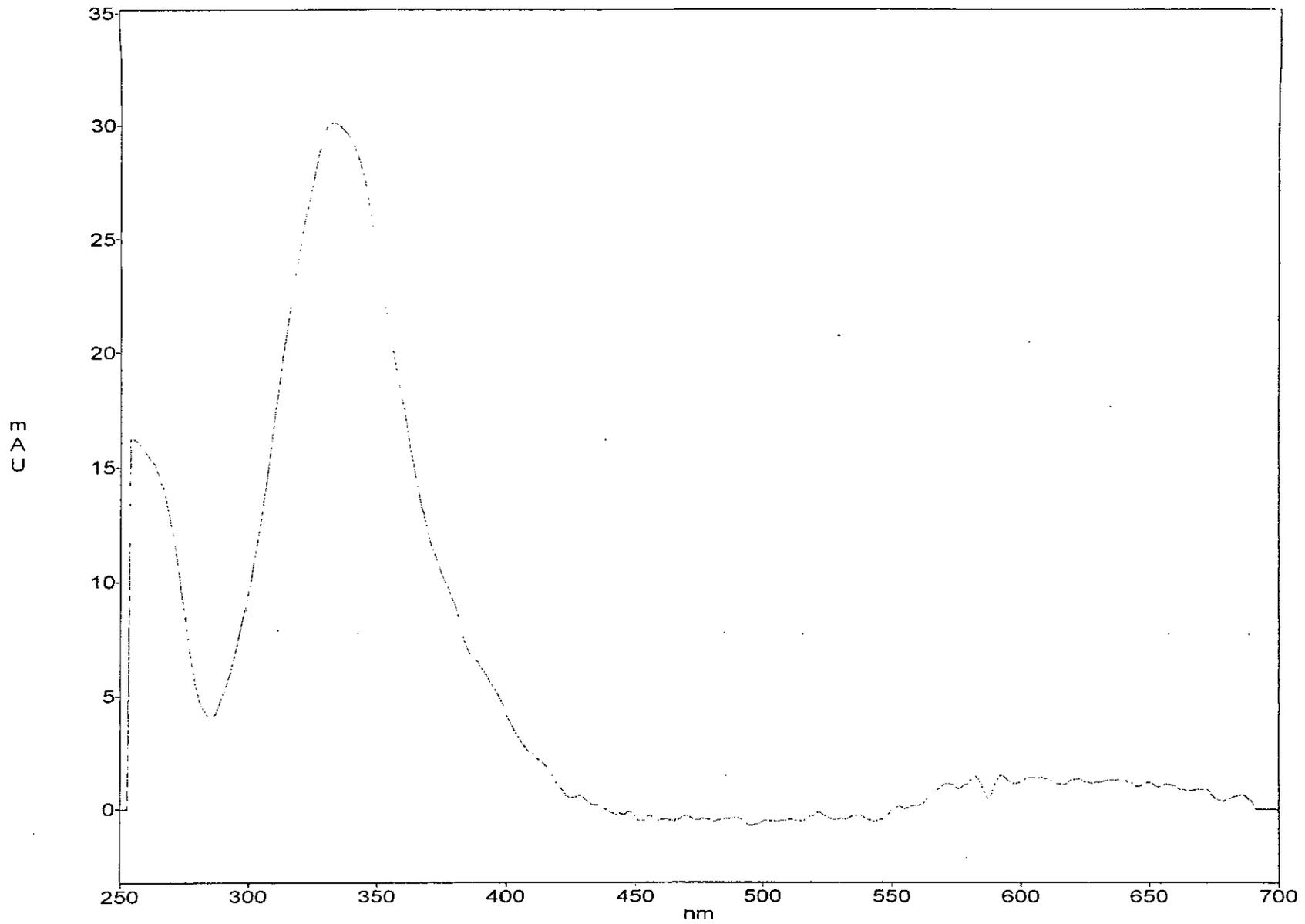


Fig B.19 Sobreposición de los cromatogramas obtenidos para las curvas de calibración de los estándares empleados en este trabajo.

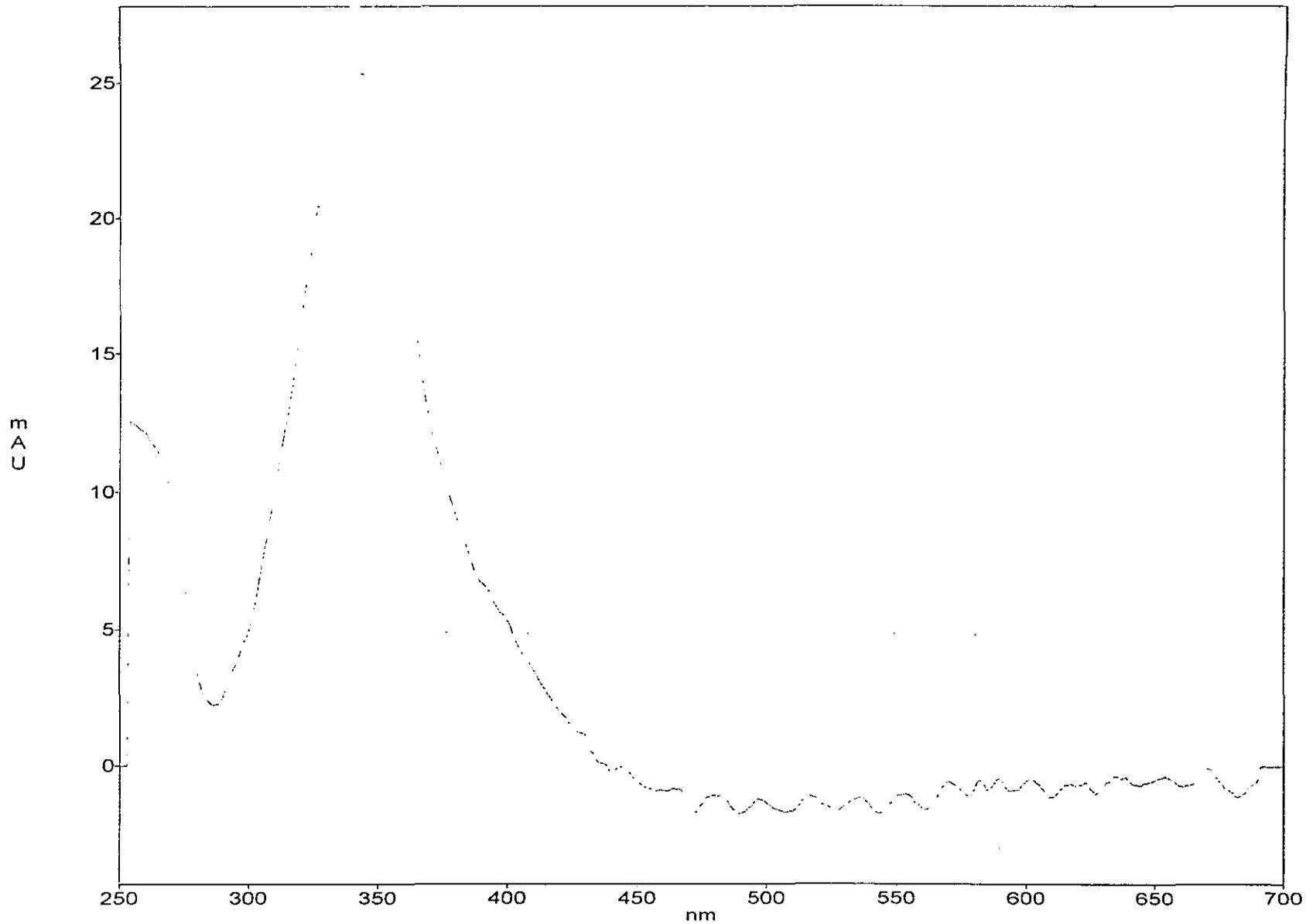
Apéndice C

Espectros UV obtenidos con el detector de arreglo de diodos y gráficas tridimensionales de los cromatogramas de mezclas de estándares con 20 y 100 ppm



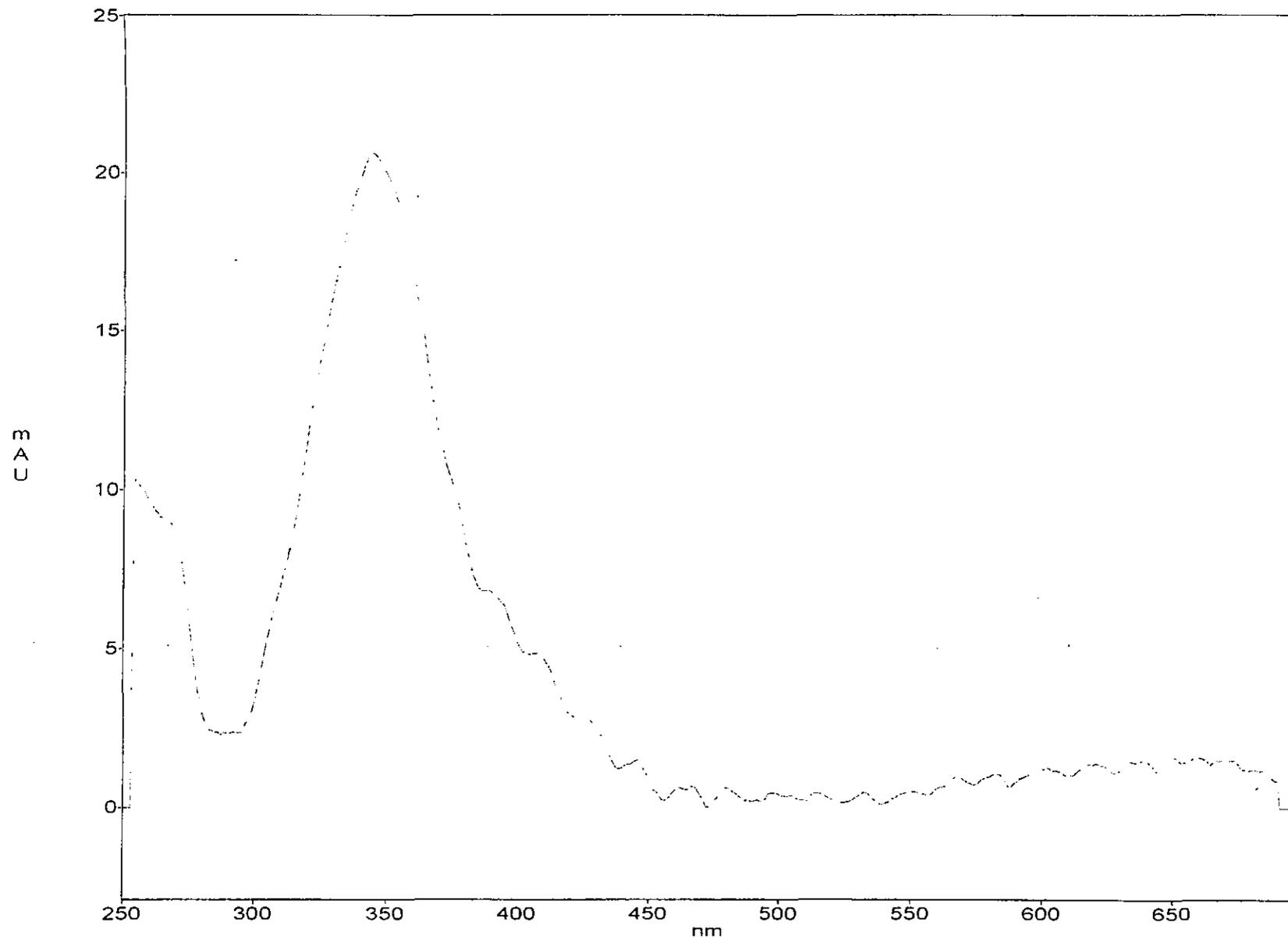
Espectro UV de la hidrazona de formaldehído.

Fig C.1



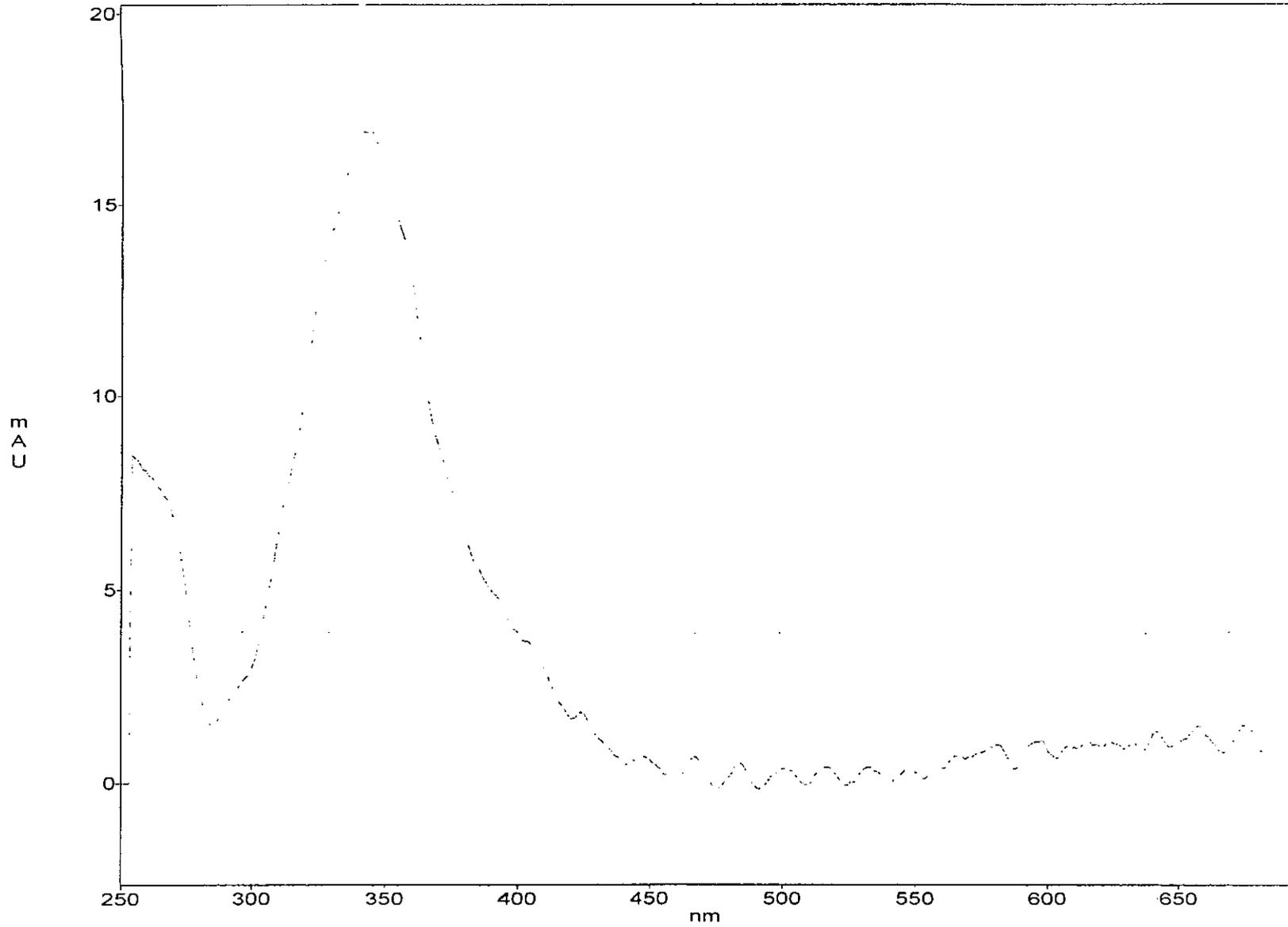
Espectro UV de la hidrazona de acetaldehído.

Fig C.2



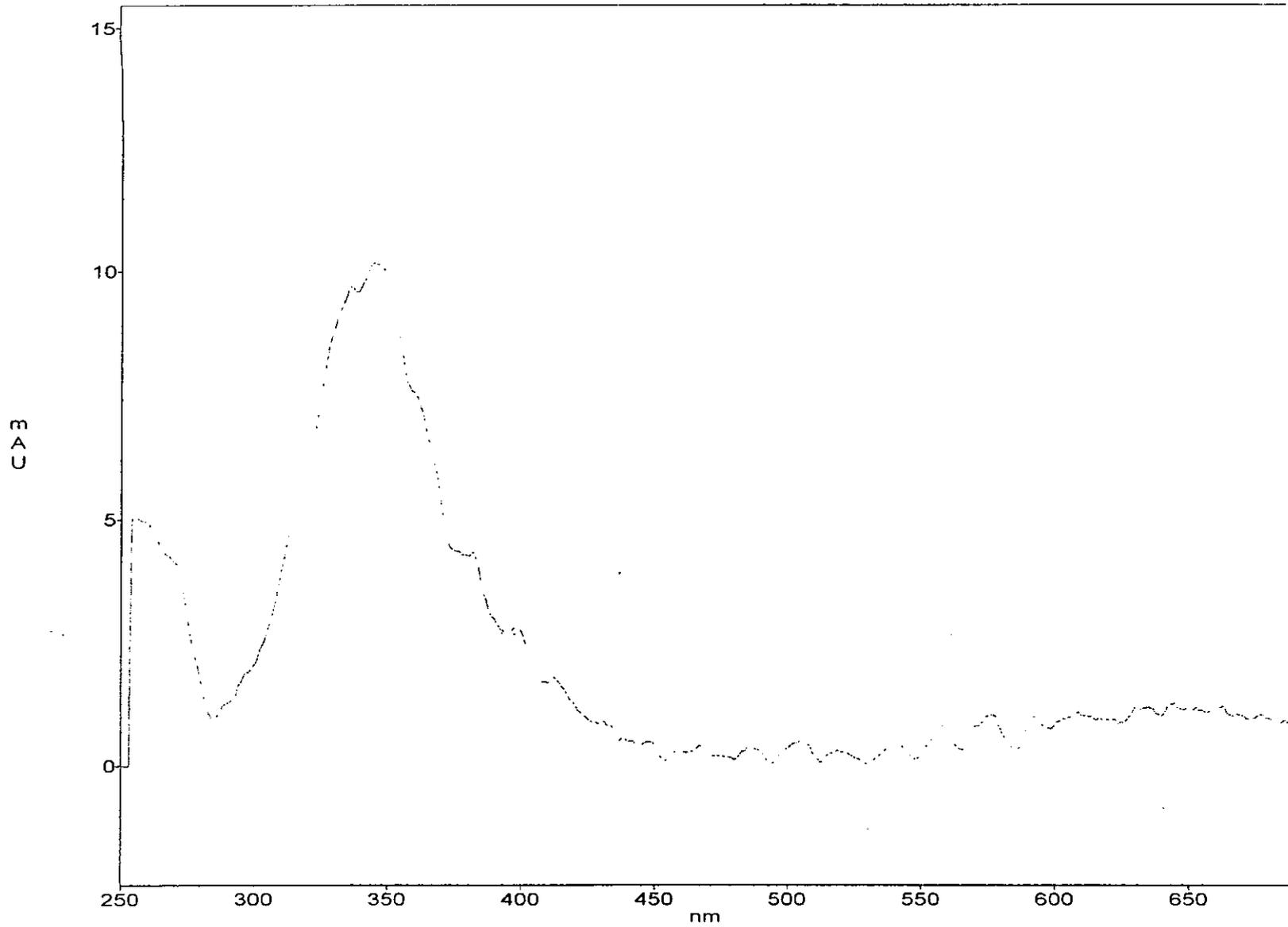
Espectro UV de la hidrazona de acetona.

Fig C.3



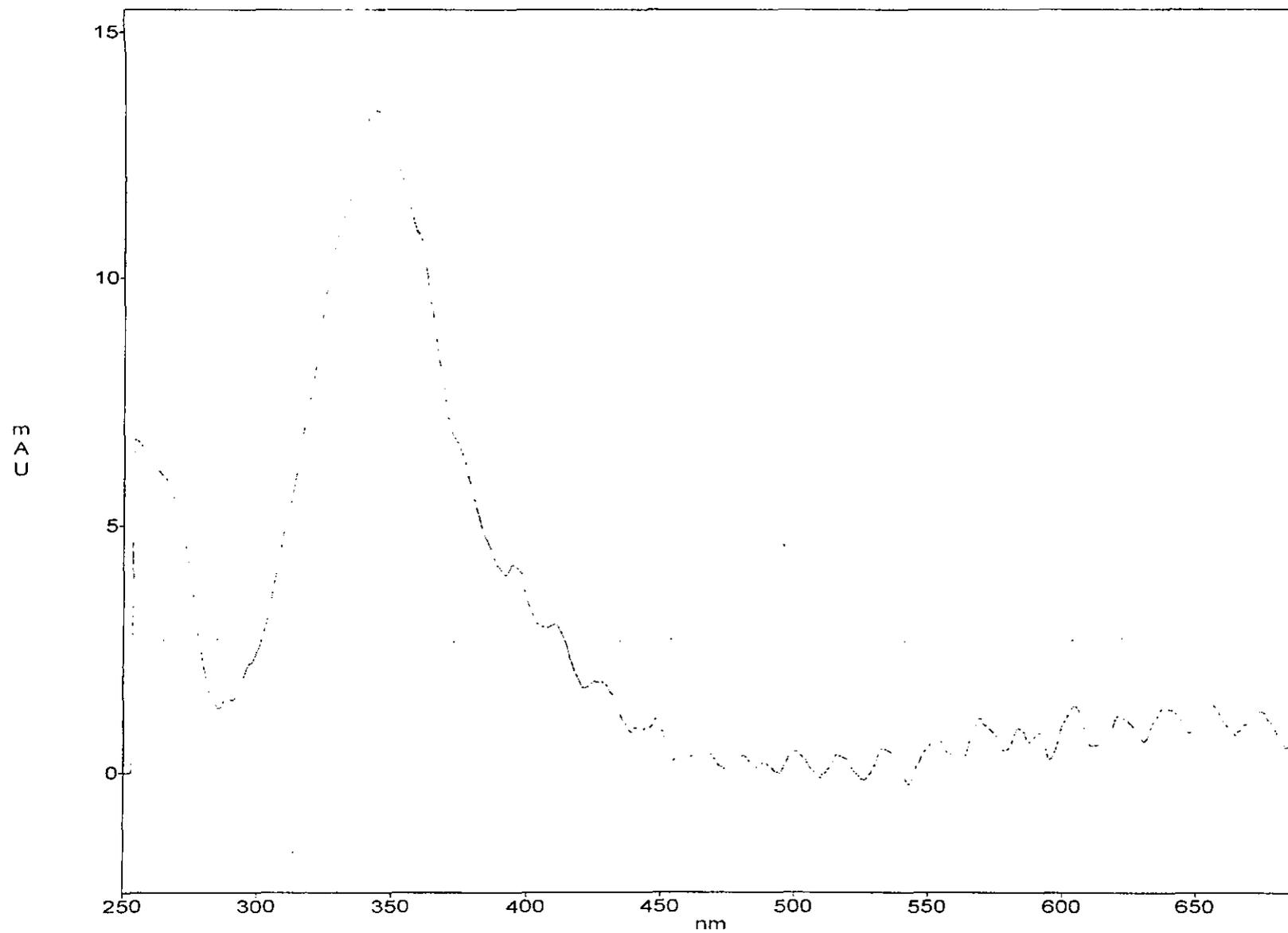
Espectro UV de la hidrazona de propanal.

Fig C.4



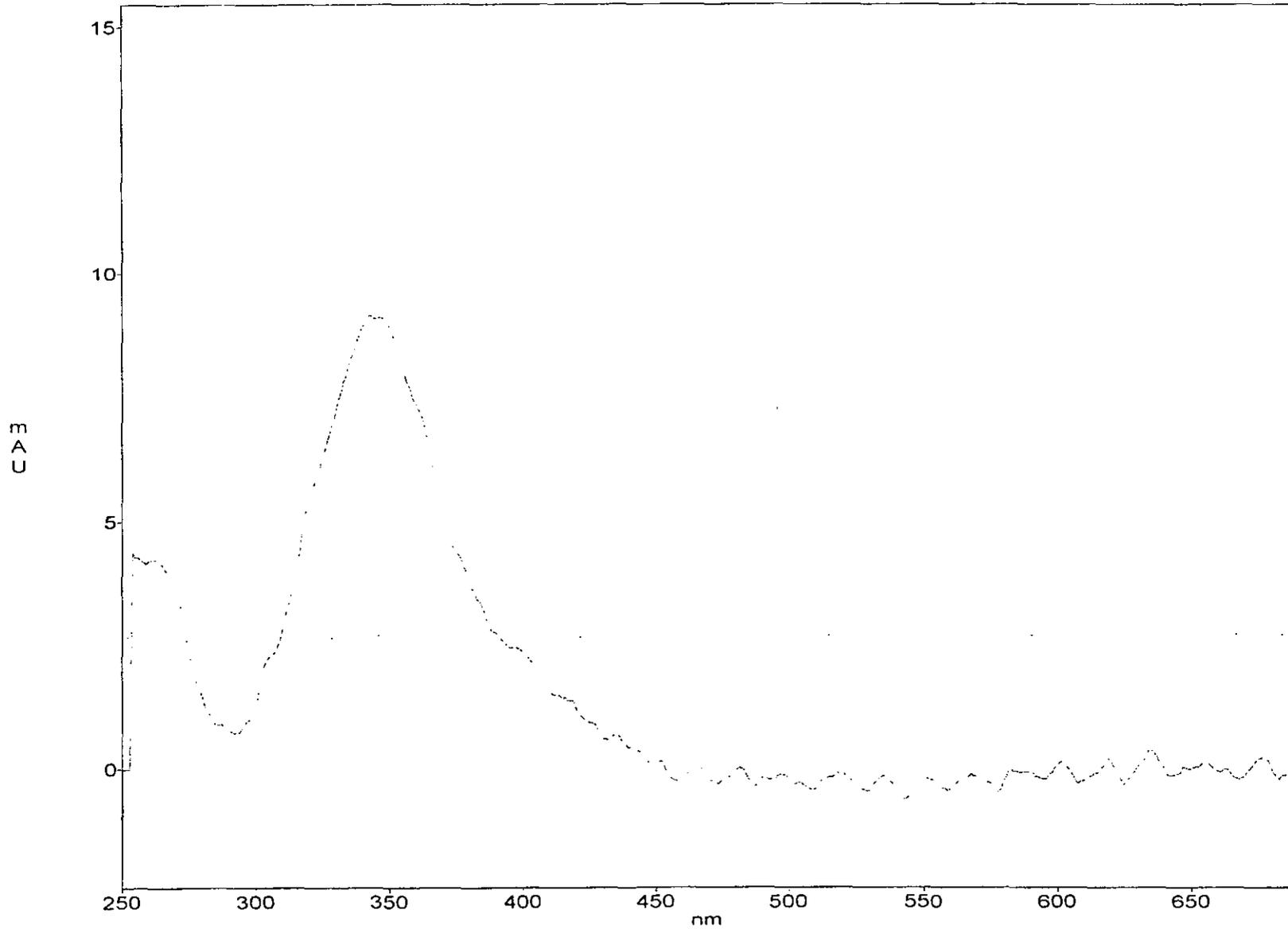
Espectro UV de la hidrazona de butanal.

Fig C.5



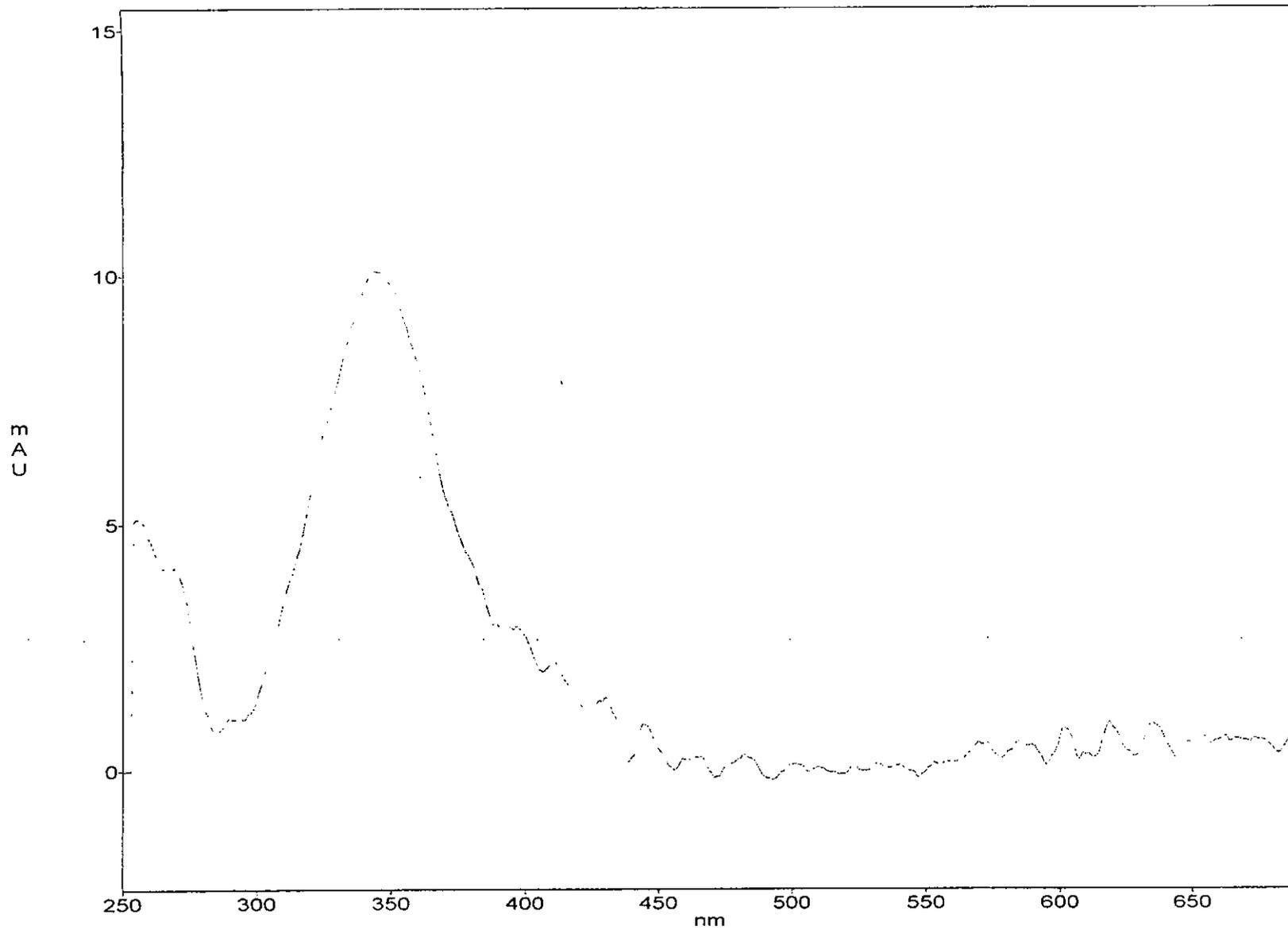
Espectro UV de la hidrazona de 2-butanona.

Fig C.6



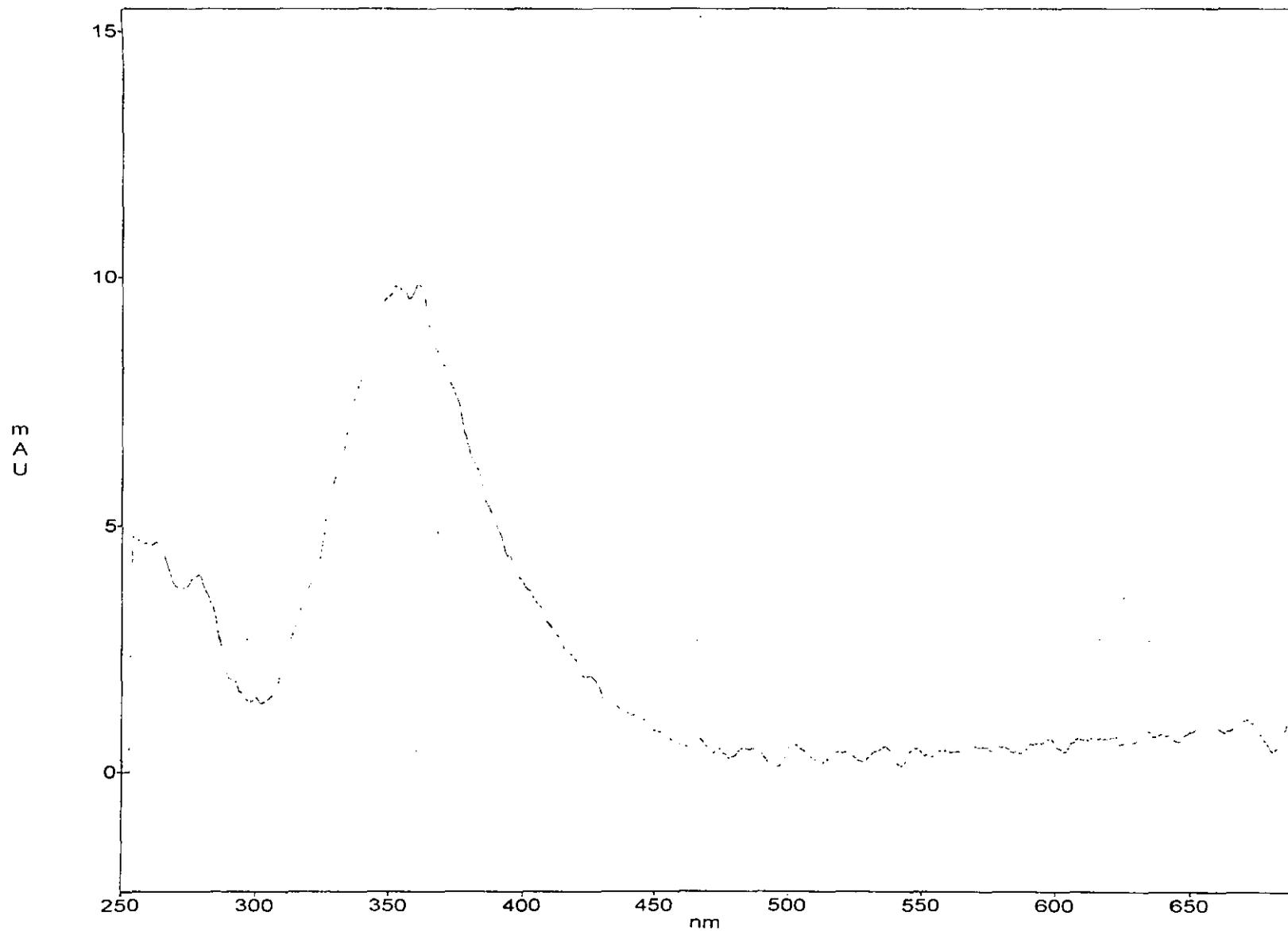
Espectro UV de la hidrazona de 2-pentanona.

Fig C.7



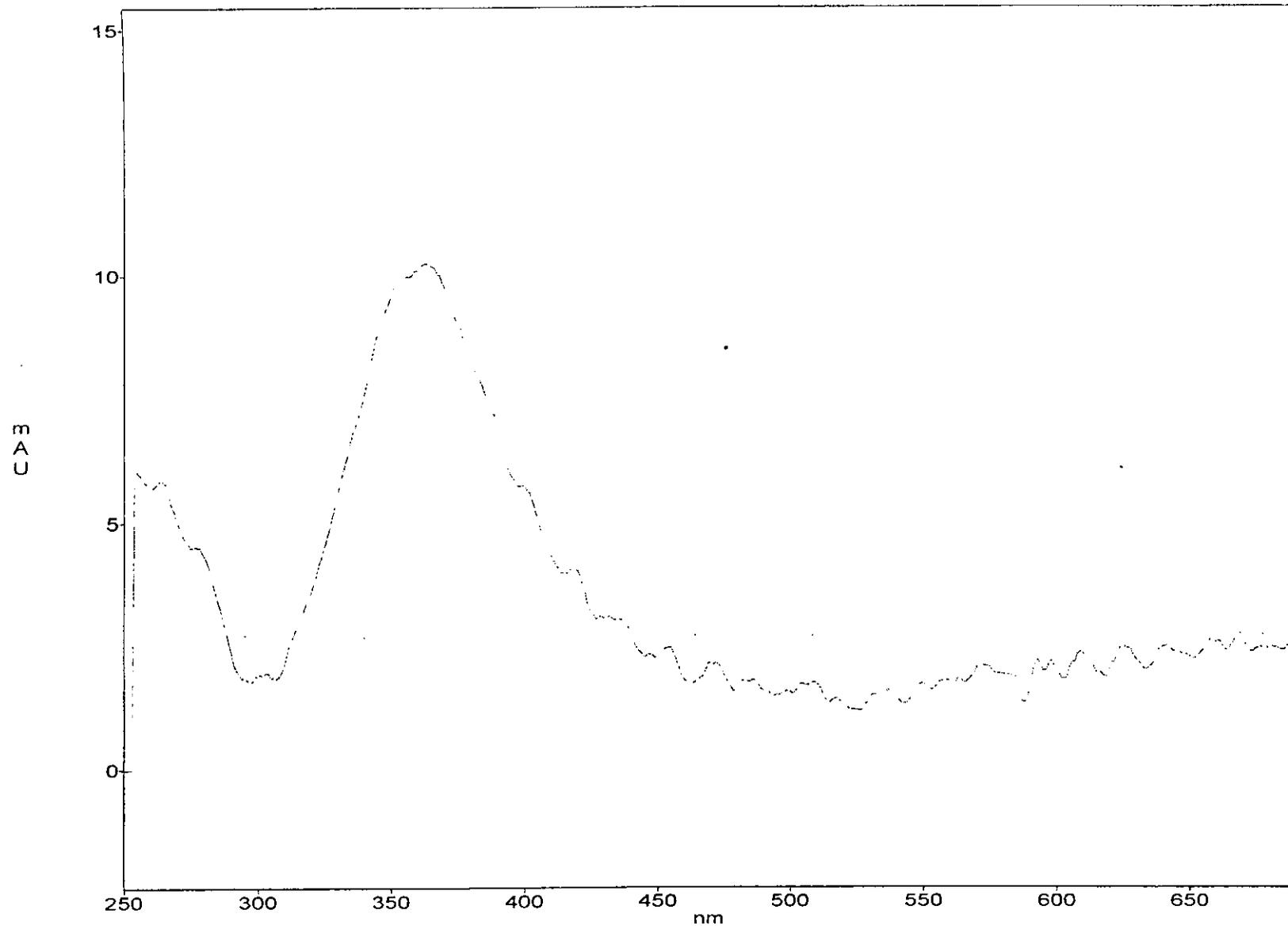
Espectro UV de la hidrazona de 3-pentanona.

Fig C.8



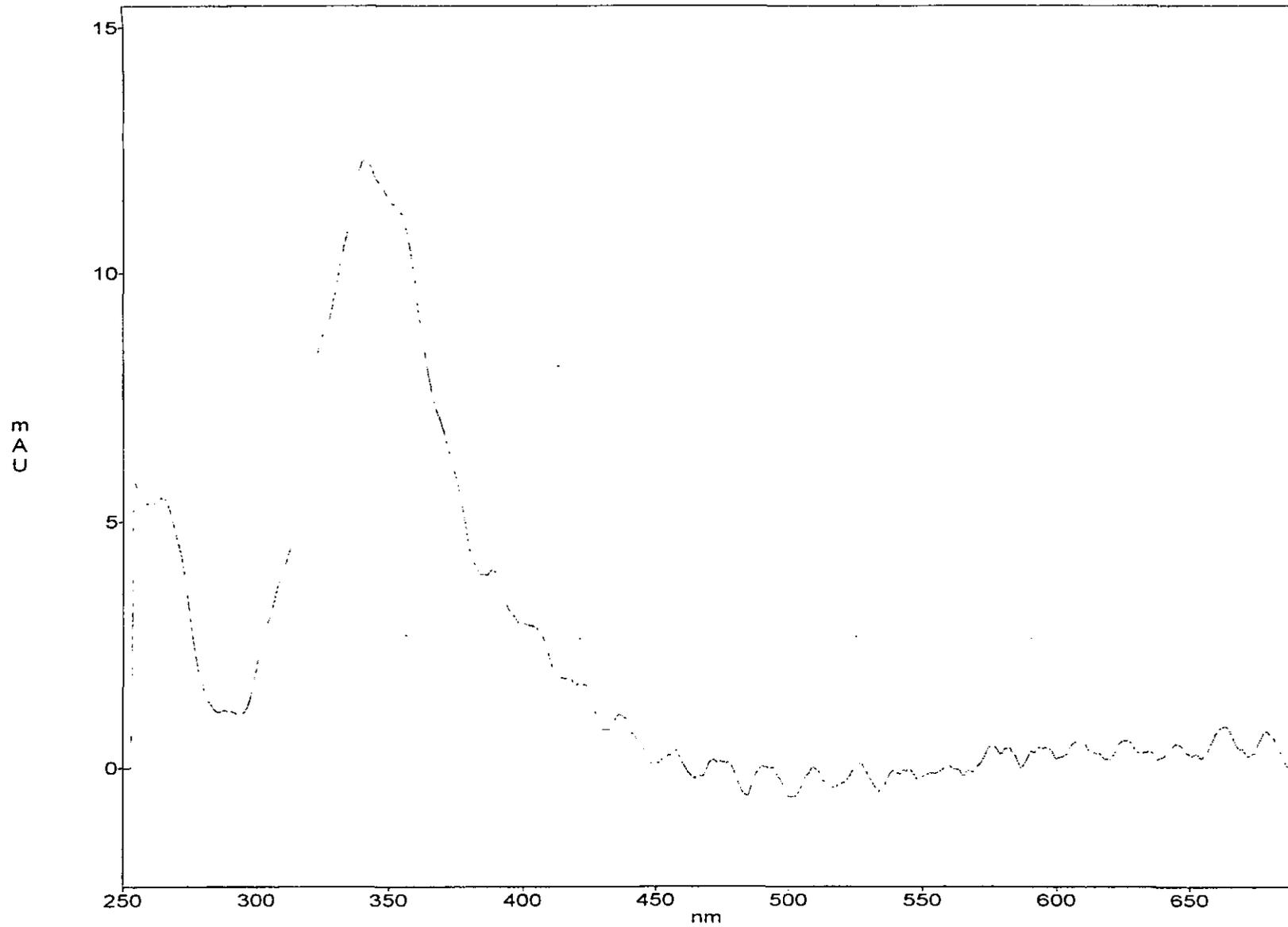
Espectro UV de la hidrazona de 4-metil-3-penten-2-ona.

Fig C.9



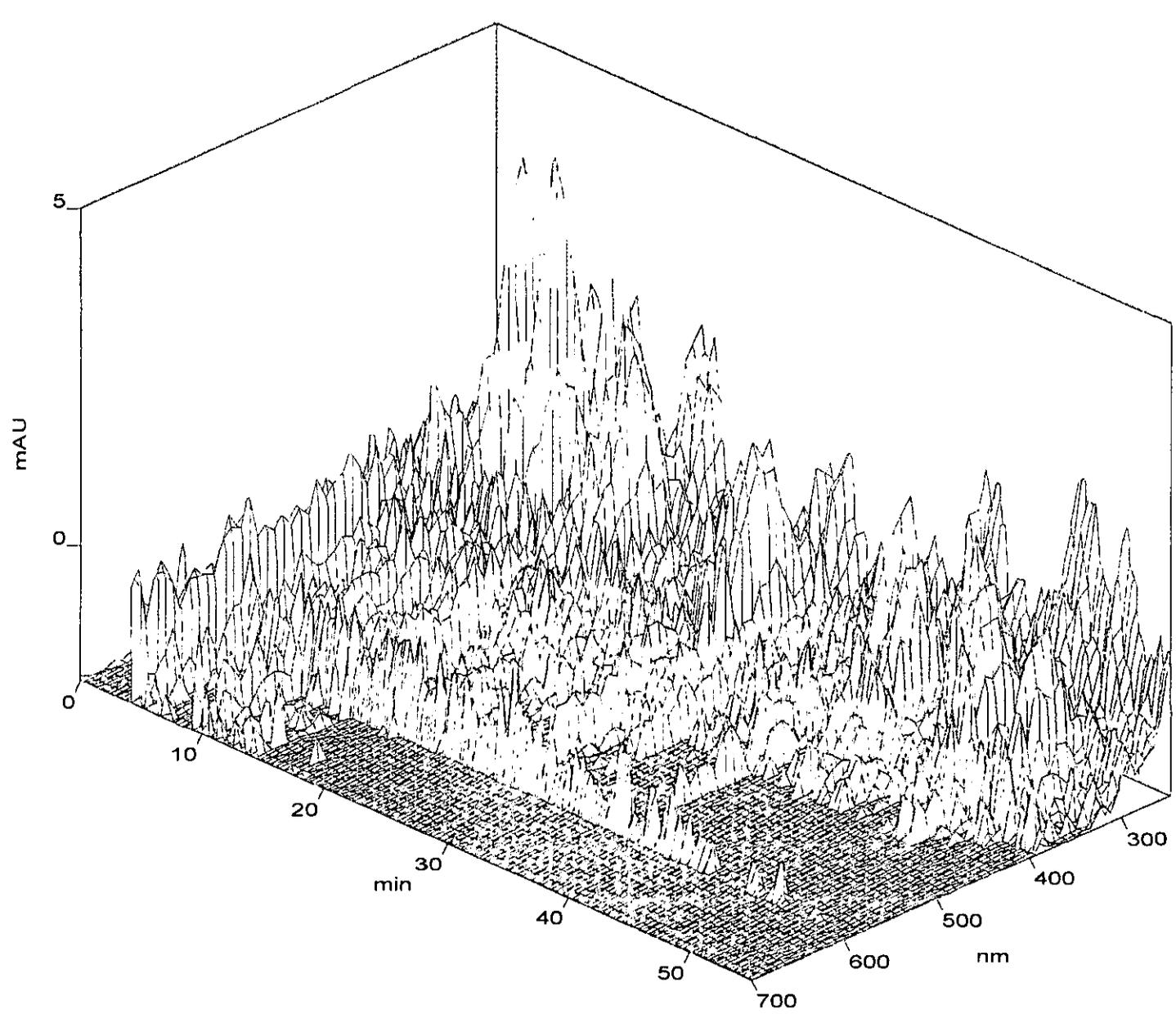
Espectro UV de la hidrazona de 3,3-dimetil-2-butanona.

Fig C.10

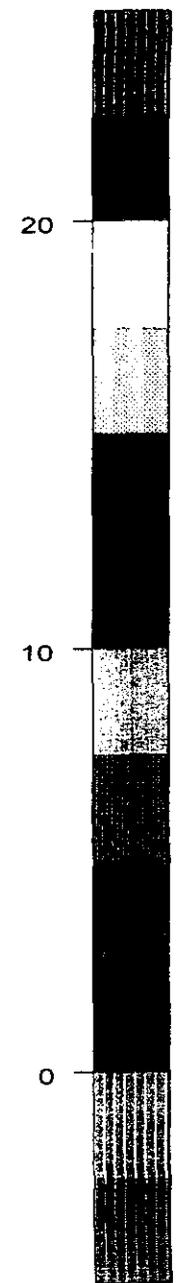
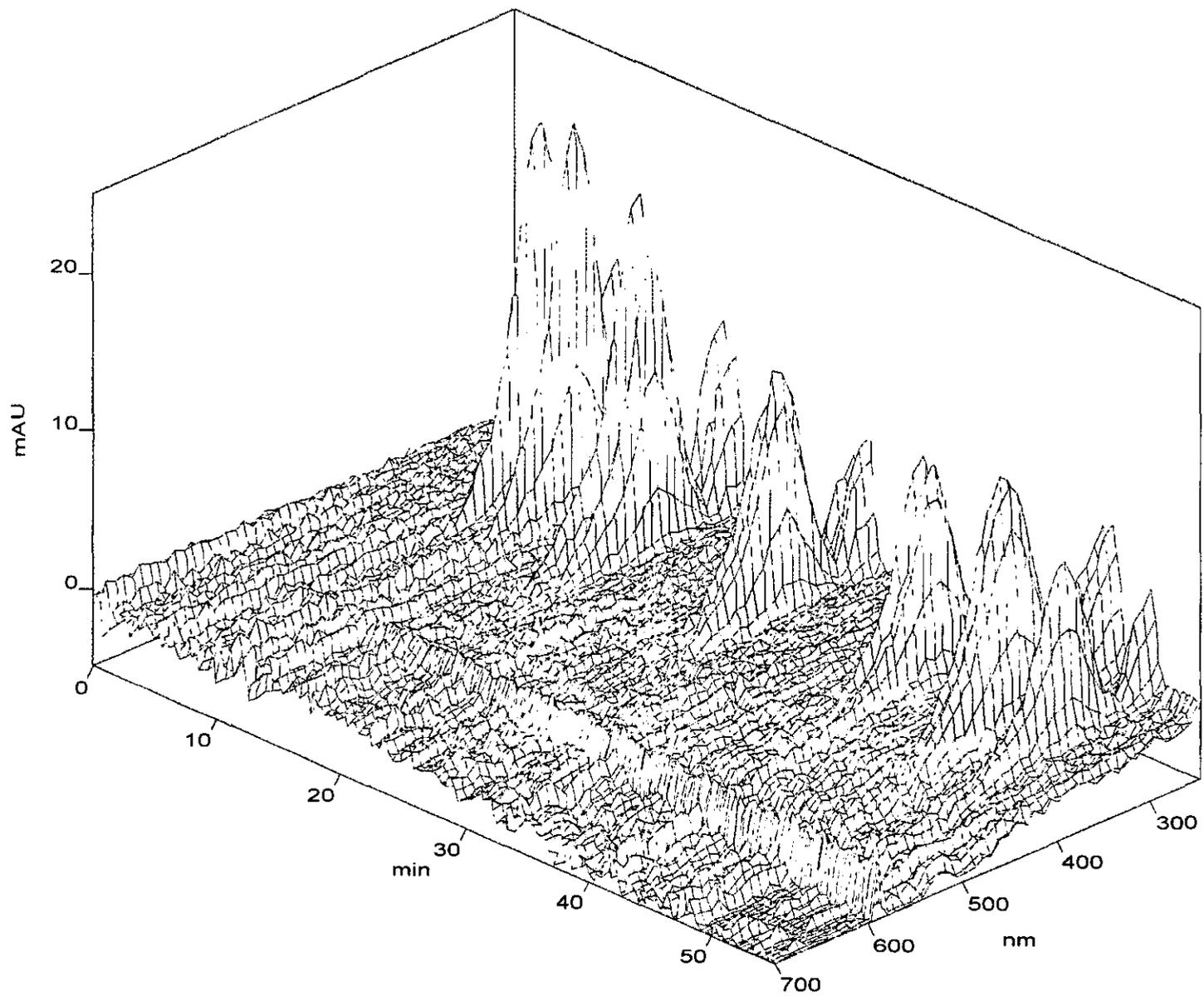


Espectro UV de la hidrazona de acetofenona.

Fig C.11



Cromatograma en 3D de la mezcla de estándares con 20 mg de derivado por litro de solución.
Fig C.12



Cromatograma en 3D de la mezcla de estándares con 100 mg de derivado por litro de solución.
Fig C.13

Apéndice D

Cromatogramas de resultados

File : c:\winchrom\chrom\m.004
 Method : c:\winchrom\methods\draken-a.met
 Sample ID : STD- 20 ppm
 Acquired : Apr 19, 1999 11:29:46
 Printed : Oct 29, 1999 15:03:48
 User : GMM-K
 File Desc. : Inyección de STD-20 ppm con MeCN:H2O solamente.

Channel B Results

Pico	Tiempo	Compuesto	Area	Altura	Anchura	T. inicio	T. final
1	5.3	Formaldehido	120915	9060	1.23	4.93	6.17
2	7.3	Acetaldehido	133731	8252	1.15	6.73	7.88
3	10.2	Acetona	119162	6141	1.18	9.57	10.75
4	11.4	Propanal	111385	4766	1.70	10.75	12.45
5	17.0	Butanal	127653	4550	1.12	16.23	17.35
6	17.6	2-Butanona	102908	3629	1.15	17.35	18.50
8	26.3	Pentanonas **	193707	4828	1.90	25.50	27.40
9	31.0	4Me-3penten-2ona	93509	1993	1.90	30.10	32.00
10	32.9	3,3diMe-2butanona	86363	1716	2.52	32.00	34.52
11	39.5	Acetofenona	96208	1633	3.05	38.57	41.62

c:\winchrom\chrom\m.004 -- Channel B

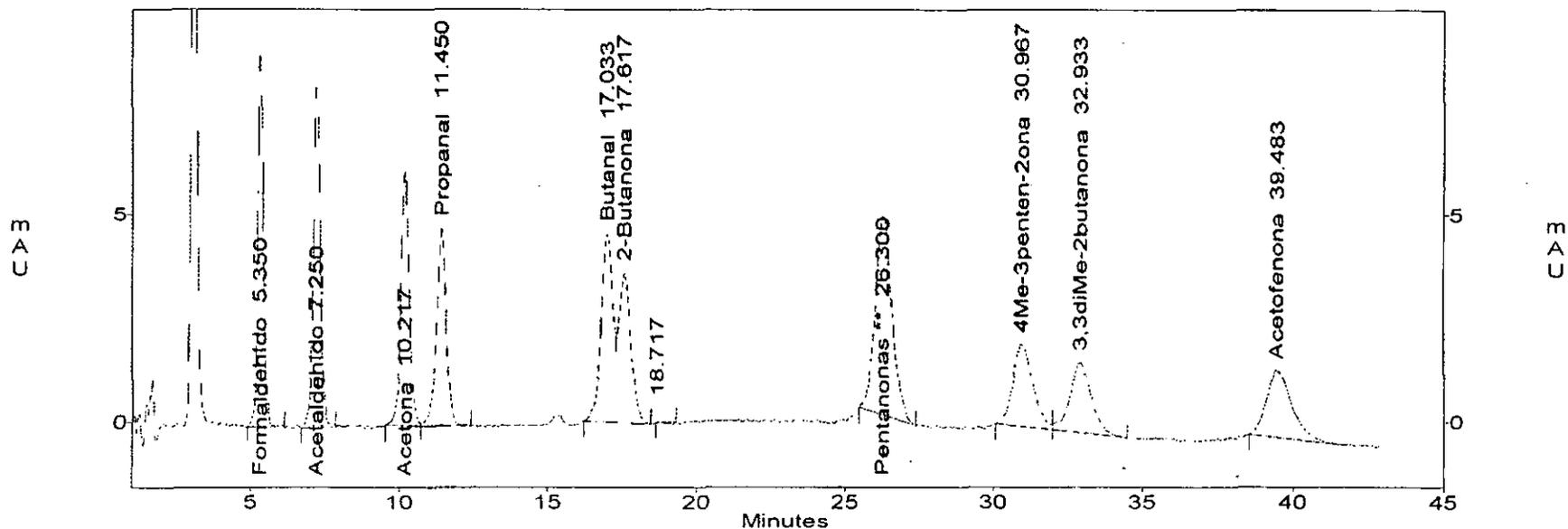


Fig D.1 Cromatograma obtenido de la inyección de la mezcla de calibración con 20 mg de compuesto por litro de solución con fase móvil de acetonitrilo-agua en forma isocrática.

File : c:\winchrom\chrom\m.012
 Sample ID : STD_20 ppm
 Acquired : May 03, 1999 12:42:58
 Printed : May 10, 1999 12:17:32
 User : GMM-K
 File Desc. : Inyección con Hypersil 25 cm y mezcla preparada manualmente
 MeCN:H2O (55:45) a 1.5 ml/min

Channel B Results

Pico	Tiempo	Compuesto	Area	Altura	Ancho
2	4.483	Formaldehído	128038	10330	1.533
3	5.867	Etanal	138374	9740	1.383
4	7.967	Acetona	126884	7375	1.667
5	8.767	Propanal	115364	6148	1.183
6	12.583	Butanal	143963	6498	3.183
7	12.833	2-butanona	128861	6366	1.167
8	18.600	2- y 3-pentanona	216495	6913	1.917
9	20.900	4Me-3penten-2ona	111854	3083	2.133
10	22.583	3,3diMe-2butanona	100710	2510	2.150

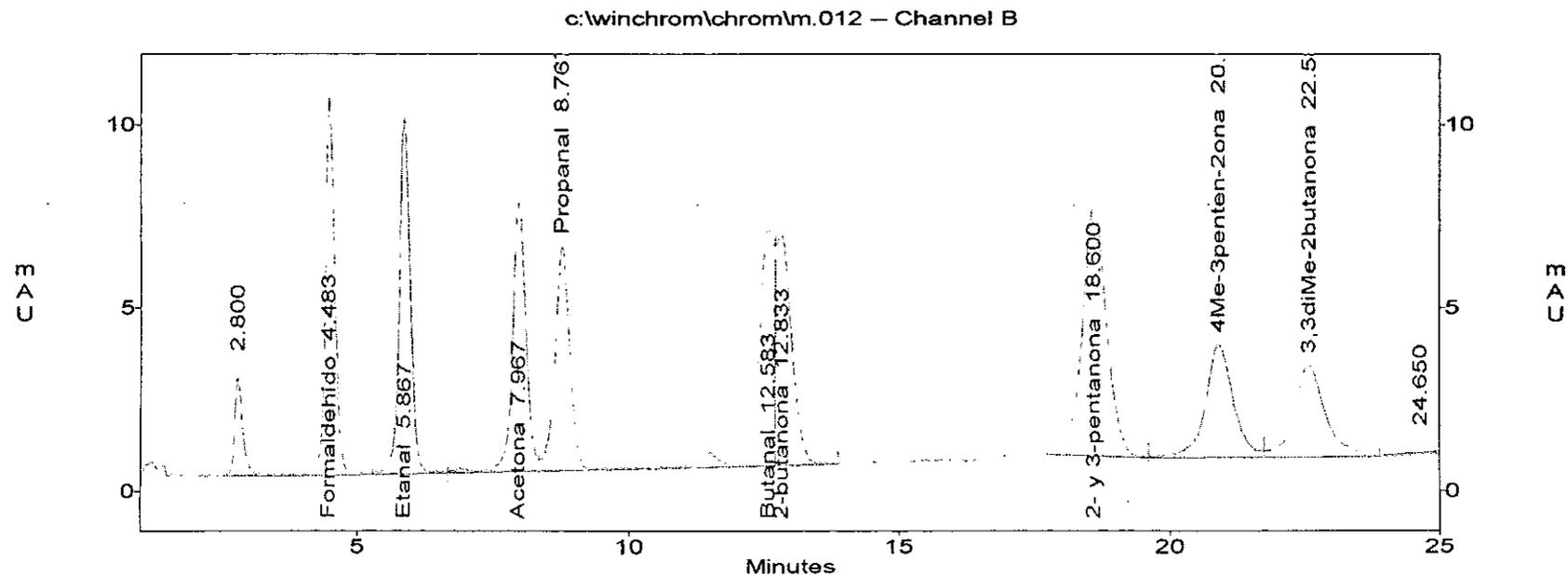


Fig D.2 Cromatograma obtenido de la inyección de la mezcla de calibración con 20 mg de compuesto por litro de solución con fase móvil de acetonitrilo-agua (55:45) en forma isocrática a un flujo de 1.5 ml/min utilizando una columna de 25 cms de largo.

File : c:\winchrom\chrom\m.013
 Sample ID : STD-20 ppm
 Acquired : May 03, 1999 15:07:56
 Printed : May 10, 1999 12:09:36
 User : GMM-K
 File Desc. : Inyección con Spherisorb ODS-2 (15 cm) y 5 micras. Laq mezcla fue preparada manualmente
 MeCN:H2O (55:45)

Channel B Results

Pico	Tiempo	Compuesto	Area	Altura	Ancho
2	3.617	Formaldehído	189295	10999	1.233
3	4.633	Etanal	201003	10140	1.417
4	6.183	Acetona	186577	7625	0.983
5	6.683	Propanal	163341	6621	1.250
6	9.500	Butanal y 2-butan	387962	10556	2.267
7	13.667	2- y 3-pentanona	339809	7269	3.267
8	15.483	4-Me-3penten-2ona	146244	3142	1.383
9	16.633	3,3-diMe-2butanon	158654	2659	1.950
10	19.367	Acetofenona	185086	2906	3.133

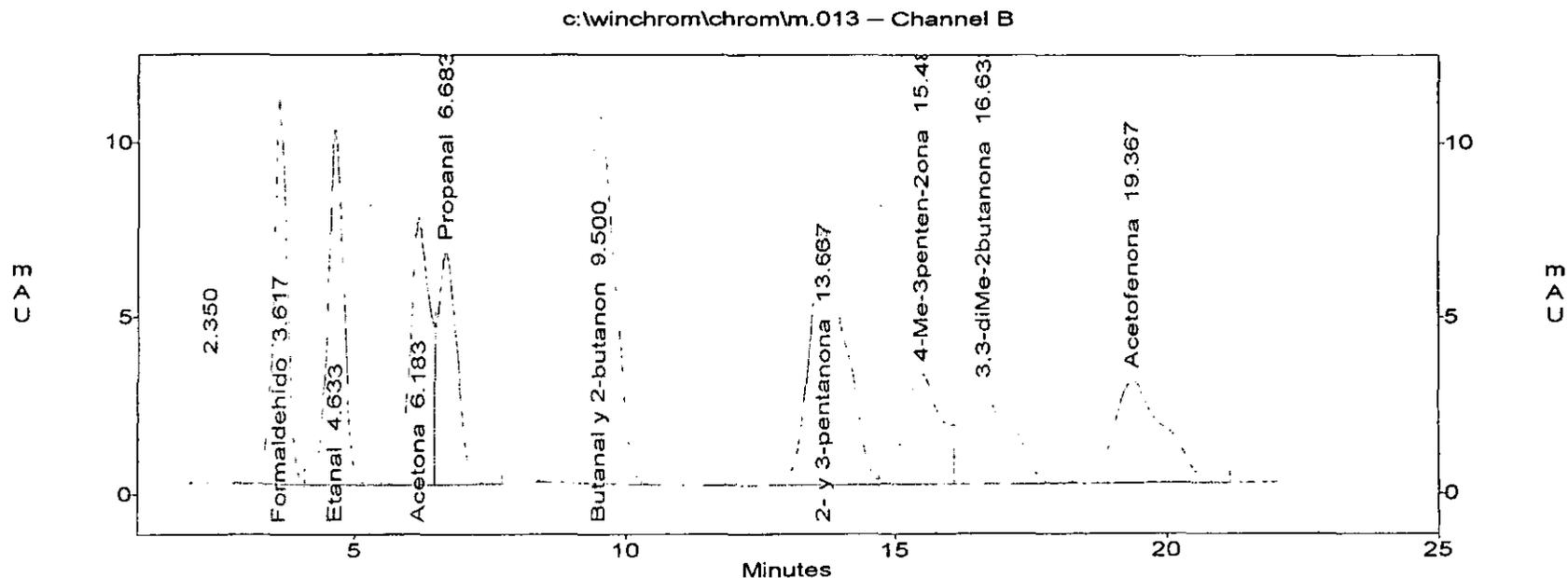


Fig D.3 Cromatograma obtenido de la inyección de la mezcla de calibración con 20 mg de compuesto por litro de solución con fase móvil de acetonitrilo-agua (55:45) en forma isocrática utilizando una columna de 15 cms de largo.

Areas, times, and heights stored in: C:\ALD187.ATR
 Data File = C:\ALD187.D15 Printed on 03-13-1996 at 14:35:42
 Start time: 0.00 min. Stop time: 35.00 min. Offset: 0 ev.
 Full Range: 1 millivolts

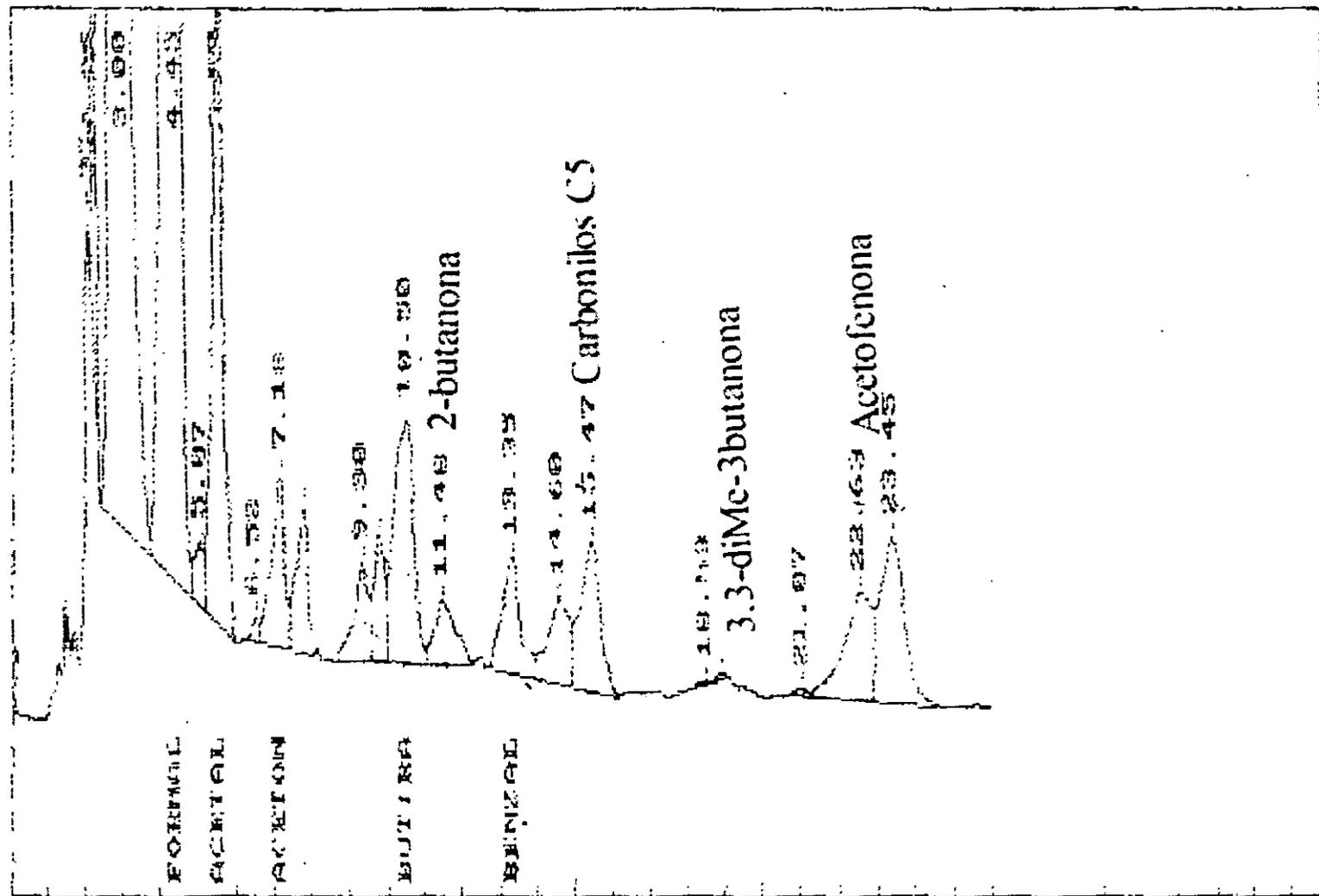
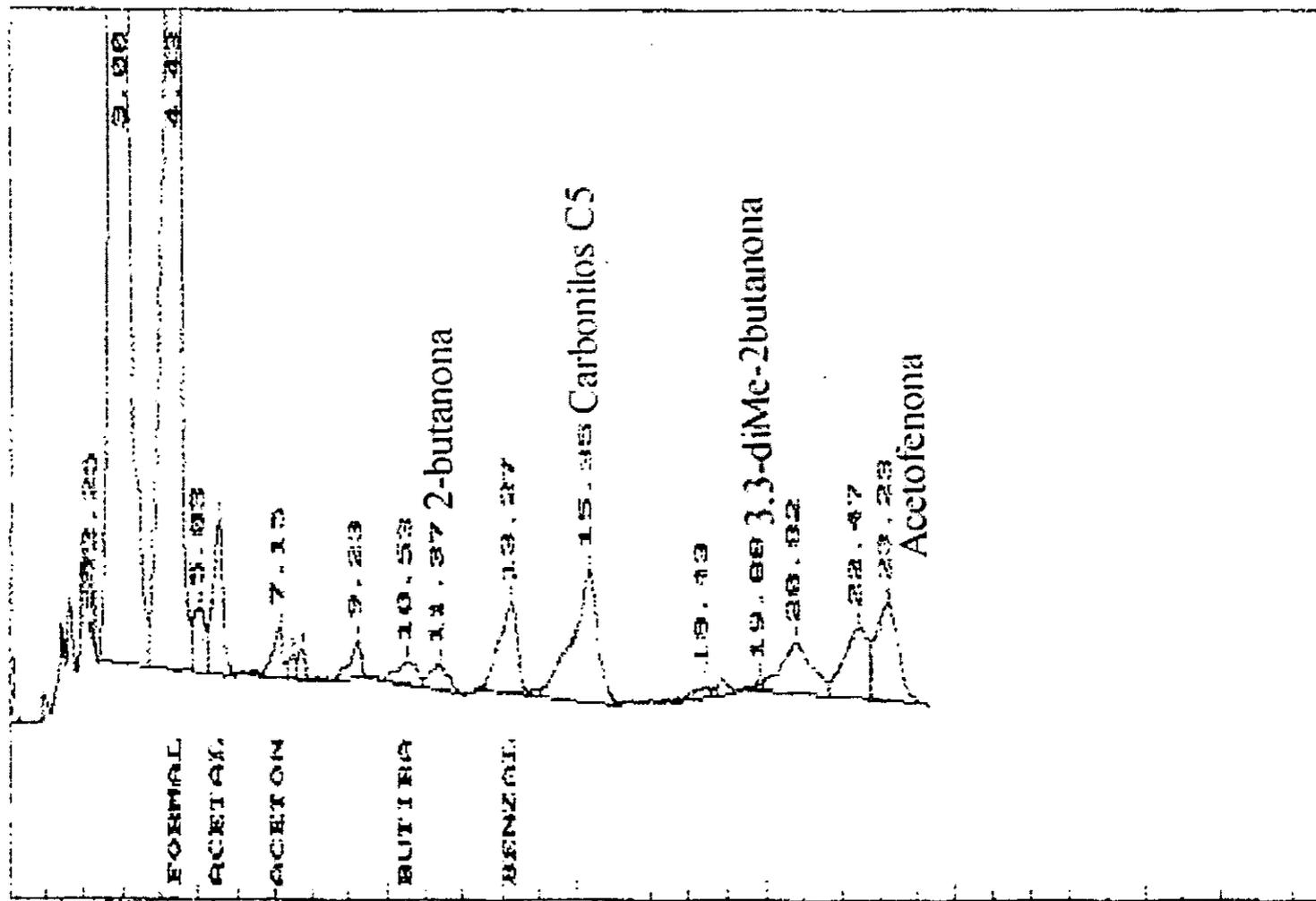


Fig D.4 Resultados de identificación de picos en la muestra ALD187 tomada en febrero de 1996.

Areas, times, and heights stored in: C:\ALD195.AIF
 Data File = C:\ALD195.DTS Printed on 03-13-1996 at 17:01:18
 Start time: 0.00 min. Stop time: 35.00 min. Offset: 0 mv.
 Full Range: 1 millivolts



Output redirected to Lpt1:

1-2 EL CHICO Processed: 03-13-1996 17:17:00, segment 1, cycle 197
 RAW DATA SAVED IN FILE C:\ALD197.DTS

Fig D.5 Resultados de identificación de picos en la muestra ALD195 tomada en febrero de 1996.

Areas, times, and heights stored in: C:\ALD282.A12
 Data File - C:\ALD282.PTS Printed on 03-27-1996 at 17:29:48
 Start time: 0.00 min. Stop time: 35.00 min. Offset: 0.00
 Full Range: 1 millivolt

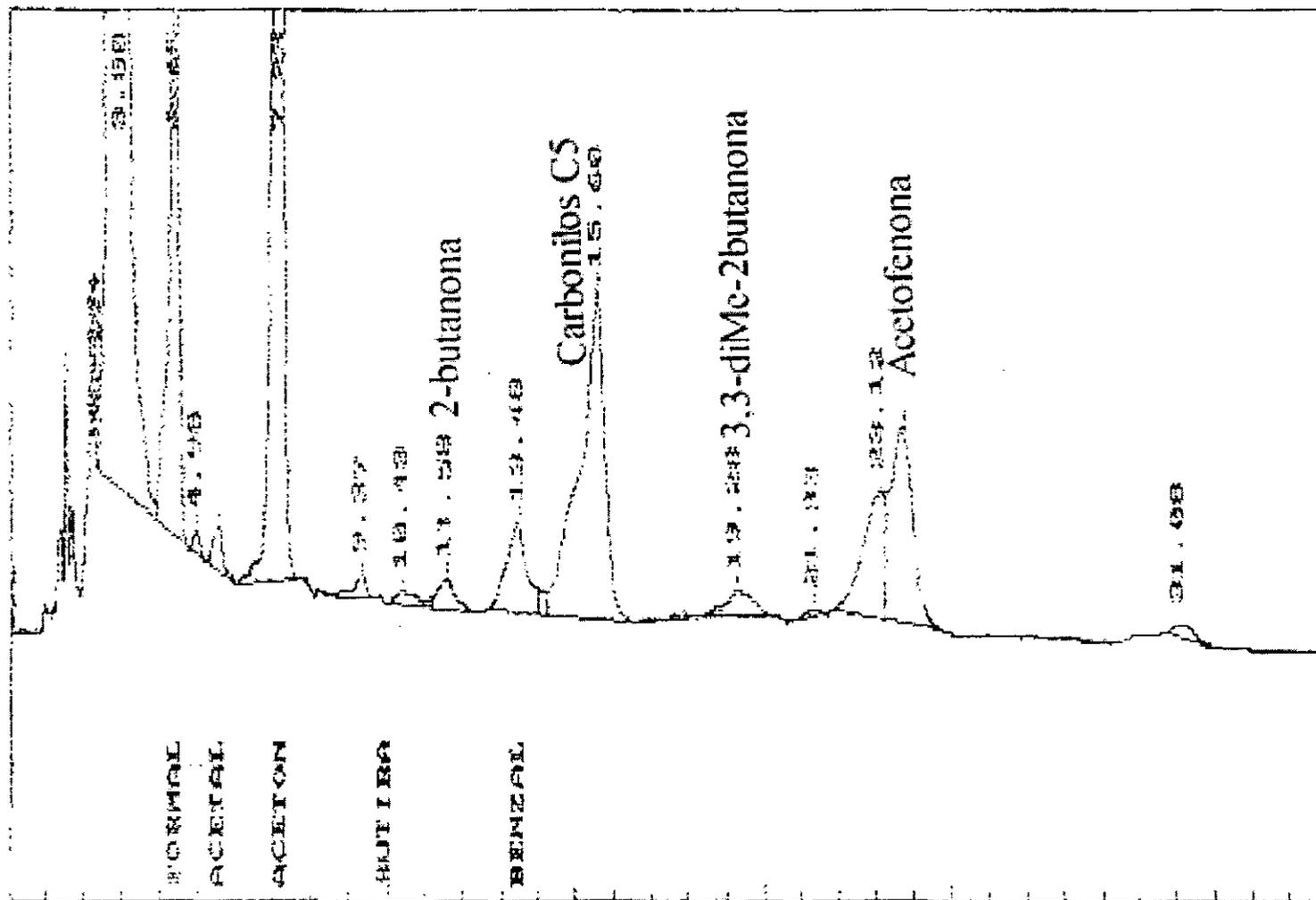


Fig D.6 Resultados de identificación de picos en la muestra ALD282 tomada en marzo de 1996.

Plot of data file: C:\ald715.PTS
Date: 07-07-1999 Time: 11:05:10
Sample Name: D1-1/AJS-F 24-3-97
Start Time= 0.035 Stop Time = 15.02 Min. Scale= 0 Max. Scale= 1000

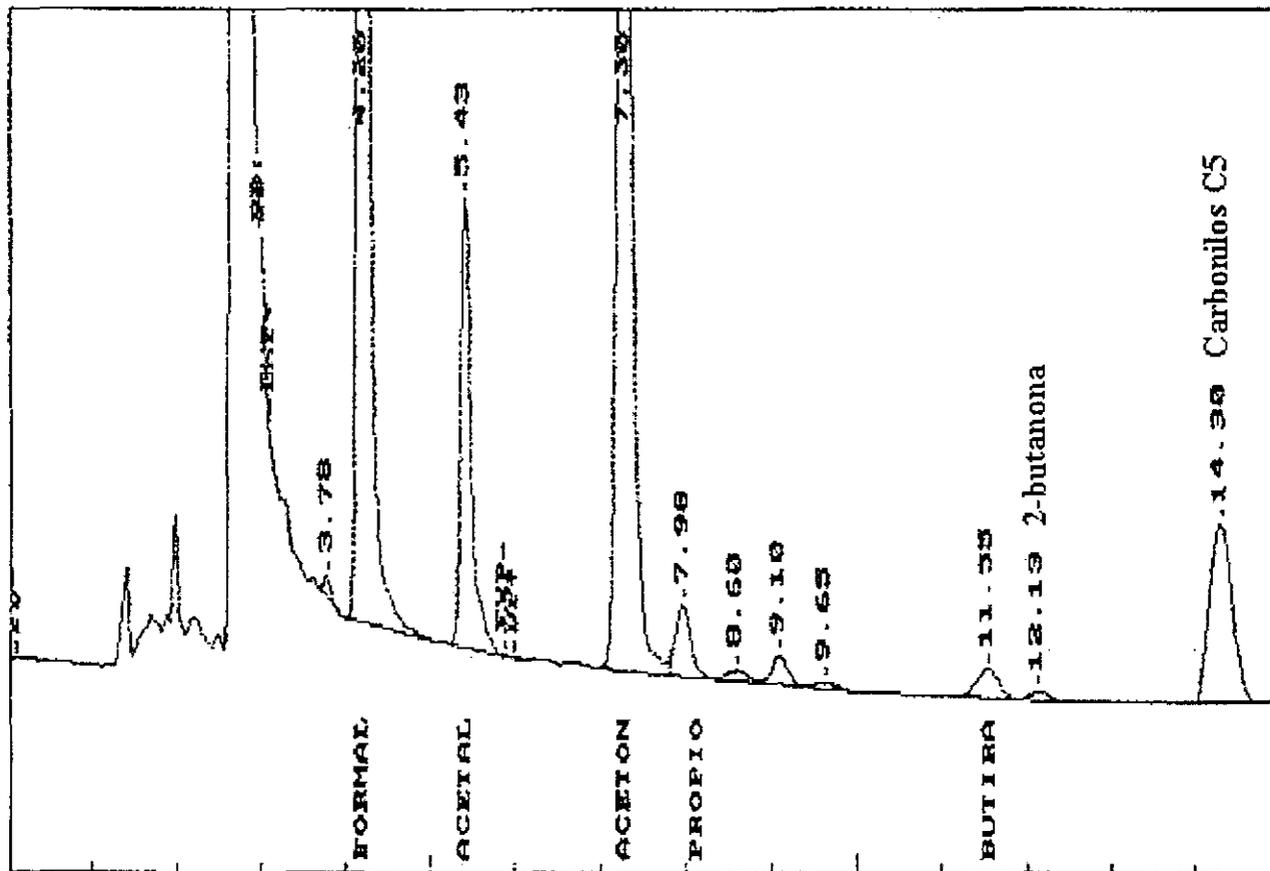


Fig D.7 Resultados de identificación de picos en la muestra ALD715 tomada en marzo de 1997 en el volcán Ajusco.

Plot of data file: C:\ald718.PTS
 Date: 07-09-1999 Time: 11:30:14
 Sample Name: D4-2/CH-F 21-3-97
 Start Time= 0.03 Stop Time = 15.02 Min. Scale= OMax. Scale= 1000

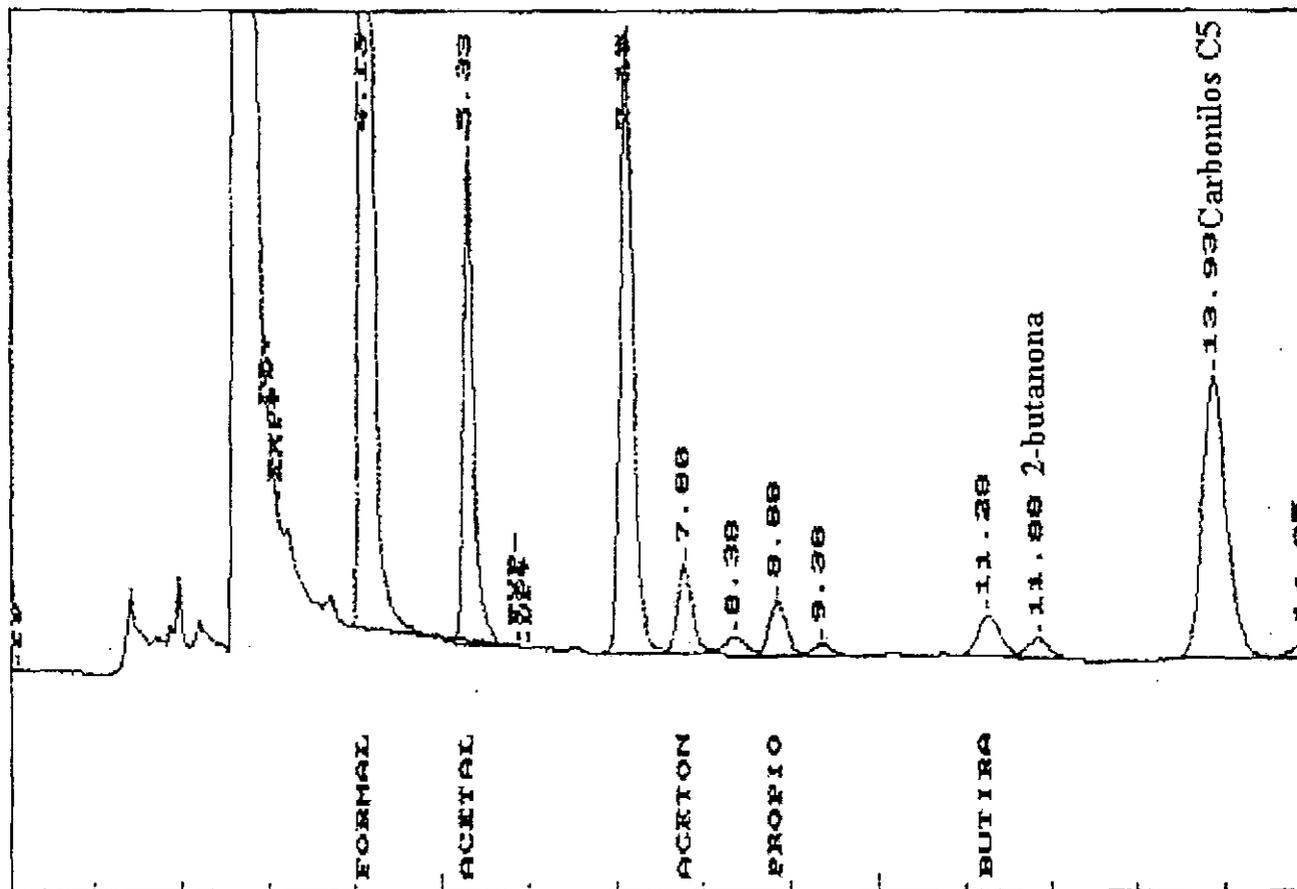


Fig D.8 Resultados de identificación de picos en la muestra ALD718 tomada en marzo de 1997 en el parque nacional El Chico.

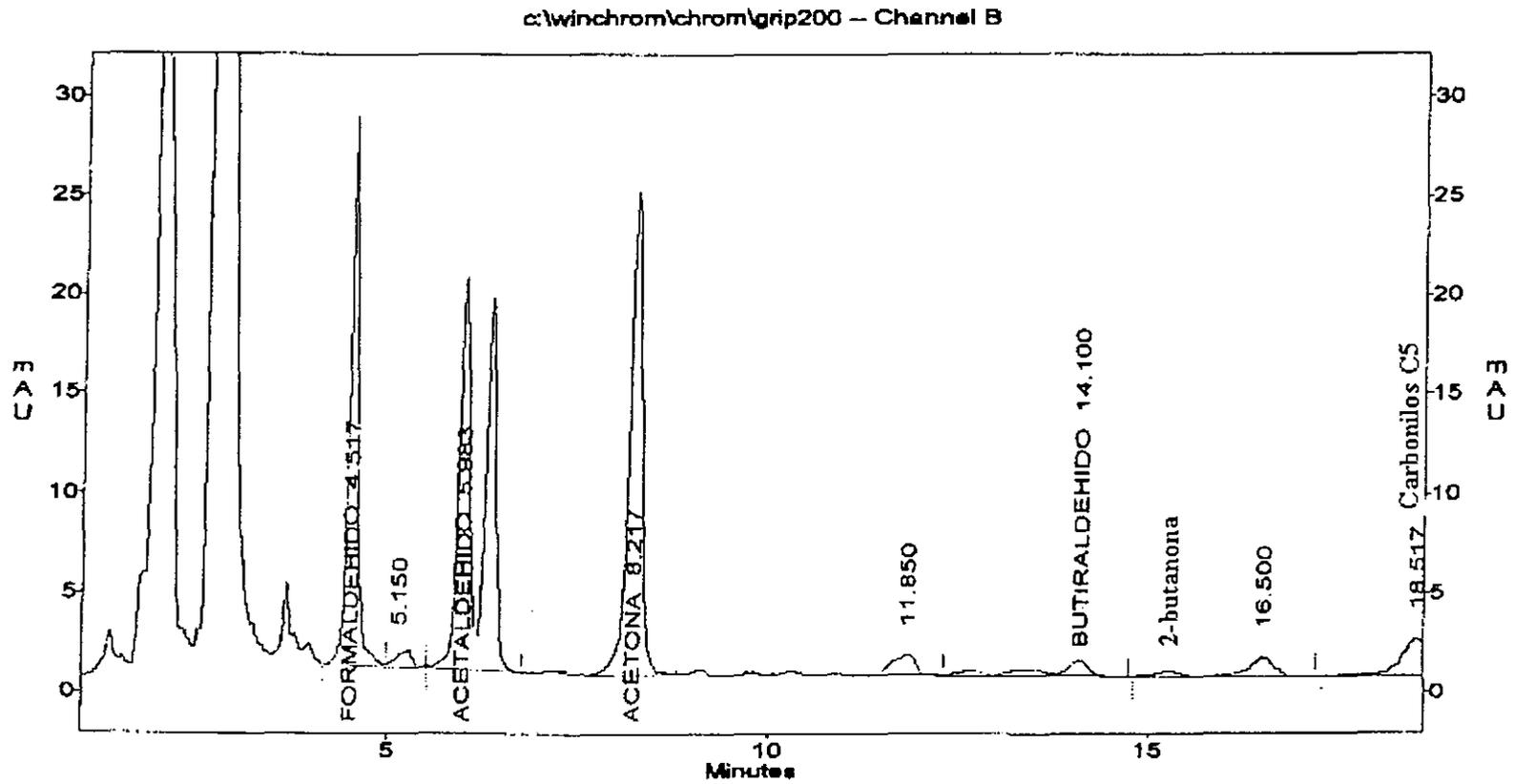


Fig D.9 Resultados de identificación de picos en la muestra AJS/D4-E1 tomada en 1998 en el volcán Ajusco.

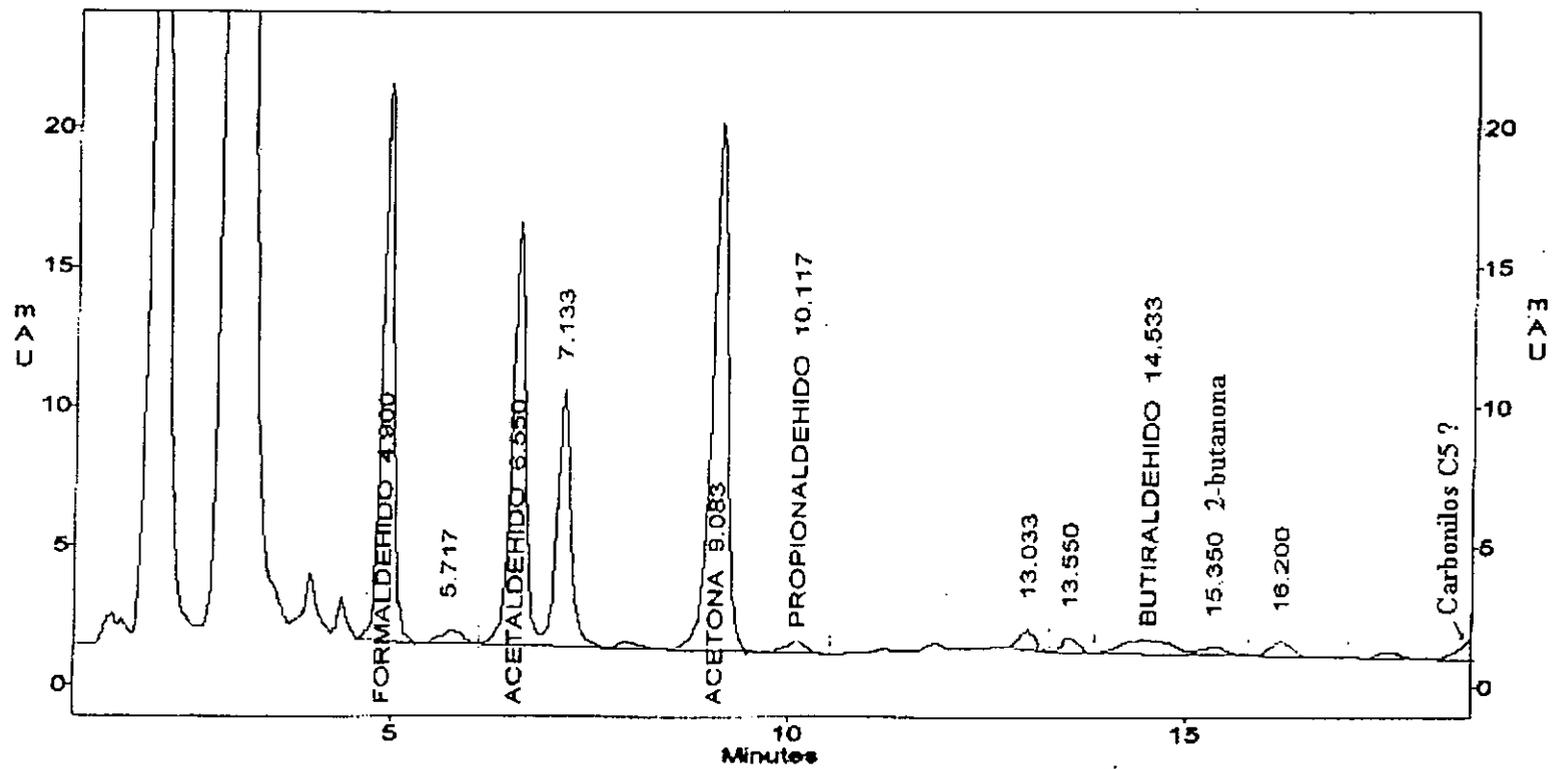


Fig D.10 Resultados de identificación de picos en la muestra AJS/D5-E1 tomada en 1998 en el volcán Ajusco.

Referencias.

- ¹ Atkinson, R. (1990); *Atmospheric Environment*, **24A**, 1-41
- ² Baez, A.P., Belmont, R y Padilla, H. (1995); *Environmental Pollution*, **89**, 163-167
- ³ Baez, A.P., Belmont, R., González, O.G. y Rosas, I.P. (1989); *Environmental Pollution*, **62**, 153-169
- ⁴ Manahan S.E. (1993); *Fundamental of Enviromental Chemistry*, Lewis Publishers.
- ⁵ Imaz G.M.A. (1995); *Medición de la emisión de isopreno y monoterpenos en cinco razas de maiz* (tesis de maestría), UNAM
- ⁶ Killus, P y Zhitten G. (1984); *Environ. Sci. Technol.*, **18**, 142-148
- ⁷ Graedel T.E. (1978); *Chemical Compounds in the Atmosphere*, Academic Press
- ⁸ Robinson, E. *et. al* (1973); *J. Geophys. Res.*, **78**, 5345-5351
- ⁹ Pellizzari, E.D., *et. al* (1976); *Anal. Chem.*, **48**, 803-807
- ¹⁰ Calvert J.G. y Pitts J.N., Jr. (1966); *Photochemistry*, John Wiley
- ¹¹ Vairavamurthy A., Roberts J. M. y Newman L. (1992); *Atmospheric Enviroment*, **26A**, 1965-1993
- ¹² Possanzini M., Ciccioi P., Di Palo V. and Drasci R. (1987); *Chromatographia*. **23**, 829-833.
- ¹³ Kuwata *et al.* (1979); *J. chromat. Sci.* **17**, 264-268
- ¹⁴ Kuntz *et al.* (1980); *Analyt. Lett.* **13**, 1409-1415
- ¹⁵ De Bortoli *et al* (1986); *Envir. Int.* **12**, 343-350
- ¹⁶ Van Langenhove H. R. *et al.* (1983); *Analyst*, **108**, 329-334
- ¹⁷ Grosjean y Fung (1982); *Analyt. Chem.* **54**, 1221-1224
- ¹⁸ Levin J. *et al.* (1985, 1986); *Analyt. Chem.* **57**, 1032-1035; *Ernvir. Sci. technol.* **20**, 1273-1276
- ¹⁹ Forrest J., *et al.* (1982); *Atmospheric Enviromental*, **16**, 1473-1485
- ²⁰ Slanina J., *et al.* (1992); *Gaseous Pollutants: Characterization and cycling*, John Wiley & Sons Inc.,
- ²¹ Pozzanzini M., *et al.* (1983); *Atmospheric Environment*, **17** (12), 2605-2610
- ²² Bicking M. K. L. y Cooke M. W. (1988); *J. Chromat.* **455**, 310-315
- ²³ Tuß H. *et al.* (1982); *Fres. Z. Anal. Chem.* **312**, 613-617
- ²⁴ Lowe D.C. *et al.* (1980); *Geophys. Res. Lett.* **7**, 825-828
- ²⁵ Cofer W.R. *et al.* (1986); *Atmospheric Environment* **20**, 979-984
- ²⁶ Becker K.H. *et al.*, (1990); *Nature.* **346**, 256-258.
- ²⁷ Guderian R. *et al.*, (1985); In *Air Pollution by Photochemical Oxidants* (edited by Guderian). p 129-334.
- ²⁸ Hewitt C.N. *et al.*, (1990); *Nature.* **344**, 56-58
- ²⁹ WHO (1987); Air quality guidelines for Europe. WHO European series **23**, Copenhagen Denmark.
- ³⁰ Ciccioi P., Draisci R., Cecinato A. y Liberty A. (1987); *Physico-chemical Behavior of Atmospheric Pollutans, Proc. Fourth Eur. Sysm.*, 133-141
- ³¹ Baez A.P.(1999); comunicado personal.
- ³² Dasgupta *et al.*,(1988); *Atmospheric Enviroment*, **22**, 949-963
- ³³ Lazrus *et al.*, (1988); *Analyt. Chem.*, **60**, 1074-1078.

-
- ³⁴ Altshuller *et al.* (1961); *Analytical Chemistry*, **35**, 621-625.
- ³⁵ Katz M. (1977); *Methods of Air Sampling and Analysis*, 2^a. Ed., pp. 300-307.
- ³⁶ Miksch R.R. *et al.*, (1981); *Analyt. Chem.* **60**, 622-626.
- ³⁷ Eckmann *et al.* (1982); *Envir. Int.*, **8**, 150-166.
- ³⁸ Dong y Dasgupta. (1982); *Envir. Sci. Technol.* **21**, 581-588.
- ³⁹ Kelly *et al.* (1989); *Proc. 1989 EPA/AWMA Int. aymp. Measurement of toxic and Related Pollutants*. pp. 43-50.
- ⁴⁰ Kelly y Barnes (1990); *Final report of EPA*. Raleigh, NC.
- ⁴¹ Arnst R.R. y Tejada S.B. (1989); *Envir. Sci. Technol.*, **23**, 1428-1430
- ⁴² Iwaga *et al.* (1989); *Envir. Sci. Technol.* **23**, 556-561
- ⁴³ Grosjean (1983); *Analyt. Chem.* **55**, 2436-2439; Olson y Swarin (1985) *J. Chromat.* **333**, 337-347.
- ⁴⁴ Druzik *et al.* (1990); *Int.J. Envir. Analyt.Chem.* **38**, 495-512
- ⁴⁵ Kieble y Mooper (1990); *Envir. Sci. Technol.* **18**, 1477-1481
- ⁴⁶ Smith *et al.* (1989); *J. Chromat.* **483**, 431-436
- ⁴⁷ Puputti E. y Lehtonen P.(1986); *J. Chromat.* **353**, 163-168
- ⁴⁸ Daniel Grojean (1982); *Environ. Sci. Technol.* **16**, 254-262.
- ⁴⁹ Daniel Grosjean (1988); *Atmospheric Enviroment.* **22**, 1673-1648.
- ⁵⁰ Beasley R.K. *et al.* (1980); *Analyt. Chem.* **52**, 1110-1114
- ⁵¹ Lowe D.C. *et al.* (1981); *Environ. Sci. Technol.* **15**, 819-823
- ⁵² Karst U.; Binding N.; Cammann K.; Witting U. (1993); *Fresenius Z. Anal Chem.* **345**, 48-52
- ⁵³ LipariF y Swarin S.J. (1985); *Envir. Sci. Technol.* **19**, 70-74
- ⁵⁴ Sirju A. y Shepson P.B. (1995); *Environ. Sci. Technol.* **29**, 384-392
- ⁵⁵ Kok G.L. *et al.* (1986); *J. Geophys. Res.* **91**, 2801-2804
- ⁵⁶ Lowe D. C. *et al.* (1981); *Envir. Sci. Technol.* **15** 819-823
- ⁵⁷ Ang C.C., Lipari F. y Swarin S.J. (1987); *Envir. Sci. Technol.* **21**, 102-105
- ⁵⁸ Patai S. (1975); *"The Chemistry of the Hidrazo, Azo and Azoxi Groups"*, Wiley, New York.
- ⁵⁹ Tuazon E. *et al.* (1981); *Envir. Sci. Technol.* **15**, 823-828
- ⁶⁰ Atkinson R. y Carter W.P. (1984); *Chem. Rev.*, **84**, 437-470
- ⁶¹ Hoigne J. *et al.*(1985); *Wat. Res.*, **19**, 993-1004
- ⁶² Zhou X. (1991); comunicado personal a Appathurai Vairavamurthy.
- ⁶³ IUPAC Analytical Chemistry Division, Commission of Analytical Nomenclature (1974). Recommendation of Nomenclature for Chromatography. *Pure Apply. Chem.*, **37**, 447
- ⁶⁴ Robards, K. *et.al.* (1997); *Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods*, Academic Press Inc.
- ⁶⁵ Ahuja, S. (1989); *Selectivity and Detectability Optimizations in HPLC*, John Wiley & Sons.
- ⁶⁶ Shiner, R.L., *et al.* (1965); *The systematic identification of organic compounds*, John Wiley, New York
- ⁶⁷ Smith, D.F., Kleindienst T.E., Hudgens E.E. (1989); *J. Chromat.*, **483**, 431-436