

00523  
3



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

INFLUENCIA DE LA CANTIDAD DE ADSORBENTE Y EL  
VOLUMEN DE MUESTRA EN LOS PARAMETROS DE LA  
EXTRACCION EN FASE SOLIDA DE CONTAMINANTES  
ORGANICOS EN AGUA.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**Q U I M I C A**  
**P R E S E N T A :**  
**MARISABEL ALVARADO CRUZ**



MEXICO D.F. EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA

2003



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

# **PAGINACION DISCONTINUA**

Jurado asignado:

Profesores

Presidente	Francisco Rojo Callejas
Vocal	Adolfo García Osuna
Secretario	Martha Patricia García Camacho
1er. Suplente	Josefina Elizaide Torres
2do. Suplente	Evangelina Camacho Frías

Sitio donde se desarrolló el tema:  
Laboratorio 201 de tecnologías limpias.  
Edificio B, Facultad de Química.  
Circuito interior Ciudad Universitaria

Asesor:

Dra Martha Patricia García Camacho

Martha Patricia García Camacho

Sustentante:

Ma. Isabel Alvarado Cruz

Alvarado Cruz Ma. Isabel.

*Hoy sé que no hay nada imposible  
anoche supe la verdad  
creía mi alma inservible  
pero era vulgar cansancio nada más*

*S. Rodríguez*

## ***AGRADECIMIENTOS:***

*A la Dra M. Patricia García C. por su orientación y asesoría en el trabajo.*

*Al proyecto "identificación de residuos industriales peligrosos" UNAM-GTZ (Universidad Nacional Autónoma de México y la Sociedad Alemana para la Cooperación Técnica (Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit) por la beca otorgada.*

*De igual forma agradezco a los miembros del jurado por sus comentarios y observaciones al presente trabajo.*

*A todos los miembros del Laboratorio 201 por su valiosa ayuda en el desarrollo de este trabajo.*

*A dios por permitirme la culminación de un sueño.*

*A mis padres Aurora y Antonio por su existencia misma y porque a lo largo de mi vida me han brindado todo su amor, apoyo y confianza. Gracias por todo los quiero.*

*A mis hermanos y a mis sobrinos por su apoyo y cariño*

*A Paola porque no importa el lugar, el lazo de nuestra amistad, el cariño que nos tenemos sigue y seguirá intacto. Gracias por ser una gran amiga.*

*También agradezco a mis amigos Alfredo, Mario, Azahel, Ilugo y Jesús los cuales hicieron de mi estancia en la facultad más agradable*

*A mis amigas de toda de la vida Xochitl Paty e Irasema quienes siempre me han impulsado para seguir adelante*

*Agradezco a Efraín, Luis, Luisa, Rosalba, Eli, Ivonne, Manuel González, Raúl y Cesar F. por brindarme en cada momento su amistad*

*Sinceramente a Karla, Cynthia, Nataly, Maribel, Esther, Astrid, Alis, Guillermo, Juan Carlos y Moy por ser más que mis amigos.*

*A todos los miembros de la IHCROM, y a mis compañeros que compartieron una de las etapas más importantes de mi vida (1999) a todos ellos con mucho cariño.*

*Finalmente agradezco a Mauricio por ser mi amigo y compañero, por compartir tantos momentos inolvidables, gracias por estar conmigo.*

## INDICE

<b>Resumen</b>	<b>I</b>
<b>Introducción</b>	<b>1</b>
<b>Objetivos</b>	<b>7</b>
<b>Capítulo 1. Marco teórico</b>	
1.1. Características de los plaguicidas en estudio	8
1.1.1. Plaguicidas triazínicos	8
1.1.2. Generalidades	8
1.1.3. Propiedades fisicoquímicas	8
1.1.4. Toxicidad	9
1.1.5. Plaguicidas carbámicos	10
1.1.6. Propiedades fisicoquímicas	10
1.1.7. Toxicidad	11
1.2. Contaminación en suelos y en aguas superficiales	11
1.3. Métodos de análisis	13
1.4. Métodos de enriquecimiento de trazas	13
1.5. Cromatografía de líquidos	15
1.5.1. Clasificación	16
1.5.2. Cromatografía de exclusión	16
1.5.3. Cromatografía de intercambio iónico	16
1.5.4. Cromatografía de pares iónicos	17
1.5.5. Cromatografía de adsorción	17
1.5.6. Cromatografía de reparto	18
1.6. Instrumentación	19
1.6.1. Reservorios para la fase móvil	19
1.6.2. Sistemas de bombeo	20
1.6.3. Introducción de la muestra	21
1.6.4. Columna	21
1.6.5. Detectores	22
1.6.6. Registrador de datos	23
1.7. Parámetros cromatográficos	24
1.7.1. Tiempo de retención	24
1.7.2. Coeficiente de reparto	24
1.7.3. Volumen de retención	25
1.7.4. Factor de capacidad	26
1.7.5. Eficiencia	27
1.7.6. Factor de selectividad (retención selectiva)	28
1.7.7. Resolución	29
1.8. Extracción en fase sólida	31
1.8.1. Extracción en diferido ( <i>off-line</i> )	31
1.8.2. Extracción en línea ( <i>on-line</i> )	32
1.8.3. Parámetros de la extracción en fase sólida (EFS)	34
1.8.4. Volumen de fuga	34
1.8.5. Rendimiento de extracción	35
1.8.6. Similitudes entre extracción en fase sólida y cromatografía líquida	36
1.8.7. Relación entre volumen de fuga y volumen de retención	37
1.8.8. Relación entre $P$ y $k'_w$	39



<b>Capítulo 2. Desarrollo experimental</b>	
2.1. Reactivos y disolventes	40
2.1.2. Plaguicidas	40
2.1.3. Instrumentación	40
2.1.4. Columna analítica	40
2.1.5. Otros accesorios utilizados	41
2.2. Preparación de las disoluciones estándares de plaguicidas	41
2.3. Metodología	42
2.3.1. Extrapolación de $k'_w$ en sílice C18 a partir de las curvas de la variación de $k'$ en función del porcentaje de metanol en fase móvil para el cálculo de $V_r$ y $V_f$	42
2.3.1.1. Extrapolación de $k'_w$	42
2.3.1.2. Cálculo de $V_r$ y $V_f$	43
2.3.2. Optimización de la separación simultánea de los pesticidas	43
2.3.2.1. Estudio de la precisión del sistema cromatográfico	44
2.3.2.2. Respuesta del detector en función de la concentración (curva de calibración)	44
2.3.2.3. Obtención de límites de detección	44
2.3.3. Estudio de la preconcentración de la mezcla de plaguicidas	45
2.3.3.1. Recobro en función del volumen de muestra	45
2.3.3.2. Recobro en función de la cantidad de adsorbente	46
2.3.4. Aplicación del método a muestras de aguas reales	46
<b>Capítulo 3. Resultados</b>	
3.1. Extrapolación de $k'_w$ en sílice C18 a partir de las curvas de la variación de $k'$ en función del porcentaje de metanol en fase móvil para el cálculo de $V_r$ y $V_f$	47
3.1.1. Extrapolación de $k'_w$	47
3.1.2. Cálculo de $V_r$ y $V_f$	49
3.2. Optimización de la separación simultánea de los pesticidas	50
3.2.1. Respuesta del detector en función de la concentración (curva de calibración)	52
3.2.2. Límites de detección y precisión del sistema cromatográfico	54
3.3. Estudio de la preconcentración de la mezcla de plaguicidas	55
3.3.1. Recobro en función del volumen de muestra	55
3.3.2. Recobro en función de la cantidad de adsorbente	65
3.4. Aplicación del método a muestras de aguas reales	68
<b>Capítulo 4. Conclusiones</b>	72
<b>Bibliografía</b>	73
<b>Apéndice A. Propiedades de los plaguicidas</b>	
<b>Apéndice B. Espectros de absorción en la región de u.v. para los plaguicidas en estudio</b>	

## RESUMEN

La extracción en fase sólida (EFS) es una técnica que ha resultado ser muy exitosa para el manejo de muestras acuosas, gracias a que reduce la manipulación de la muestra, trabajo y consumo de disolventes. En la EFS, los analitos de interés son atrapados en un adsorbente apropiado para posteriormente ser eluidos con un pequeño volumen de disolvente orgánico. De esta manera, la extracción y la concentración se realizan al mismo tiempo. En la actualidad, el modelo de la sílice C18 ha servido para comenzar a establecer una teoría de predicciones en EFS basada en la analogía existente con la cromatografía de líquidos.

Por lo tanto, en el presente trabajo se pretende contribuir a esa teoría al estudiar la variación del volumen de fuga  $V_f$  y el rendimiento de extracción  $R$  en función de la cantidad de sílice C18 y el volumen de muestra acuosa, para plaguicidas con diferentes polaridades de la familia de las triazinas y un carbamato. Así, se trazaron las curvas de  $\%R = f(\text{volumen de muestra})$  utilizando cartuchos con 100, 500 y 1000 mg de adsorbente y las curvas de  $\%R = f(\text{cantidad de adsorbente})$  utilizando un volumen fijo de 10 mL para cartuchos con 100, 300, 500, 750 y 1000mg de adsorbente. Para cada cantidad, se encontró que los compuestos con un  $\log K'_w > 3$  fueron bien retenidos. También que al aumentar la cantidad de adsorbente aumenta de manera proporcional el  $V_f$  de los compuestos. Los resultados obtenidos corroboraron que la sílice C18 no es muy útil para preconcentrar los plaguicidas muy polares, para los cuales es más recomendable utilizar otro tipo de fases como por ejemplo los polímeros PRP-1 o PLRP-S.

Con el valor del factor de capacidad en agua pura  $k'_w$  de cada plaguicida extrapolado linealmente al 0% de metanol en las curvas del  $\log$  de  $k'$  en función del porcentaje de metanol de la fase móvil, se calculó el volumen de retención teórico con la siguiente ecuación:  $V_r = V_0 (1+k'_w)$ , donde  $V_0$  es el volumen muerto de la precolumna o cartucho (0.12 mL por cada 100mg de adsorbente). El  $V_r$  se relaciona con el  $V_f$  de la siguiente forma:  $V_f = V_r + 2\sigma$ , donde  $\sigma$  representa la dispersión axial del analito en el lecho de partículas del adsorbente. En las curvas de los rendimientos se midió el  $V_f$  experimental, considerándolo como el volumen en que el rendimiento disminuyó entre el 1 y 5%. Éste se correlacionó con los  $V_r$  y los  $V_f$  teóricos, encontrándose que se aproximaron bastante; también se corroboró que al aumentar la cantidad de adsorbente el valor de  $V_f$  aumenta de manera lineal.

Para realizar una aplicación de una metodología de preconcentración de trazas en muestras reales por extracción en fase sólida y observar si los rendimientos eran parecidos a los de las muestras de agua grado cromatográfico, se optimizó un gradiente para una separación simultánea de los plaguicidas en una columna analítica de 150x4.5 mm. La longitud de onda máxima seleccionarla para la detección de los plaguicidas fue en la que cada compuesto presentó una mayor absorción. Se fortificaron 2 tipos de agua potable (de la red de distribución de C.U. y del pozo Villa Victoria en valle de Bravo) preconcentrando 200 mL de muestra a una concentración de 10 ppb en un cartucho de 1000mg. Los rendimientos obtenidos con las preconcentraciones de las muestras reales fueron  $>70\%$ , parecidos a los del agua grado cromatográfico. La similitud se debe a que las aguas potables y subterráneas poseen una cantidad baja de materia orgánica disuelta.



## INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas sirven para combatir las enfermedades y los parásitos de toda clase que dañan directa o indirectamente los sembradíos, los cultivos en desarrollo o los granos almacenados. Sin embargo, su empleo constante y a gran escala en la agricultura ha incrementado significativamente su presencia en el ambiente, particularmente en suelos, lagos y ríos, hecho que a lo largo del tiempo ha afectado al ecosistema, ocasionando daños a corto y largo plazo en la salud de la población expuesta directa o indirectamente (efectos tóxicos, mutagénicos y cancerígenos, etc.). La precipitación atmosférica es una importante ruta de transporte de pesticidas, resultando de esta la contaminación de reservas de agua (Biziuk *et al*, 1996). En el caso de las aguas subterráneas, la presencia de plaguicidas es particularmente un gran riesgo debido a que en su gran mayoría son dedicadas al consumo humano. La persistencia de algunos pesticidas en el suelo y los fenómenos de infiltración, provocan que se encuentren presentes inclusive en las aguas subterráneas antes consideradas como químicamente puras. Además, muchos de ellos presentan una gran capacidad de acumulación en los organismos vivos, provocando que su concentración aumente progresivamente a lo largo de las cadenas tróficas, fenómeno conocido como bioamplificación. La cantidad de plaguicidas en las aguas naturales depende de la intensidad de la producción alimenticia dada en la región puesto que es la que determina la cantidad de pesticida aplicado, de acuerdo al tipo de cultivo, estación, precipitación y velocidad de flujo de agua. El uso indiscriminado de agroquímicos ha provocado la ocurrencia en los alimentos tales como el maíz, trigo, nuez, frutos, que con el tiempo han causado daños genéticos en España (Tadeo *et al*, 2000). La existencia de todos estos problemas exige la creación de normas muy

estrictas de control en los medios acuosos naturales y en el agua para consumo humano.

Además la dificultad para su seguimiento aumenta cuando estos compuestos se transforman en otros productos (metabolitos o productos de degradación), por lo general más polares y, a veces, más tóxicos que los compuestos progenitores. En recientes años, la gente ha tomado más conciencia del riesgo y peligro que resulta del uso de pesticidas.

Las triazinas, derivados simétricos (opciones 1, 3, 5 de los átomos de N) han alcanzado una gran expansión mundial por sus propiedades herbicidas, que son compartidas también, en bastantes aspectos, por los derivados carbámicos y de urea. La degradación de estos herbicidas conduce a la formación de hidroxiderivados, según se desprende de los estudios efectuados. Los derivados de triazinas están también sujetos a la fotólisis por la acción de la luz solar; el producto de esta degradación son derivados hidroxilados, pero al parecer tal efecto no tiene excesiva importancia ni en la pérdida de acción residual ni tampoco en la degradación que sufren en el suelo. Por otro lado las clorotriazinas se descloran, sufriendo hidroxilación y posteriormente carboxilación (Barbera, 1989). Los derivados s-triazinas son los herbicidas selectivos más importantes y son de los contaminantes químicos más comunes monitoreados en agua por las autoridades (Pinto *et al*, 2000).

La atrazina ha sido clasificada como posible carcinógena para humanos y por esta razón ha sido erradicada en los principales países Europeos. Este compuesto junto con otras triazinas como la simazina se han encontrado en diversos tipos de agua natural y potable (Pinto *et al*, 2000). En Alemania, en 1991 se prohibió el uso de la terbutilazina (Pacáková *et al*, 1996). En el río Sena, Francia se detectó la presencia de atrazina y simazina (Legrand *et al*, 1991), en el río Ebro y Almería, España se ha encontrado la atrazina y simazina en concentraciones de 0.3 µg/L (Chiron *et al*, 1993).

La Unión Europea ha establecido un máximo de 0.1 µg/L por cada pesticida individualmente en agua potable y 0.5 µg/L por la suma de los plaguicidas presentes.

En 1990 y 1991 en el río de Minnessota se encontró atrazina y cianazina en concentraciones de 1000-6000ng/L (Schottler *et al*, 1994). La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA por sus siglas en inglés) considerando la toxicidad de los pesticidas ha establecido diferentes límites para cada uno y estos no sobrepasan las décimas del µg/L. Estos límites tan estrictos han requerido de la disponibilidad de métodos analíticos adecuados con alta sensibilidad, selectividad, exactitud y precisión. Generalmente la Cromatografía de Gases (CG por sus siglas) con detección Nitrógeno-Fosfóro y la Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia (CLAE por sus siglas) con detección espectrofotométrica son los métodos más seguros para la determinación de estos herbicidas. La espectrometría de masas (EM por sus siglas) es también una herramienta poderosa para la confirmación de trazas de pesticidas en agua (Matsui *et al*, 2000).

Los métodos de extracción y preconcentración de los pesticidas presentes en agua se han hecho necesarios, especialmente cuando se quieren cuantificar concentraciones trazas. La preconcentración de compuestos en muestras acuosas se ha efectuado tradicionalmente por Extracción Líquido-Líquido (ELL por sus siglas), cuyo principio se basa en la distribución de los solutos entre la muestra y un solvente no miscible con el agua, aunque en la actualidad, la Extracción en Fase-Sólida (EFS por sus siglas) ha reemplazado a la Extracción Líquido-Líquido y ha sido más usada para extracción de contaminantes en muestras acuosas (Buchheit *et al*, 1996) debido a que elimina los inconvenientes comunes de la ELL (lentitud, uso de grandes volúmenes de disolventes tóxicos, riesgos de contaminación, formación de emulsiones). Además posee las siguientes ventajas:

- ◆ muestreo en campo,
- ◆ rapidez y simplicidad
- ◆ seguridad con respecto a muestras peligrosas,
- ◆ bajo costo
- ◆ flexibilidad
- ◆ utilización de menos volumen de muestra y disolventes tóxicos.

Esta innovación en el procedimiento de extracción basado en el reparto, la adsorción, la afinidad o el intercambio iónico, ha tenido una gran aceptación en la resolución de problemas analíticos ambientales ya que es adecuada para contaminantes de polaridad alta, intermedia y baja. Sus principios se basan en la distribución de los solutos entre una fase sólida y la muestra acuosa. La EFS es usada con 2 tipos de metodología: la primera es en tiempo diferido (off-line en inglés), donde un líquido es aplicado sobre un adsorbente empacado en una columna, cartucho de polipropileno o en un disco, como resultado de esta fuerte atracción los analitos son retenidos en el adsorbente. El adsorbente es posteriormente lavado con un pequeño volumen de disolvente para romper la unión entre analito y adsorbente y realizar su recuperación. La selección de un adsorbente para extracción en fase-sólida depende de la polaridad del pesticida que se este evaluando (McLaughlin *et al.*, 1997). La segunda metodología se realiza en línea con el análisis cromatografico (on-line en inglés), en ella los solutos son retenidos en un soporte sólido empacado en una precolumna y después eluidos directamente hacia la columna analítica para su separación y análisis (Hennion *et al.*, 1994). Existen diferentes tipos de adsorbentes que se emplean en la EFS para extraer a las triazinas y sus productos de degradación en agua. Los más usados son la C8 y C18 en donde los mecanismos de retención de los analitos se basan en las interacciones hidrofóbicas, pero el uso de estos tiene

limitaciones para los compuestos polares. Así, otro tipo de adsorbentes como son el copolímero de estireno-divinilbenzeno y el carbono grafitizado, pueden ser utilizados para la extracción de compuestos polares (Nélieu *et al*, 2000, McLaughlin *et al*, 1997), los intercambiadores de iones pueden ser usados para extraer compuestos iónicos o ionizables (Sabik *et al*, 2000).

Los parámetros más importantes de la EFS son el volumen de fuga  $V_f$  y el rendimiento  $R$  de extracción. El conocimiento de los mismos permite manejar los volúmenes de muestra apropiados para cuantificar a los microcontaminantes a niveles de partes por billón, trillón o inclusive menores, en algunos análisis. Para el caso de los compuestos polares, es necesario conocer y controlar estos parámetros puesto que son los más difíciles de preconcentrar. Así, la predicción de los mismos permite el ahorro de tiempo en la experimentación. El  $V_f$  y el  $R$  se interrelacionan muy estrechamente. Así a volúmenes de muestra menores al  $V_f$  se obtendrán rendimientos de extracción del 100 %.

En análisis ambiental la fuga de los analitos es provocada por la retención insuficiente en el adsorbente, fenómeno relacionado con el factor de capacidad en el agua  $K'_{ow}$ . La saturación o sobrecarga del adsorbente es poco probable debido a las bajas concentraciones en las que se encuentran los contaminantes. El  $V_f$  puede ser determinado en precolumna y cartuchos directamente por un procedimiento lento y tedioso (Hennion *et al*, 1993), aunque existe un método más rápido, que requiere de un montaje en línea (Hennion *et al*, 1998). Otra forma de determinarlo es a partir de las curvas del rendimiento de extracción en función del volumen de muestra, midiendo el  $V_f$  en el punto en que  $R$  disminuye en un 1%.

Los valores de  $V_f$  y el  $R$  pueden ser aproximados conociendo el volumen de retención  $V_r$  calculado a partir de constantes cromatográficas como el factor de

capacidad en agua pura  $k'_w$ , parámetro a su vez determinado por extrapolación en las curvas de  $k' = f$  (% MeOH) de la fase móvil, por la relación  $V_r = V_0(1+k'_w)$ .  $V_0$  es el volumen muerto de la precolumna o cartucho, y puede conocerse a partir del producto del volumen geométrico de la precolumna por la porosidad del adsorbente (0.65-0.7 para sílice). En cartuchos ha sido estimado a 0.12mL por 100mg de adsorbente (Poole *et al.*, 2000, Hennion *et al.*, 1993).

Estas predicciones tan simples no son comúnmente efectuadas antes de ponerse a realizar ensayos experimentales para el desarrollo de un método de preconcentración de trazas de contaminantes en agua. Desafortunadamente, lo común es intentar, reproducir y adaptar a la muestra específica uno o varios métodos que ya se encuentren reportados en la literatura. Aunque este procedimiento algunas de las veces no resulta simple porque no se pueden hacer comparaciones debido a que existen diferencias entre la cantidad de adsorbente y los volúmenes de muestra que reportan en cada trabajo. Con los analitos difíciles de preconcentrar se pierde mucho tiempo y dinero en experimentos de ensayo y error. Por esta razón, en el presente trabajo se tiene como objetivo general el de contribuir a la teoría de las predicciones de la EFS al indicar las relaciones existentes entre la cantidad de adsorbente utilizada con parámetros como el  $V_r$  y R. La variación de los recobros de los compuestos con el volumen de muestra también ha sido estudiada.

Finalmente se realizaron correlaciones entre los valores experimentales de  $V_r$  y los valores teóricos del volumen de fuga y el volumen de retención calculado a partir de  $k'_w$ . Cabe remarcar que se trabajó con el modelo de la sílice C18 por ser el mejor estudiado hasta el momento. El presente trabajo tiene entonces los siguientes objetivos particulares:



### **OBJETIVOS PARTICULARES:**

- ♣ Evaluar la variación del  $V_r$  y  $R$  experimentales en función de la cantidad de adsorbente (sílice C18) y el volumen de muestra acuosa para 9 plaguicidas y 3 metabolitos pertenecientes a la familia de las triazinas y un carbamato.
- ♣ Correlacionar datos experimentales y teóricos de los parámetros estudiados.

## **CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO**

### **1.1. Características de los plaguicidas de estudio**

#### **1.1.1. Plaguicidas triazínicos**

##### **1.1.1.1. Generalidades**

Los herbicidas triazínicos forman un amplio grupo de sustancias usadas como herbicidas pre y post-emergentes para el control de la hierba mala. Hoy más del 30% de los herbicidas utilizados a nivel mundial son triazinas (Pinto *et al*, 2000). Las más importantes triazinas son las simétricas (s-triazinas) que tienen un heterociclo de 6 miembros con átomos de nitrógeno localizados simétricamente y sustituciones en las posiciones 2, 4 y 6. Su acción principal es a través de las raíces, como herbicidas residuales, pero varios tienen también acción por contacto y se absorben a través de las hojas (Barbera, 1989). Estos compuestos y sus productos de degradación, son muy tóxicos desde concentraciones muy bajas, altamente resistentes y sobreviven muchos años en algunos suelos, agua, plantas y animales (Pinto *et al*, 2000). Así la determinación de triazinas es muy importante para el control ambiental. En el apéndice A, se muestra la estructura y las propiedades fisicoquímicas de cada uno de los plaguicidas en estudio.

##### **1.1.1.2. Propiedades fisicoquímicas**

Los herbicidas triazínicos son sólidos, con una baja presión de vapor a temperatura ambiente, solubilidades en agua en el intervalo de 5-750 ppm y solubles en algunos

disolventes orgánicos. La solubilidad en agua de cada triazina depende del sustituyente en la posición 2. Y también se ha notado que el nombre común de estos herbicidas es indicativo del sustituyente en la posición 2, ejm:

(Pacáková *et al.*, 1996)

-azina	atomo de cloro
-etrina	grupo tiometil
-ton	grupo metoxi

Las propiedades de los derivados con cloro presentan diferencias significativas, comparadas con la de los otros 2 grupos, mientras las propiedades de los derivados tiometil y metoxi son casi similares. Sus coeficientes de reparto agua-octanol  $\log P_{oa}$  varían entre 1.2-3.74. Algunos de ellos son herbicidas de carácter básico. La basicidad aumenta con el orden del sustituyente en la posición 2  $Cl < SCH_3 < OCH_3$ .

### 1.1.1.3. Toxicidad

Se ha demostrado por estudios de laboratorio que la atrazina provoca alteraciones en las funciones del corazón, hígado y riñón. Interfiere con el sistema endocrino provocando problemas en la reproducción. Asociado a problemas de fertilidad masculina; en ratas interfiere con el metabolismo de la testosterona (hormona sexual) y apareamiento en ratas. Un estudio reciente relaciona a algunas triazinas con defectos de nacimiento en humanos. Provocan cáncer de mama en ratas hembras y tumores a los testículos en ratas machos. También han demostrado ser genotóxicas en numerosos estudios de laboratorio. Otros estudios revelan un incremento en la incidencia en cáncer de útero en animales y desarrollo de leucemias, linfomas y mesoteliomas. En humanos se le asocia con incremento de tumores de ovarios,

cáncer de mamas y el linfoma non -Hodking. Investigaciones realizadas en Nebraska y Iowa indican que las comunidades que usan agua contaminada con atrazina tienen mayor incidencia de bebés con piernas reducidas y otras malformaciones congénitas. Considerando los riesgos que implica la exposición a largo plazo a residuos de triazinas y sus metabolitos en aguas y alimentos, la EPA de Estados Unidos en 1994 empezó un proceso de Revisión Especial.

*(<http://www.epa.gov/oppfead1/safety/spanish/healthcare/handbook/Spch.pdf>)*

#### **1.1.1.4. Plaguicidas carbámicos**

Los derivados carbámicos se usan como herbicidas (bajo la forma carbamato o tiocarbamato), como fungicidas (especialmente los ditiocarbamatos) y como insecticidas. Cuando se tiene en cuenta la actividad de los carbamatos, sorprende el que compuestos de carácter análogo se comporten unas veces como herbicidas carentes de acción insecticida, y otras veces como insecticidas ausentes de fitotoxicidad alguna.

#### **1.1.1.5. Propiedades fisicoquímicas**

Los herbicidas carbámicos son sólidos, poco solubles en agua y solubles en algunos disolventes orgánicos tales como metanol y acetonitrilo. Todos los productos carbámicos derivan del ácido carbámico de fórmula  $\text{HO-CO-NH}_2$ , que no se conoce libre, aunque sí sus ésteres y derivados en el nitrógeno. En su mayoría los insecticidas corresponden a la fórmula general:

Alq-NH-CO-OAr (N, alquilcarbarnatos)

Mientras los herbicidas, también en su mayoría, comprenden los del tipo

Ar-NH-CO-O-Alq (N, arilcarbarnatos)

donde Ar =radical arilo (fenil, naftil, heterociclos, etc.).

En el apéndice A, se muestra detalladamente las propiedades fisicoquímicas del desmedifam.

#### **1.1.1.6. Toxicidad**

Los daños a la salud ocasionados por los plaguicidas carbámicos están relacionados con su capacidad para inhibir la actividad de un grupo de enzimas llamadas colinesterasas. Esta inhibición se produce en el tejido nervioso, propiciando una acumulación de acetilcolina endógena, con los consecuentes signos y síntomas, que mimetizan los efectos muscarínicos y nicotínicos de la acetilcolina, así como los que esta enzima produce en el sistema nervioso central.

*(<http://www.epa.gov/oppead1/safety/spanish/healthcare/handbook/Spch.pdf>)*

#### **1.2. Contaminación en suelos y en aguas superficiales**

Menos del 0.1% de pesticidas aplicados realmente alcanzan el verdadero objetivo; afectar solamente a la hierba mala, mientras el restante (99.9%) tiene el potencial para moverse en otros espacios del medio ambiente, como suelos y aguas superficiales. Los químicos obtienen su acceso al agua ambiental por ambas fuentes, tales como efluentes industriales o derrames accidentales, y fuentes difusas como agricultura o fugas urbanas. Estudios sobre una agricultura extensa en momentos críticos han mostrado que el flujo de atrazina en ríos varía entre el 0.25 y 1.5% de la cantidad

presente en la tierra, estos herbicidas fueron encontrados alrededor del 50% en Iowa en 1996, con sus productos de degradación (Sabik *et al*, 2000). Las triazinas, grupo de contaminantes, están presentes en las listas de los 10 herbicidas más utilizados en toda Europa. Como resultado de su amplio uso, se diseminan por el medio ambiente, desde los campos de cultivo hasta las aguas de río. Hace tiempo fueron detectados en estuarios y en aguas costeras cercanas a las desembocaduras de los ríos Ebro, Po, Rhone y Axios.

(<http://www.epa.gov/oppead1/safety/spanish/healthcare/handbook/Spch.pdf>).

En el río Sena, Francia se ha detectado la atrazina a concentraciones de 0.1  $\mu\text{g/L}$  (Legrand *et al* 1997). La desetilatrazina DEA (por sus siglas en inglés), producto de degradación de la atrazina que presenta la misma toxicidad ha sido detectada a concentraciones de 0.01 a 1  $\mu\text{g/L}$  en aguas subterráneas (Sabik *et al*, 2000).

La contaminación de los suelos y aguas superficiales por el uso de pesticidas depende de varias variables: tipo, cantidad de pesticida usado y las posibles vías de exposición. Los factores que afectan el transporte del químico desde los campos hasta los cuerpos de las aguas superficiales incluyen: propiedades inherentes del compuesto, solubilidad en el agua, presión de vapor, contenido de carbono orgánico por agua y coeficiente de reparto octanol-agua ( $K_{ow}$ ) del suelo; condiciones ambientales como son clima, textura del suelo y contenido del agua en el suelo; características del paisaje, topografía, la presencia de drenaje y fugas superficiales de las redes internas; y prácticas sobre su manejo (selección de cosecha y el método de aplicación). Los compuestos que tienen alta solubilidad y baja adsorción en el suelo se moverán más fácilmente a aguas terrestres (Sabik *et al*, 2000). Para controlar contaminantes como estos en el medio ambiente se requieren métodos rápidos, económicos y de fácil uso.

### 1.3. Métodos de análisis

Existen diferentes métodos de la Agencia Protectora del Medio Ambiente de los EU (USEPA por sus siglas en inglés) que fueron desarrollados para el análisis de carbamatos, triazinas y otros contaminantes. Para monitorear triazinas y carbamatos en agua se utiliza la cromatografía de gases (CG) y la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (CLAE). Los hidroxil derivados pueden ser analizados directamente por CG. La CLAE es preferida sobre la CG para pesticidas ácidos, con bajas polaridades, baja volatilidad y térmicamente inestables, porque la cromatografía de gases puede solo ser usada con un paso previo de derivatización. En suma, como las triazinas absorben fuertemente en la región de UV de 210-240 nm, son excelentes compuestos para detectarse en UV en la cromatografía de líquidos. La detección por arreglo de diodos (DAD por sus siglas en inglés) puede ser usada para mejorar la identificación. Así la CLAE en fase reversa, con UV, es ampliamente usada para el análisis de triazinas y carbamatos. La combinación de la Cromatografía de Líquidos con Espectrometría de Masas (CLAE/EM) es la técnica más poderosa para la confirmación de trazas en agua, incluyendo los herbicidas triazínicos. En E.U. las triazinas se determinan por el método 507 de la EPA: extracción con diclorometano seguida por cromatografía de gases (CG) con detección Fósforo- Nitrógeno. Para carbamatos se pueden usar 2 diferentes tipos de detección U.V. y fluorescencia con una reacción de derivación postcolumna (Matsui *et al*, 2000, Chiron *et al*, 1993).

### 1.4. Métodos de enriquecimiento de trazas

La determinación de pesticidas, como con muchos otros contaminantes ambientales en agua, requiere un paso de pretratamiento de la muestra en la cuál se realiza un

enriquecimiento del analito, así como remover compuestos de la matriz (completamente o parcialmente). Una perspectiva sobre la preparación de las técnicas de separación de la muestra están reportadas en varias referencias (Vandecasteele K. *et al*, 2000). Debido a los rigurosos límites que controlan la presencia de contaminantes en agua potable; ha sido necesario desarrollar métodos para extracción y preconcentración de los pesticidas muy sensibles y selectivos. Para esos propósitos, la técnica más empleada es la extracción en fase sólida (EFS) que ha reemplazado a métodos como la extracción líquido-líquido (ELL), y han sido extensamente usados para la preparación de muestras de agua previas al análisis, gracias a que reduce la manipulación de la muestra, trabajo y consumo de disolventes. En la actualidad se comercializan una gran variedad de aditamentos para EFS (cartuchos, precolumnas, discos, hasta sistemas completamente automatizados de extracción múltiple). La fase estacionaria más popular en la EFS para pesticidas en agua es la sílice C18. La EFS es usada en 2 procedimientos: en diferido (*off-line* en inglés) como una etapa independiente del análisis cromatográfico y en línea (*on-line* en inglés) cuando la preconcentración y el análisis se encuentran acoplados directamente al análisis cromatográfico (Dean *et al*, 1996). Nélieu *et al* (2000) han realizado trabajos con la atrazina empleando la técnica de EFS en cartuchos empacados con sílice C18 con CLAE-UV, así como también, Buchheit *et al* (1996) trabajó con triazinas y otros pesticidas utilizando la EFS en cartuchos con fase RP-18 con CLAE- Arreglo de diodos. Para extracciones en línea (*on-line*) McLaughlin *et al* (1997) realizó la extracción con una columna empacada con sílice C-18 con CG-EM por mencionar sólo algunos ejemplos.

Dado que la EFS se rige por los principios de la C.L., a continuación se describirán estos, para posteriormente relacionarlos con la EFS.



## 1.5. Cromatografía de líquidos

La cromatografía de líquidos es esencialmente un método fisicoquímico de separación en el cuál los componentes a separar se distribuyen entre 2 fases, una fase móvil que es un líquido y una fase estacionaria que es un sólido. En esta técnica la separación se basa en las diferencias de las velocidades con que los compuestos individuales de una mezcla migran a través de un medio estacionario por influencia de una fase móvil (Skoog *et al*, 1989).

Durante el proceso, la fase móvil arrastra las moléculas de la muestra a través del lecho de la fase estacionaria. En el trayecto, las distintas moléculas de la muestra son retardadas por la fase estacionaria en función de la interacción entre los componentes de la muestra y las fases estacionaria y móvil. Estas interacciones son selectivas, lo cual significa que para un determinado sistema fase estacionaria- fase móvil serán diferentes para cada componente de la muestra (Conlon, 1981).

La cromatografía de líquidos de alta eficiencia (CLAE) se define como la técnica de cromatografía de líquidos que emplea en su operación alta presión en la fase móvil. La CLAE es la técnica analítica de separación más ampliamente utilizada en la industria farmacéutica. Las razones de la popularidad de esta técnica son su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para la separación de especies no volátiles o termo-lábiles y, sobre todo, su gran aplicabilidad a sustancias que son de primordial interés en la industria, en muchos campos de la ciencia y para la sociedad en general (Dean *et al*, 1996).

### **1.5.1. Clasificación**

La cromatografía líquida en columna se clasifica en: cromatografía de exclusión, de intercambio iónico, de pares iónicos, de adsorción y de reparto, las cuales se describen a continuación.

### **1.5.2. Cromatografía de exclusión**

Es una técnica muy valiosa que se aplica particularmente a especies de elevado peso molecular. Los rellenos para la cromatografía de exclusión están constituidos, por pequeñas partículas ( $\approx 10 \mu\text{m}$ ) poliméricas o de sílice, teniendo diferentes tamaños y estructuras de poros, en ellos las moléculas del soluto quedan retenidas o excluidas con base en sus volúmenes hidrodinámicos; esto es, sus tamaños y formas. La fase estacionaria provoca la separación de acuerdo a los pesos moleculares, ya que las moléculas que son más grandes que el tamaño medio de poros del relleno son excluidas, no se retienen y, por tanto, son las primeras que eluyen (Willard *et al*, 1986, y Skoog *et al*, 1996).

### **1.5.3. Cromatografía de intercambio iónico**

Los compuestos iónicos se suelen analizar por medio de la cromatografía de intercambio iónico, en la que se utilizan resinas intercambiadoras de iones como fase estacionaria. Estas resinas están formadas por materiales que poseen exceso de

cargas eléctricas [+ ó -] permanentemente unidas a la superficie de la partícula de resina mediante enlace químico, compensadas mediante un número igual de iones libres de carga opuesta (contraiones). Al eluir a través de la resina una disolución que contenga nuevos iones del mismo signo que los contraiones, los nuevos contraiones del eluyente podrán desplazar a los antiguos, ocupando su lugar y compensando ahora ellos las cargas de signo contrario de la superficie de la resina. La conservación de la neutralidad exige que el número de contraiones desplazados y el de iones desplazantes de la muestra sean estequiométricamente equivalentes (Conlon, 1981).

#### **1.5.4. Cromatografía de pares iónicos**

La cromatografía de pares iónicos es un tipo de cromatografía en fase inversa que se utiliza para la separación y determinación de especies iónicas. La fase móvil está constituida por una disolución tampón acuosa que contiene un disolvente orgánico como metanol o acetonitrilo, y un compuesto iónico que aporta un contraión de carga opuesta a la del analito. Un contraión es un ion que se combina con el ion del analito para formar una pareja de iones, que es una especie neutra retenida por el relleno de fase inversa (Skoog *et al.*, 1994).

#### **1.5.5. Cromatografía de adsorción**

Es el tipo de cromatografía más utilizado para la separación de compuestos con diferente polaridad. En la cromatografía de adsorción, la fase móvil que contiene al soluto disuelto pasa sobre la superficie de la fase estacionaria. La retención de los compuestos y su consiguiente separación, depende de la capacidad de los átomos

que hay en la superficie para extraer los solutos de la fase móvil y adsorberlos temporalmente por medio de fuerzas electrostáticas (Skoog *et al*, 1989)

### 1.5.6. Cromatografía de reparto

La cromatografía de reparto se puede subdividir en cromatografía líquido-líquido y cromatografía de fase unida químicamente. En la líquido-líquido se implica el reparto de los componentes de la mezcla entre una fase estacionaria líquida y una fase móvil también líquida y la separación tiene lugar a causa de las diferencias de solubilidad de los componentes de la mezcla en las dos fases líquidas, mientras que en la de fase unida químicamente es por enlaces covalentes. En la actualidad predominan los métodos de fase unida químicamente, siendo relegadas las separaciones líquido-líquido. La cromatografía de fase unida químicamente es usada en fase normal cuando las muestras son de fuerte polaridad y en fase inversa cuando se quieren separar solutos menos polares.

Las tres cuartas partes de toda la cromatografía líquida de alta eficiencia se llevan a cabo actualmente en fase inversa. En la cromatografía de reparto en fase inversa, la fase estacionaria es no polar, con frecuencia se trata de una sílice modificada con cadenas hidrocarbonadas, y la fase móvil es de tendencia polar y se utiliza comúnmente el agua, el metanol o el acetonitrilo. Por lo general, el grupo R del siloxano en estos recubrimientos es una cadena C8 (n-octilo) o una cadena C18 (n-octadecilo). En los métodos en fase inversa, los componentes más polares aparecen primero, y un aumento de la polaridad de la fase móvil aumenta el tiempo de elución (Skoog *et al*, 1989).

## **1.6. Instrumentación**

Los componentes básicos de un equipo de cromatografía de líquidos son:

- reservorios para la fase móvil
- sistema de bombeo
- mecanismo para la introducción de la muestra
- una columna
- un detector
- un registrador de datos.

### **1.6.1. Reservorios para la fase móvil**

El reservorio es el recipiente que contiene la fase móvil. Puede ubicarse "dentro de la caja negra" de un equipo integrado o externamente en un equipo. Puede emplearse como reservorio cualquier frasco de laboratorio de buena calidad (de vidrio o polímero resistente), la capacidad del frasco depende lógicamente, del consumo esperado (500-1000mL). Una forma conveniente de tratar los disolventes antes de introducirlos en el recipiente, consiste en filtrarlos mediante el vacío a través de un filtro de poro muy pequeño, este tratamiento elimina la materia en suspensión. Una separación que utiliza un solo disolvente de composición constante se denomina una elución isocrática. Con frecuencia, la eficiencia de la separación se aumenta por una elución con gradiente, en este caso se utilizan dos (y a veces más) disolventes con una polaridad distinta. Los instrumentos en la CLAE están equipados con unos dispositivos

que permiten introducir los disolventes desde dos o más recipientes en una cámara de mezcla a una velocidad que varía continuamente y la relación de volumen de los disolventes se puede modificar lineal o exponencialmente con el tiempo (Skoog *et al.*, 1994).

### **1.6.2. Sistema de Bombeo**

Las exigencias que deben de cumplir las bombas que se utilizan en cromatografía de líquidos son:

1. posibilidad de presión hasta 480 atm
2. flujo o caudal libre de pulsaciones
3. caudales entre 0.1 y 10 mL/min
4. reproducibilidad de caudales al menos del 0.5%
5. resistencia a la corrosión debida a los distintos disolventes.

Se emplean dos tipos de bombas mecánicas: bomba tipo jeringa impulsada por un tornillo y bombas de pistón. La primera produce un flujo libre de pulsaciones y permite medir fácilmente el caudal, sin embargo, tiene la limitación de su baja capacidad (aprox 250 mL) y de que no es adecuada cuando se tiene que cambiar de disolvente. Las bombas de pistón, que son las más utilizadas, consisten de ordinario en una cámara cilíndrica que se llena y vacía sucesivamente por el movimiento hacia delante y hacia atrás del pistón. El movimiento de la bomba produce un flujo con pulsaciones, que hay que amortiguar después. Las ventajas que presentan estas bombas son que tienen un volumen interno muy pequeño, presión de salida alta (superior a unas 800 atm), fácil adaptabilidad a elución gradiente y caudales constantes, que en gran medida son independientes de la contrapresión de la columna y de la viscosidad del disolvente (Skoog *et al.*, 1996).

### **1.6.3. Introducción de la muestra**

El procedimiento de introducción de la muestra en cromatografía líquida se basa en el uso de bucles de muestreo o válvulas de inyección. Estos dispositivos son parte integral de un moderno equipo cromatográfico que por lo general lleva bucles intercambiables que permiten elegir volúmenes de muestra desde 5 a 500  $\mu\text{L}$ . La precisión de las inyecciones con un muestreador de bucle es de unas pocas décimas por 100. Actualmente la totalidad de los inyectores de la CLAE son válvulas que orientan el caudal hacia la columna, pasando o no según su posición, a través de un loop en el cual se introduce la solución a inyectar.

### **1.6.4. Columna**

Las columnas de cromatografía líquida se fabrican generalmente con tubos de acero inoxidable aunque a veces también emplean tubos de vidrio de paredes gruesas cuando se aplican presiones bajas (600 psi). La mayoría de las columnas tienen longitudes comprendidas entre 10 y 30 cm y diámetros internos de 4 a 10 mm. Los rellenos típicos tienen tamaño de partículas entre 5 y 10  $\mu\text{m}$ . Las columnas de este tipo suelen contener 40,000 a 60,000 platos/m. La velocidad de flujo óptimo es de 0.5-2 mL/min para las columnas de 2.6 mm de diámetro interno, y de 1-4 mL/min para las de 4.6 mm de diámetro interno.

Se han desarrollado empaques de columna en los que la fase estacionaria está permanentemente unida al soporte por medio de enlaces químicos denominados empaques de fase enlazada, los cuales se preparan por reacción de un organoclorosilano con los grupos  $-\text{OH}$  formados en la superficie de las partículas de sílice por hidrólisis en caliente con ácido clorhídrico diluido. El enlace que se forma es

de tipo siloxano (Si-O-Si-C), donde C es una cadena de C<sub>8</sub> (n-octilo) y C<sub>18</sub> (n-octadecilo). Con estas preparaciones los grupos hidrocarbonados de cadena larga se alinean, en paralelo entre sí y perpendicularmente a la superficie de la partícula comunicando un aspecto de cepillo a la superficie hidrocarbonada apolar. Las fases enlazadas de este tipo se caracterizan por ser hidrolíticamente estables a un pH de 2-8.5 (Skoog *et al*, 1989).

Los empaques de fase enlazada de octadecilsilano (ODS por sus siglas) son probablemente los de mayor uso aunque pueden sustituirse eventualmente por columnas de fase enlazada que tengan una cadena alquílica más corta y más flexible, como los tipos C<sub>8</sub>, que contienen grupos octilsilano que ofrece una mejor selectividad frente a compuestos moderadamente polares, en tanto que la fase ODS debe utilizarse fundamentalmente para compuestos apolares (Conlon, 1981).

### 1.6.5. Detectores

Los detectores actuales de cromatografía de líquidos poseen un amplio intervalo operativo que normalmente permite trabajar en un mismo aparato a escala analítica o preparativa. Tienen una gran sensibilidad, lo que normalmente permite la detección de nanogramos de material.

No existe en cromatografía líquida de alta resolución un sistema de detección universal de gran sensibilidad como los usados en cromatografía de gases. Por tanto el sistema dependerá de la naturaleza de la muestra. Los detectores más utilizados en cromatografía líquida se basan en la absorción de radiaciones ultravioleta o visible. En el cuadro 1 se presentan los detectores más utilizados en CLAE con algunas de sus características (Willard *et al*, 1986).



Cuadro 1. Características de los detectores en CLAE.

Detector de CLAE	Disponible comercialmente	Tipo	Sensibilidad máxima g/mL	Sensibilidad a temperatura	Aplicable a la elución con gradiente
Absorción U.V.	Sí	S	$2 \times 10^{-10}$	Baja	Sí
Absorción I.R.	Sí	S	$10^{-6}$	Baja	Sí
Fluorimetría	Sí	S	$10^{-10}$	Baja	Sí
Índice de refracción	Sí	U	$1 \times 10^{-7}$	$\pm 10^{-4} / ^\circ\text{C}$	No
Conductividad eléctrica	Sí	S	$10^{-8}$	$2\% / ^\circ\text{C}$	No
Espectrometría de masas	Sí	U	$10^{-10}$	Ninguna	Sí
Radioquímica	No	S	--	Ninguna	Sí

U= Universal S= selectivo.

#### 1.6.6. Registrador de datos

El resultado del ensayo cromatográfico es, por un lado, la obtención de fracciones separadas de los componentes de la muestra, y por el otro, la de un gráfico o cromatograma, de cuya interpretación pueden extraerse conclusiones cualitativas y cuantitativas. Este registro y la eventual manipulación se obtienen a partir de la señal proveniente del detector por medio de un sistema de toma y procesamiento de datos, entre los que podemos citar:

- Registrador gráfico, que convierte la señal en un gráfico del tipo x-y.
- Integrador, que permiten no sólo obtener un registro gráfico (cromatograma) si no también su tratamiento matemático para el cálculo de concentraciones.
- Computadora. Básicamente el integrador es una computadora de uso muy específico, que permite con el software apropiado tanto el registro gráfico del cromatograma como los cálculos apropiados, la manipulación de datos, el almacenamiento de ensayos, generación de reportes.

## 1.7. Parámetros Cromatográficos

### 1.7.1. Tiempo de retención

Se define como tiempo cero  $t_0$  o tiempo muerto  $t_m$ , al tiempo que necesitan las moléculas de la fase móvil para trasladarse desde un extremo a otro de la columna sin ser retenidas por la fase estacionaria para un caudal determinado y al tiempo de retención  $t_r$  como el tiempo que transcurre desde la inyección de la muestra hasta que el pico del soluto aparece al final de la columna.

Al tiempo de retención del soluto se le puede restar el  $t_0$ , resultando el tiempo de retención corregido  $t'_r$ , el cual es el tiempo en el que las moléculas permanecen en la fase estacionaria y se representa con la siguiente ecuación (Conlon, 1981; Skoog *et al*, 1998);

$$t'_r = t_r - t_0 \quad \text{ecuación (1)}$$

### 1.7.2. Coeficiente de reparto

Todas las separaciones cromatográficas se basan en las diferencias con que los solutos se reparten entre la fase móvil y la fase estacionaria. El equilibrio resultante puede describirse cuantitativamente mediante el coeficiente de reparto  $K$ , que en cromatografía se define como:

$$K = C_E / C_M \quad \text{ecuación (2)}$$

Donde  $C_E$  es la concentración molar del soluto en la fase estacionaria y  $C_M$  es su concentración en la fase móvil (Skoog *et al*, 1994).

### 1.7.3. Volumen de retención

Es el volumen de fase móvil requerido para eluir un compuesto en el sistema, y se expresa mediante:

$$V_r = V_0 + K V_E \quad \text{ecuación (3)}$$

$V_0$  = volumen de la fase móvil en el sistema (volumen muerto)

$K$  = coeficiente de reparto

$V_r$  = volumen total de fase móvil necesario para poder eluir cada soluto (volumen de retención)

$V_E$  = volumen efectivo de fase estacionaria.

El volumen de retención de un soluto depende de los volúmenes relativos de las dos fases y de los coeficientes de reparto. Un coeficiente de reparto elevado da por resultado una retención larga, debido a que el soluto está durante mayor tiempo en la fase estacionaria. Así mismo el volumen de retención es igual al tiempo de retención por la velocidad de flujo volumétrico  $F$  (mL/min) de la fase móvil a través de la columna de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$V_r = t_r F \quad \text{ecuación (4)}$$

De igual manera se tiene que:

$$V_0 = t_0 F \quad \text{ecuación (5)}$$

Eliminando F de las ecuaciones 4 y 5 se obtiene:

$$V_r = V_0 \left( \frac{t_r}{t_0} \right) \quad \text{ecuación (6)}$$

#### 1.7.4. Factor de capacidad ( $k'$ )

El factor de capacidad, es una constante relacionada con la velocidad a la que se eluye un analito de la columna. Se define como la relación de cantidades del soluto en la fase estacionaria y en la fase móvil.

$$k' = \frac{C_R V_E}{C_M V_M} \quad \text{ecuación (7)}$$

Donde  $C_E$  es la concentración molar del soluto en la fase estacionaria,  $C_M$  la concentración molar del soluto en la fase móvil y  $V_M$  es el volumen de la fase móvil.

El factor de capacidad se relaciona con K de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$k' = \frac{K V_E}{V_M} \quad \text{ecuación (8)}$$

Así también el factor de capacidad (  $k'$  ) puede ser determinado experimentalmente por las relaciones siguientes:

$$k' = \frac{V_r - V_0}{V_0} = \frac{t_r - t_0}{t_0} = \frac{t_r'}{t_0} \quad \text{ecuación (9)}$$

De igual modo el  $t_r$  está relacionado con  $k'$  por la ecuación:

$$t_r = t_0 (1 + k') \quad \text{ecuación (10)}$$

Por consecuencia el volumen de retención se relaciona con  $k'$  de la siguiente manera:

$$V_r = V_0 (1 + k') \quad \text{ecuación (11)}$$

### 1.7.5. Eficiencia

El ensanchamiento de los picos está relacionado con la eficiencia ( $N$ ) de la columna, la cuál es medida para cada compuesto por el número de platos teóricos que ésta contiene. La anchura del pico (es decir, la desviación estándar) indica que tan fino es un pico. En la práctica, la expresión de la eficiencia de una columna es:

$$N = \left( \frac{t_r}{\sigma} \right)^2 \quad \text{ecuación (12)}$$

El valor de  $N$  representa el número de platos o número de platos teóricos y puede expresarse como:

$$N = 16 \left( \frac{f_r}{W_b} \right)^2 \text{ o bien } N = 5.545 \left( \frac{f_r}{W_{1/2}} \right)^2 \text{ ecuación (13)}$$

donde:

$W_b$  = anchura del pico en su base.

$W_{1/2}$  = ancho del pico a la mitad de su altura.

El número de platos depende de la longitud de la columna: a mayor longitud de columna, mayor número de platos. Se ha introducido otro término que relaciona el número de platos con la longitud de la columna, es la altura de plato o altura equivalente a un plato teórico, cuya dimensión es la longitud:

$$H = \frac{L}{N} \text{ ecuación (14)}$$

donde;

H = altura equivalente a un plato teórico

L = longitud de la columna

### 1.7.6. Factor de selectividad (retención relativa)

El factor de separación o retención relativa,  $\alpha$ , describe la posición relativa de dos picos adyacentes. Así, para los picos A y B,

$$\alpha = \frac{K_B}{K_A} \quad \text{ecuación (15)}$$

Donde  $K_B$  es la constante de reparto para las especies B retenidas con más fuerza y  $K_A$  es la constante para las especies mantenidas menos fuertes, o sea las eluidas más rápidamente, A. Naturalmente si  $\alpha=1$  los dos picos tienen tiempos de retención idénticos en otras palabras, no existe separación. Para una columna determinada la sustitución de la ecuación (8) en la ecuación (15) proporciona una relación entre el factor de selectividad y el factor de capacidad que es:

$$\alpha = \frac{k'_B}{k'_A} = \frac{V_2}{V_1} = \frac{i'_2}{i'_1} \quad \text{ecuación (16)}$$

Donde  $k'_B$  y  $k'_A$  son los factores de capacidad para A y B respectivamente (Skoog et al, 1989).

### 1.7.7. Resolución

En la cromatografía lo ideal es que los picos sean del tipo gaussiano, la resolución de dos componentes adyacentes se define como el cociente de la separación de los picos entre la anchura media de éstos. Se expresa como el cociente de la distancia de los máximos de los picos ( $\Delta t$ ) y el valor medio de la anchura del pico en la base.

Cuando la retención y el ancho del pico se miden en unidades de tiempo, la resolución puede calcularse con la siguiente ecuación:

$$R = \frac{tr_2 - tr_1}{0.5(W_{b2} + W_{b1})} \quad \text{ecuación (17)}$$

Donde:  $tr_2$  y  $W_{b2}$  corresponden al tiempo de retención y anchura del pico del compuesto más retenido (Willard *et al*, 1984; Conlon, 1981).

Si se suponen cantidades iguales de 2 solutos en bandas adyacentes, la resolución puede expresarse aproximadamente en términos de  $k'$ ,  $\alpha$  y  $N$ :

$$R = \frac{1}{4} \left( \frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left( \frac{k'_2}{1 + k'_2} \right) \sqrt{N} \quad \text{ecuación (18)}$$

De esta forma, a medida que 2 solutos adyacentes se desplazan por la columna, sus curvas de elución se separan hasta un cierto grado, que está determinado por sus retenciones relativas, el factor de capacidad y el número de platos teóricos (Willard *et al*, 1984).



## **1.8. Extracción en Fase Sólida**

La extracción en fase sólida EFS es una técnica que ha resultado ser muy exitosa para el manejo de muestras acuosas. En la EFS los analitos de interés son atrapados en un adsorbente apropiado, empacado en una precolumna, cartucho o disco de extracción a través de los cuales se aplica la muestra acuosa. Posteriormente los analitos son eluidos con un pequeño volumen de disolvente orgánico. De esta manera la extracción y la concentración se realizan al mismo tiempo como ya se mencionó en la sección 1.4 la EFS puede efectuarse en diferido o en línea.

### **1.8.1. Extracción en diferido (off-line)**

En el método de extracción en diferido, la muestra es percolada en un adsorbente que esta empacado en un cartucho o disco capaz de fijar los compuestos de interés, la recuperación de los mismos se lleva a cabo por la adición de un volumen pequeño de disolvente orgánico. La cantidad de adsorbente empleada en cartuchos puede variar de 100mg a 1000mg. El proceso de preconcentración para un cartucho empacado con sílice C18 se ilustra en la figura 1 y se describe a continuación:

1. El adsorbente es acondicionado con 3-5 mL de metanol y con un volumen de 10 mL de agua desionizada (es importante no permitir que seque el empaque durante la adición de la muestra).
2. La muestra es aplicada y los analitos de interés (+) son retenidos por el adsorbente mientras el flujo de la misma es continuo.

- Algunos de los interferentes (o) pueden ser removidos aplicando 1-2 mL de una mezcla de agua con una pequeña cantidad de disolvente orgánico.
- En el último paso, el adsorbente es secado por varios minutos con vacío. Entonces los analitos concentrados son eluidos con 1-5 mL de disolvente orgánico (Hennion *et al*, 1994).

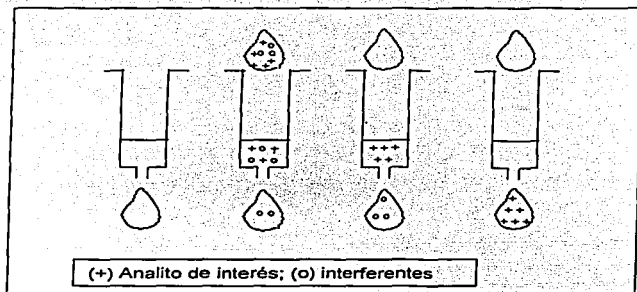


Figura 1. Extracción sobre un cartucho empacado con fase estacionaria C18.

### 1.8.2. Extracción en línea (on-line)

En la extracción en línea, un volumen de muestra es bombeado a un flujo constante a través de una precolumna que es acoplada directamente al cromatógrafo. El volumen de muestra es menor que en la extracción en diferido.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

El acoplamiento de la EFS al análisis cromatográfico se realiza mediante una válvula de 6 puertos similar a la que se emplea como inyector manual en el cromatógrafo de líquidos. La precolumna de extracción se coloca en lugar del bucle (Figura 2).

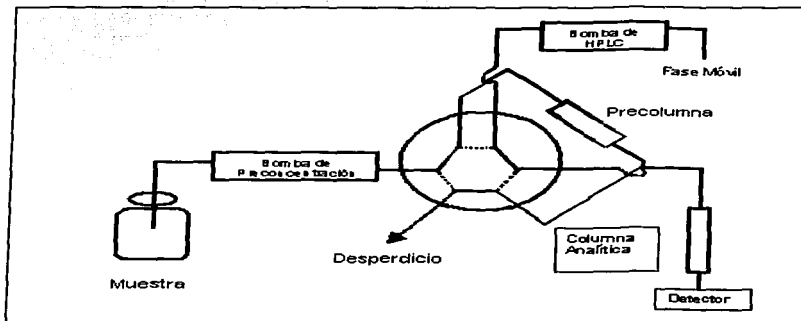


Figura 2. Montaje experimental del acoplamiento en línea de la EFS al análisis cromatográfico. La posición 1 (—) es para el paso de preconcentración y la posición 2 (----) para la elución en línea y la separación.

El acondicionamiento y la aplicación de la muestra ocurre vía una bomba (de preconcentración) simple, cuando la válvula se encuentra en la posición de cargar. Cuando la válvula se encuentra en la posición inyector, los compuestos adsorbidos son eluidos directamente de la precolumna y entran directamente en la columna analítica usando una fase móvil adecuada, que también permite la separación cromatográfica de los compuestos atrapados. El acoplamiento en línea al sistema cromatográfico es ideal para minimizar los inconvenientes de los procedimientos en diferido, son fáciles de montar en laboratorio, son rápidos, la manipulación de la muestra es mínima, por lo que no hay

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

riesgo de contaminación o pérdida de muestra y el volumen de disolvente utilizado es mínimo (Hennion *et al*, 1994).

### **1.8.3. Parámetros de la extracción en fase sólida (EFS)**

Los principios para la EFS para la extracción en línea como en diferido son iguales. Estos parámetros son el volumen de fuga ( $V_f$ ) y el rendimiento de extracción ( $R$ ).

### **1.8.4. Volumen de fuga**

El volumen de fuga ha recibido mucha atención para la optimización de los métodos de extracción porque representa el máximo volumen de muestra que puede ser percolado con un recobro teórico del 100%. La fuga ocurre cuando el analito de interés no es suficientemente retenido por el adsorbente o cuando la capacidad del adsorbente ha sido sobrecargada (saturada). En análisis ambientales donde la concentración del analito es baja ( $\mu\text{g/L}$  o  $\text{ng/L}$ ), la fuga es causada principalmente por retención insuficiente (Hennion *et al*, 1993).

El Volumen de fuga puede ser medido con el sistema en línea esquematizado en la figura 3 mediante un monitoreo con espectrofotometría en U.V. de la muestra acuosa adicionada con trazas de un soluto S, el cuál tiene una absorbancia inicial de  $A_0$ . Inicialmente la muestra es percolada a través de una precolumna y si el compuesto es retenido por el adsorbente, el efluente no lo contendrá y la absorbancia será cero, después de cierto volumen ocurre la fuga ( $V_f$ ) y S se encontrará en el agua efluente. En la curva de rompimiento frontal registrada a un volumen en el cual la absorbancia alcanza el 1% de  $A_0$  corresponde al  $V_f$  y por lo tanto al volumen que puede ser preconcentrado sin pérdida significativa del analito de interés, hasta un volumen máximo  $V_m$ , definido como el

99% de  $A_0$ , donde el efluente tiene la misma composición de la muestra de agua (figura 3). Bajo condiciones ideales, esta curva tiene la forma bilogarítmica, en donde el punto de inflexión corresponde al volumen de retención  $V_r$  del analito. La zona sombreada corresponde a la cantidad máxima que puede ser preconcentrada (Hennion *et al.*, 1993).

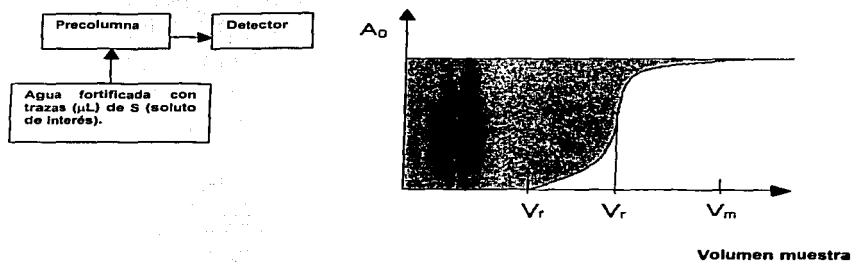


Figura 3. Curva de rompimiento frontal.  $A_0$ = absorbancia inicial,  $V_r$  = volumen de fuga,  $V_r$  = volumen de retención,  $V_m$ = volumen correspondiente a la máxima cantidad preconcentrada. El área sombreada corresponde a la cantidad total preconcentrada

### 1.8.5. Rendimiento de extracción

El rendimiento de extracción es definido como la relación entre la cantidad extraída y la cantidad percolada. Los rendimientos en la EFS dependen del volumen de muestra

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

preconcentrada y del valor de  $V_r$ , el cuál es relacionado con el volumen de retención del soluto en agua, de su naturaleza y de la cantidad del adsorbente.

Los rendimientos de extracción pueden ser calculados dividiendo las áreas de los picos obtenidos de la preconcentración de la muestra con aquellas áreas obtenidas de la inyección directa de un estándar del soluto.

#### **1.8.6. Similitudes entre extracción en fase sólida y cromatografía líquida**

El pico obtenido al inyectar 10  $\mu\text{L}$  de una solución del soluto S en una precolumna con una fase móvil constituida de agua pura se representa por la figura 4. Con esta figura es importante remarcar que el valor del  $V_r$  en la cima del pico cromatográfico corresponde al mismo valor que el obtenido en el punto de inflexión del frente de elución utilizando la misma precolumna. Así, la similitud entre la extracción en fase sólida y la cromatografía líquida se demuestra además de considerar que la integral de la curva de Gauss que representa el pico de elución corresponde a la curva del frente de elución. Por lo tanto, esto también indica que los datos generados por la cromatografía líquida al medir o estimar  $V_r$  son muy útiles, para aproximarse a los parámetros de la EFS. Considerando lo anterior se puede afirmar que la extracción en fase sólida puede ser considerada como un proceso cromatográfico simple en el cual el adsorbente es la fase estacionaria y la fase móvil es el agua de muestra acuosa durante el paso de extracción, o el disolvente orgánico durante el paso de desorción (Hennion *et al*, 1994, Poole *et al*, 2000).

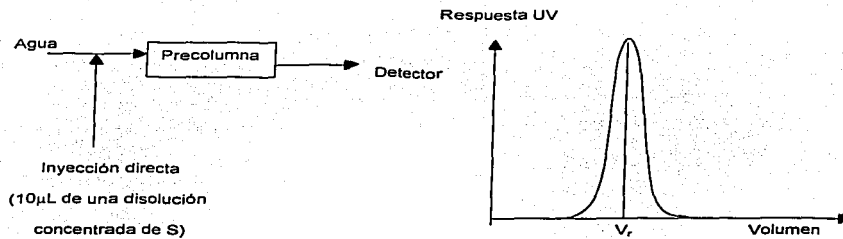


Figura 4. Elución de un pico obtenido por inyección de 10  $\mu\text{L}$  de una solución concentrada S en la precolumna y eluida con una fase móvil constituida por agua pura. La velocidad de flujo es la misma y  $V_r$  es el volumen de retención.

### 1.8.7. Relación entre volumen de fuga ( $V_f$ ) y volumen de retención ( $V_r$ )

El valor  $V_f$  de un soluto en un sistema de extracción dado, puede ser aproximado si se conoce el factor de retención en agua pura  $k'_w$ , ya que existe la relación siguiente entre  $V_f$  y  $V_r$

$$V_f = V_r - 2.3 \sigma_v \quad \text{ecuación (19)}$$

Donde  $\sigma_v$  es la desviación estándar que representa la dispersión axial a lo largo del lecho de partículas del adsorbente. El  $\sigma_v$  puede ser calculado por el número de platos teóricos, N, de la precolumna o cartucho por la siguiente relación:

$$\sigma_v = (V_0 / \sqrt{N}) (1 + k'_w) \quad \text{ecuación (20)}$$

El  $V_r$ , se puede calcular a partir de la relación fundamental en cromatografía:

$$V_r = V_0 (1 + k'_w) \quad \text{ecuación (21)}$$

Donde  $V_0$  es el volumen de la precolumna o el cartucho y  $k'_w$  es el factor de retención del soluto eluido por agua. El  $V_0$  es el producto del volumen geométrico de la precolumna por la porosidad  $\epsilon$  del adsorbente. En promedio se estima un valor de  $\epsilon$  entre 0.65 y 0.70 para n-alkilsílices. En los cartuchos se ha estimado  $V_0 = 0.12$  mL por 100 mg de adsorbente (Hennion *et al.*, 1994).

Hennion *et al.* (1998) ha realizado predicciones de volúmenes de fuga para algunas triazinas y otros plaguicidas utilizando cartuchos empacados con sílice C18 y los ha comparado con los valores obtenidos experimentalmente. Estos valores se presentan a continuación en donde se puede apreciar que son similares:

Plaguicida	Volumen teórico	Volumen experimental
deisopropilatrazina	60mL	80mL
desetilatrizona	130mL	120mL
aldicarb	84mL	80mL
oxamyl	14mL	25mL



### 1.8.8. Relación entre P y $k'_w$

En cromatografía de reparto en fase inversa, el mecanismo de retención es gobernado por interacciones hidrofóbicas entre el analito y la superficie hidrocarbonada de la sílice. El factor de retención en agua pura  $k'_w$ , parámetro cromatográfico ha sido relacionado con el coeficiente de reparto agua/octanol  $P_{oa}$ , parámetro que caracteriza la hidrofobicidad de los compuestos. El coeficiente de reparto  $P_{oa}$ , juega un rol importante correlacionando la estructura y la actividad de ciertos compuestos con actividad biológica. Se ha encontrado una relación lineal entre el log  $k'_w$  y log  $P_{ow}$  medido con una fase móvil metanol-agua y sílices C18 para diversos compuestos orgánicos, por lo que el log de  $k'_w$  fue encontrado equivalente a el log de  $P_{ow}$  (Braumann *et al*, 1986). Las ventajas del sistema cromatográfico favorecen el uso de log  $k'_w$ , para el estudio de las relaciones cuantitativas de estructura, actividad, pues resulta más simple realizar medidas de tiempos de retención, además de que son rápidas y reproducibles y que requieren solamente cantidades pequeñas del soluto. Para los fines de la extracción en fase-sólida, al considerarse equivalentes el valor de P y  $k'_w$  se puede utilizar indistintamente cualquiera de ellos para realizar las predicciones de los volúmenes de retención o volúmenes de fuga.

En la actualidad existen reportados los valores de log de P para gran parte de los pesticidas (Noble, 1983).

## **CAPÍTULO 2. DESARROLLO EXPERIMENTAL**

### **2.1. Reactivos y disolventes**

- Metanol grado HPLC (OmniSolv) y Agua desionizada (del aparato Modulab de ultrapurificación, Continental).
- Acetato de amonio grado reactivo (Sigma Aldrich).

### **2.1.2. Plaguicidas**

Todos los estándares provinieron de Chem Service con purezas comprendidas entre 97% y 99.5%

Carbamato: desmedifam. Triazinas: cianazina, simazina, hexaxinona, atrazina, simetrina, prometón, prometrina, propazina, terbutilazina, metabolitos: deisopropilatrazina, desetilatrazina, 2-hidroxiatrazina.

### **2.1.3. Instrumentación**

El análisis cromatográfico se realizó en un cromatógrafo Varian modelo 9010, con automuestreador modelo 9100, detector de U.V. modelo 9065 con arreglo de diodos. El programa de análisis de datos fue el software Star Worstation Varian (4.5).

### **2.1.4. Columna analítica**

Columna Analítica de acero inoxidable de 150 x 4.5 mm d.i. (Varian) empacada con sílice Nucleosil C18 con un tamaño de partícula de 5 µm.

### **2.1.5. Otros accesorios utilizados**

Extractor múltiple de 10 cartuchos (ASHCROFT)

Cartuchos de extracción Speed (Baker) C18 de 100mg, 500mg, y 1000mg.

Silice C18 (SUPELCO).

Purificador y desionizador de agua Modulab Analytical, (U.S. Filter, USA)

Sistema de filtración por vacío (Sartorius)

Membranas de nylon de 47 mm de diámetro y un tamaño de poro de 0.45 $\mu$ m (Cole Palmer, USA)

Degasificador de soluciones (Branson modelo 1210)

Jeringa Hamilton de 0-500  $\mu$ L

Micropipeta de volumen variable de 20-200 $\mu$ L

Micropipeta de volumen variable de 100-1000 $\mu$ L

Balanza analítica (Mettler Toledo).

### **2.2. Preparación de las disoluciones estándares de plaguicidas**

Las soluciones madre de los carbamatos y de triazinas fueron hechas a una concentración de 100 ppm en metanol. Con base a estas se realizaron diluciones a 20 ppm para cada uno de los compuestos y se inyectaron individualmente con diferentes porcentajes de agua/metanol como fase móvil. También se preparó una solución que contenía a la mezcla de plaguicidas para las separaciones analíticas a una concentración de 100 ppm cada uno en metanol excepto la simetrina que fue preparada a 50 ppm porque su absorción es mucho mayor a la de los demás compuestos. Todas las soluciones fueron almacenadas en refrigeración a 4°C.

### 2.3. Metodología

La metodología empleada en este trabajo se dividió en las 4 etapas siguientes:

1. Extrapolación de  $k'$  en sílice C18 a partir de las curvas de la variación de  $k'$  en función del porcentaje de metanol en fase móvil para el cálculo de  $V_r$  y  $V_f$
2. Optimización de la separación simultánea de los pesticidas
3. Estudio de la preconcentración de la mezcla de plaguicidas
4. Aplicación del método a muestras de agua reales.

**2.3.1. Extrapolación de  $k'$  en sílice C18 a partir de las curvas de la variación de  $k'$  en función del porcentaje de metanol en fase móvil para el cálculo de  $V_r$  y  $V_f$**

#### 2.3.1.1. Extrapolación de $k'$

El pH del agua de la fase móvil se fijó a 7 con acetato de amonio 0.001 M para que la 2-hidroxiatrazina fuera retenida. Se midió el  $t_r$  de cada compuesto, y el  $t_0$  del sistema cromatográfico se determinó con  $\text{NaNO}_3$  0.5 M, para finalmente calcular el factor de capacidad  $k'$  para cada plaguicida con diferentes mezclas en la fase móvil MeOH/  $\text{H}_2\text{O}$ , partiendo de 80% de MeOH hasta un 50% de MeOH, con la siguiente ecuación:

$$k' = (t_r - t_0) / t_0$$

donde

$t_r$  = Es el tiempo de retención del compuesto estudiado

$t_0$  = tiempo muerto, que es el tiempo que necesitan las moléculas de la fase móvil para trasladarse de un extremo a otro de la columna, para un caudal determinado.

Con los datos experimentales obtenidos se graficaron las curvas de  $\log k'$  en función del porcentaje de MeOH y finalmente se realizó una extrapolación lineal al 0% de MeOH para estimar el valor de  $k'w$ .

Los resultados obtenidos de este estudio también ayudaron a establecer el gradiente óptimo para la separación del carbamato y de las triazinas estudiados.

### 2.3.1.2. Cálculo de $V_r$ y $V_f$

Se procedió a calcular los volúmenes de retención para cada plaguicida con los valores de  $k'w$  obtenidos de acuerdo con la siguiente ecuación:

$V_r = V_0 (1+k'w)$  de donde  $V_0$  es el volumen muerto de la precolumna o cartucho y se consideró igual a 0.120 mL por cada 100 mg de adsorbente (Hennion *et al*, 1998).

El  $V_f$  se calculó a partir de una programa informático reportado por Hennion *et al*, 1998.

### 2.3.2. Optimización de la separación simultánea de los pesticidas

En esta etapa se utilizaron mezclas de plaguicidas a una concentración de 20 ppm para la selección de las condiciones óptimas para su separación y detección

Condiciones: Velocidad de flujo: 1mL/ min

Volumen Inyectado: 20  $\mu$ L.

El gradiente óptimo para la separación de las triazinas y del carbamato desmedifam:

0 min ———75 H<sub>2</sub>O/ 25 MeOH

35min ———10 H<sub>2</sub>O/ 90 MeOH

La longitud de onda máxima seleccionada para los plaguicidas fue en la que cada compuesto presentó una mayor absorción.

#### **2.3.2.1. Estudio de la precisión del sistema cromatográfico**

Se inyectó la mezcla de pesticidas a una concentración de 20 ppm 5 veces a lo largo de 3 días diferentes para obtener el coeficiente de variación (C.V.) con base al área de los picos de cada plaguicida.

#### **2.3.2.2. Respuesta del detector en función de la concentración (curva de calibración)**

Para la determinación de la curva de calibración se realizaron 3 inyecciones de la mezcla de los pesticidas a las diferentes concentraciones: 5, 10, 20 y 30 ppm. Cada solución se inyectó por triplicado y con el valor del área del pico se calculó el coeficiente de correlación y la ecuación de las rectas.

#### **2.3.2.3. Obtención de límites de detección**

Los límites de detección se obtuvieron haciendo diluciones de una solución 20 ppm de la mezcla de los pesticidas. Se inyectaron diferentes soluciones cada vez menos concentradas y se determinaron los límites para cada compuesto. Con las soluciones que representaron a los límites de detección se obtuvo el coeficiente de variación con los valores de las áreas de los picos de 5 inyecciones.

### **2.3.3. Estudio de la preconcentración de la mezcla de plaguicidas**

El estudio de la preconcentración de los plaguicidas en cartuchos empacados con sílice C18 se basó en la evaluación de los recobros en función del volumen de muestra y de la cantidad de adsorbente. El rendimiento de extracción se obtuvo de la comparación del área del pico de la inyección directa correspondiente a la cantidad de estándar seleccionada con el bucle de 20  $\mu$ L disueltos en metanol y el área del pico de la inyección del extracto obtenido de la preconcentración por cien. Así; se trazaron las curvas de  $\% R = f(\text{Volumen de muestra})$  para cada cantidad de fase estacionaria (Sílice C18).

En las curvas, se midió el  $V_r$  experimental, el cual se consideró como el volumen en que el rendimiento disminuyó entre el 1 y 5 %. Estos valores se fueron correlacionando con los  $V_r$  y  $V_r$  calculados.

#### **2.3.3.1. Recobro en función del volumen de muestra**

La preconcentración se efectuó en cartuchos empacados con sílice C18 con las siguientes cantidades 100, 500 y 1000 mg utilizándose diferentes volúmenes de agua grado HPLC, manteniendo constante la cantidad de estándar adicionada a las muestras de agua. Todos los cartuchos fueron previamente acondicionado con 5 mL de metanol y 10 mL de agua grado cromatográfico

Cartucho de 100 mg Volúmenes ( mL )	Cartucho de 500 mg Volúmenes ( mL )	Cartucho 1000 mg Volúmenes ( mL )
2.5*	2.5*	10
5*	5*	20**
7.5*	7.5*	40**
10*	10	50
20	50	100
50	100	100
100	200	300
	300	600

\* volúmenes para las 5 primeras triazinas.

\*\* solo para la deisopropilatrazina se utilizaron estos volúmenes.

### 2.3.3.2. Recobro en función de la cantidad de adsorbente

Para este estudio se utilizaron cartuchos con las siguientes cantidades de adsorbente: 100mg, 300mg, 500mg, 750mg y 1000mg. Se aplicó una cantidad constante de cada estándar de los plaguicidas y un volumen constante de 10 mL para cada cantidad de adsorbente. Se establecieron las curvas del recobro en función de los mg de adsorbente.

### 2.3.4. Aplicación del método a muestras de agua reales

Con el objeto de realizar aplicaciones con muestras reales se usaron 2 diferentes muestras de agua potable. Una muestra fue tomada de la red de distribución de Ciudad Universitaria y la otra muestra de agua fue tomada del pozo Villa Victoria (Valle de Bravo). El volumen utilizado para cada muestra fue de 200 mL, adicionando la mezcla de plaguicidas estudiados a una concentración de 10 ppb (2 µg) y utilizando un cartucho de 1000mg. La elución se llevo a cabo con 5 mL de metanol; estos se llevaron a evaporación total del disolvente y posteriormente se reconstituyó el residuo con 1 mL de metanol del cual se inyectaron 20 µL al cromatógrafo (40 ng, considerando una recuperación del 100%).



## CAPÍTULO 3. RESULTADOS

3.1. Extrapolación de  $k'_w$  en sílice C18 a partir de las curvas de la variación de  $k'$  en función del porcentaje de metanol en fase móvil para el cálculo de  $V_r$  y  $V_f$

### 3.1.1. Extrapolación de $k'_w$

El factor de retención  $k'_w$  para los plaguicidas estudiados se obtuvo de la extrapolación lineal al 0% de metanol de acuerdo con las curvas de  $\log$  de  $k'$  en función del porcentaje de metanol en la fase móvil representadas en las gráficas 5 y 6.

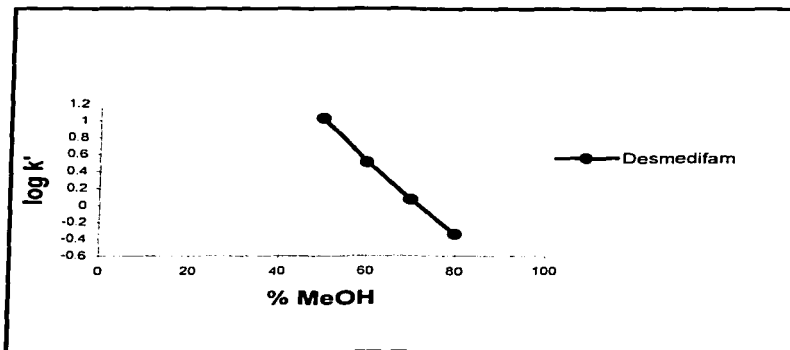


Figura 5. Curvas de  $\log$  de  $k' = f(\text{MeOH})$  en la fase móvil para el desmedifam

Los resultados obtenidos también nos ayudaron a conocer el orden de elución de los compuestos y por lo tanto a establecer el gradiente óptimo para una separación cromatográfica.

En la figura 6 se presentan las curvas obtenidas para las triazinas, en donde se observa claramente el comportamiento paralelo de cada uno de los componentes de la familia.

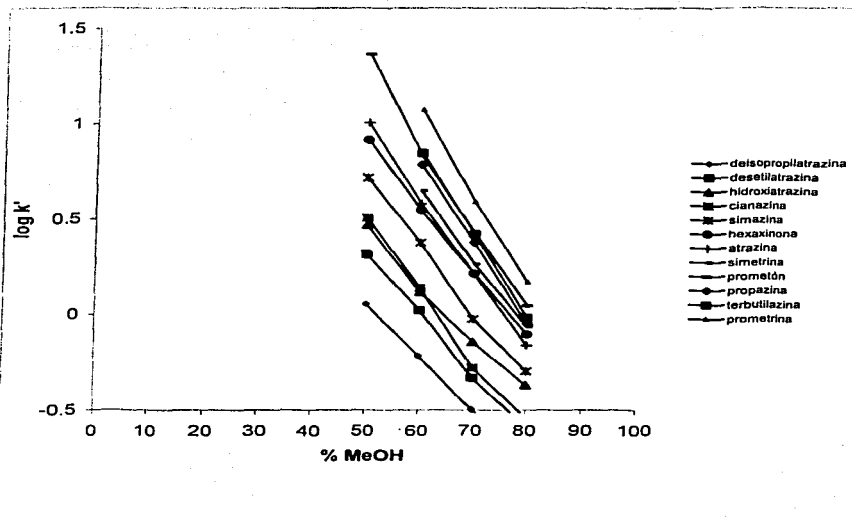


Figura 6. Curvas de  $\log$  de  $k' = f(\text{MeOH})$  en la fase móvil para las triazinas

Es importante aclarar que se tuvo que fijar a un pH 7 el agua desionizada para que la 2- hidroxiatrazina pudiera ser retenida. El compuesto presenta propiedades ácido-base con un  $pK_a \approx 5$  (Coquart *et al*, 1992) y en su forma molecular es como se puede retener mejor. La retención de las demás triazinas no fue afectada por el pH (de 2 a 7), ni tampoco la del desmedifam.

Los valores de  $\log k'_w$  extrapolados se presentan en la tabla 1, y están ordenados por polaridad decreciente.

### 3.1.2. Cálculo de $V_r$ y $V_t$

Con los valores de  $\log k'_w$  extrapolados se realizaron los cálculos de los valores de  $V_r$  en cartuchos empacados con diferentes cantidades de sílice C18. Estos valores también se presentan en la tabla 1. Los valores de  $V_r$  teórico se reportan más adelante en los estudios de recobro.

Tabla 1. Valores extrapolados de  $\log k'_w$  y  $V_r$  calculados en el adsorbente sílice C<sub>18</sub>.

HERBICIDA	Sílice C <sub>18</sub> $V_0 = 0.12 \text{ mL} / 100 \text{ mg de adsorbente}$			
	Log de $k'_w$ extrapolado	$V_r$ calculados ( mL ) 100mg	$V_r$ calculados ( mL ) 500mg	$V_r$ calculados ( mL ) 1000mg
1) deisopropilatrastina	1.35	2.8	14	27.8
2) desetilatrastina	1.81	7.9	39.3	78.7
3) 2-hidroxiatrastina	1.83	8.2	41.16	81.8
4) cianazina	2.26	22	110.3	220.6
5) simazina	2.43	32.4	162.1	324.2
6) hexaxinona	2.60	48	241.1	482.2
7) atrazina	2.93	102.3	511.3	1017.9
8) desmedifam	3.11	154.7	773.5	1547.1
9) simetrina	2.80	76	379.2	758.3
10) propazina	3.30	237	1184.1	2368.1
11) terbutilazina	3.44	333	1664.6	3306.3
12) prometrina	3.77	707	3533.7	7067.3

Las curvas de  $\log k'$  en función del % de metanol en la fase móvil en sílice  $C_{18}$  mostraron el orden de elución de los plaguicidas en estudio, observándose que todos éstos no se podían separar isocráticamente, por lo que fue necesario un gradiente de elución. Por simplicidad y rapidez se decidió trabajar con un solo gradiente en los ensayos de preconcentración, separándose todos los compuestos a excepción del prometón que se descartó por coeluir con la terbutilazina.

En la figura 7 y 8 se presentan los cromatogramas de los plaguicidas con el gradiente aplicado a dos longitudes de onda diferentes.

Así, un gradiente lineal permitió la mejor separación de la mayoría de plaguicidas con muy buenas resoluciones, aunque en el caso del desmedifam (8) y la simetrina (9) estas no fueron las óptimas. Con el detector de arreglo de diodos se observó que la longitud de onda a la que mejor absorben estos compuestos es a 220 nm, excepto para la hexaxinona que absorbe mejor a 254 nm.

Picos	Resolución
Picos 3 y 4	R= 1.60
Picos 6 y 7	R= 1.44
Picos 7 y 8	R= 2.26
Picos 8 y 9	R= 0.93
Picos 10 y 11	R= 2.55

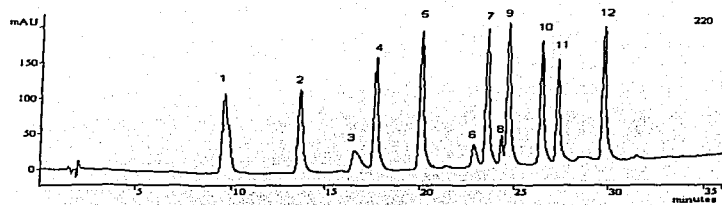


Figura 7. Cromatograma obtenido por inyección directa de 20 $\mu$ L de la mezcla de plaguicidas a 20 ppm y detección a  $\lambda$ = 220 nm. Identificación de los picos: (1) deisopropilatrazina, (2) desetilatrazina, (3) 2-hidroxiatrazina, (4) cianazina, (5) simazina, (6) hexaxinona, (7) atrazina, (8) desmedifam, (9) simetrina, (10) propazina, (11) terbutilazina, (12) prometrina. Condiciones descritas en la metodología.



Figura 8. Cromatograma obtenido por inyección directa de 20 $\mu$ L de la mezcla de plaguicidas a 20 ppm y detección a  $\lambda$ = 254 nm. Identificación de los picos: (1) deisopropilatrazina, (2) desetilatrazina, (3) 2- hidroxiatrazina, (4) cianazina, (5) simazina, (6) hexaxinona, (7) atrazina, (8) desmedifam, (9) simetrina, (10) propazina, (11) terbutilazina, (12) prometrina. Condiciones descritas en la metodología.

### 3.2.1. Respuesta del detector en función de la concentración (curva de calibración)

La respuesta del detector en función de la concentración del sistema cromatográfico (linealidad) se evaluó mediante las gráficas del área del pico a las concentraciones de 5, 10, 20 y 30 ppm, excepto para la simetrina que debido a una mayor absortividad, se utilizó a 2.5, 5, 15 y 20 ppm. Las curvas se realizaron a 220 nm para todos los compuestos a excepción de la hexaxinona que fue a 254 nm.

En la representación gráfica de las curvas de calibración (figuras 9 y 10) y las ecuaciones (tabla 2) obtenidas para cada uno de los plaguicidas muestran que efectivamente, los valores tienden a ajustarse en una línea recta. El coeficiente de correlación ( $r$ ) parámetro que determina el grado de ajuste de todos los puntos fueron aceptables.

Tabla 2. Datos de la linealidad.

HERBICIDA	a	b	r
1) deisopropilatrizona	-10748.1	15596.95	0.9964
2) desetilatrizona	-13711.7	14704.6	0.9993
3) 2-hidroxiatrizona	-21441.2	12320.7	0.9993
4) cianazina	-15657.3	16893.8	0.9987
5) Simazina	-14308.9	21222.9	0.9997
6) hexaxinona*	-3249.5	5041	0.9956
7) atrazina	-5688	19557.1	0.9998
8) desmedifam	-82.912	6259.9	0.9984
9) simetrina	-3088.47	20780	0.9992
10) propazina	-7055.2	17494.1	0.9976
11) terbutilazina	-14546.2	183305.1	0.9998
12) prometrina	-18761.3	17021.92	0.9982

Detección a 220 nm \* a  $\lambda$ = 254 nm.

$y = a + bx$ , a= ordenada al origen, b= pendiente, r= coeficiente de correlación.

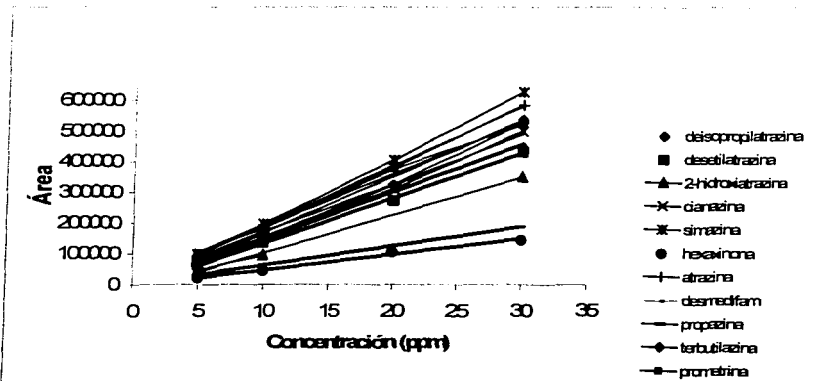


Figura 9. Curvas de calibración de triazinas y un carbamato

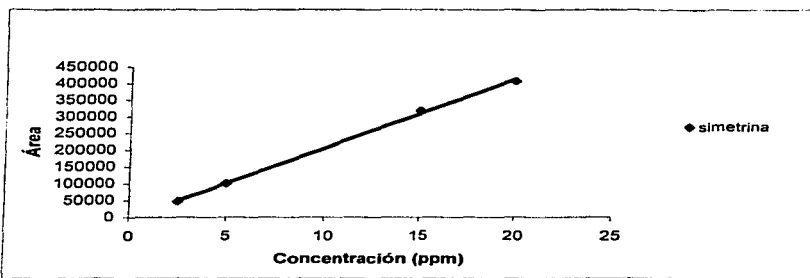


Figura 10. Curva de calibración para la simetrina.

### 3.2.2. Límites de detección y precisión del sistema cromatográfico

Con base a los resultados obtenidos se calculó el coeficiente de variación de las medidas de las áreas obtenidas de 5 inyecciones directas de 20 µL de la solución estándar de la mezcla de los plaguicidas a 20 ppm. Estos se reportan en la tabla 3; junto con los límites de detección absolutos a 220nm, a excepción de hexaxinona a 254 nm. Igualmente se realizó el cálculo del coeficiente de variación para las concentraciones en los límites de detección.

Tabla 3. Límites de detección y reproducibilidad.

HERBICIDA	Límites de detección absolutos a $\lambda=220$ nm	Concentración de límites de detección (ppm)	C.V. en límite de detección a $\lambda=220$ nm	Mezcla a 20 ppm C.V. a $\lambda=220$ nm
deisopropilatrizona	7 ng	0.35	6.3	0.94
desetilatrizona	7 ng	0.35	8.8	1.21
2-hidroxiatrizona	20 ng	1	11.2	2.18
cianazina	7 ng	0.35	17	1.44
simazina	7 ng	0.35	4.9	2.38
hexaxinona *	7 ng	0.35	8.9	2.07
atrazina	7 ng	0.35	10.1	0.49
desmedifam	20 ng	1	14.1	3.58
simetrina	10 ng	0.5	14.8	2.96
propazina	20 ng	1	5.0	2.47
terbutilazina	20 ng	1	7.5	3.69
prometrina	20 ng	1	4.3	1.63

\* a  $\lambda=254$  nm.

Los C.V. se consideran aceptables ya que son menores o iguales al 3.7% con la mezcla a 20 ppm, al igual que los obtenidos para una solución cuya concentración esta en el límite de detección que son menores o iguales al 14.8%. Solo en el caso de la cianazina observamos un C.V., relativamente más grande (17%), aunque aceptable para esa concentración considerando que es más difícil la integración por su menor resolución y forma del pico.



### 3.3. Estudio de la preconcentración de la mezcla de plaguicidas

#### 3.3.1. Recobro en función del volumen de muestra

En este estudio, la selección del intervalo de los volúmenes de muestra dependió de los  $V_f$ , calculados para cada plaguicida y cada cantidad de adsorbente. Para los compuestos más polares (menos retenidos) se aplicaron volúmenes más pequeños para poder medir el volumen de fuga. La tabla 4 muestra los valores de R en función de los diferentes volúmenes y sus respectivos  $V_f$  experimentales calculados por medio de un programa de computadora (Hennion *et al*, 1998) también se presentan los  $V_f$  calculados con 100 mg de sílice C18.

Tabla 4. Rendimientos obtenidos de la preconcentración de diferentes volúmenes de muestra de plaguicidas en un cartucho empacado con 100mg de sílice C18.

HERBICIDA	% Rendimiento $V_0 = 0.12 \text{ mL}$							Vf exp (mL)	Vf calc. (mL)
	2.5mL	5mL	7.5mL	10mL	20mL	50mL	100mL		
deisopropilatrizona	100	95	88	83	8.8	8.6	6	3	1.4
desetilatrizona	100	100	83	80	26	19.1	19	4.4	3.8
2-hidroxiatrizona	100	98	86	62	13	9	9	4.8	4.0
cianazina	102	100	100	86	86	73	70.3	8	10.7
simazina	104	100	100	95	100	89	63	17.8	15.7
hexaxinona	---	---	---	100	101	91	63	30	23.3
atrazina	---	---	---	100	100	100	98	*60	49.7
desmedifam	---	---	---	100	100	94	100	>100mL	75.1
simetrina	---	---	---	100	99	93	94	*25	36.8
propazina	---	---	---	100	100	104	101	>100mL	116.4
terbutilazina	---	---	---	100	100	100	101	>100mL	160.6
prometrina	---	---	---	100	100	94	101	>100mL	343.3

Como se observa en los resultados, a medida que aumenta la polaridad del compuesto el  $V_f$  tiende a disminuir, y los compuestos con  $\log k'_w > 3$  tienen  $V_f$  experimental mayores a los 100 mL.

Por lo que para este estudio sólo se pudieron medir los volúmenes de fuga para los compuestos que presentaban el valor de  $\log$  de  $k'_w \leq 2.5$ . Los resultados obtenidos ponen en evidencia la limitación de la sílice C18 para la retención de los compuestos polares. En cambio, los compuestos con un  $\log k'_w > 3$  son bien retenidos. Las curvas de estos resultados se presentan en las figuras 11 y 12.

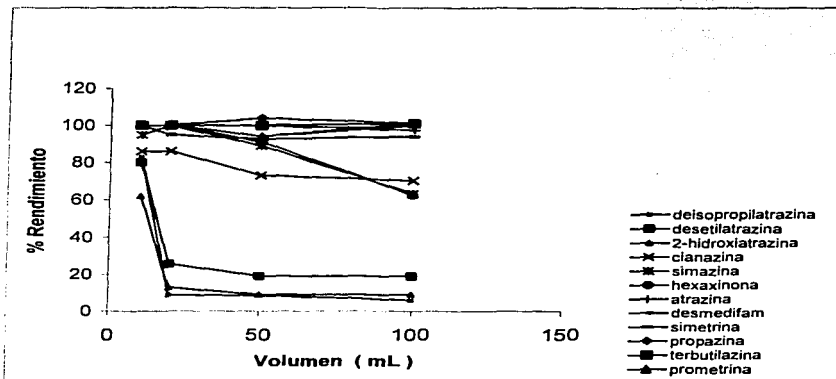


Figura 11. Gráfica de rendimientos de la extracción en función de volumen en cartucho de

100mg.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

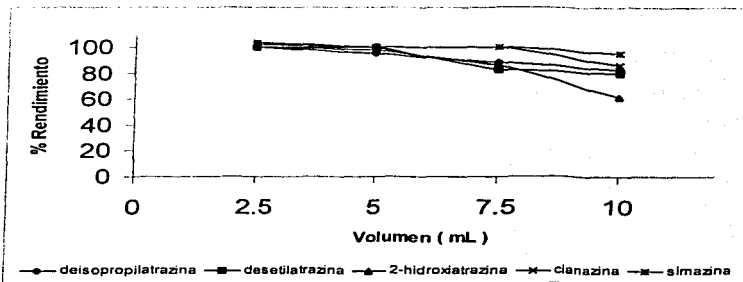


Figura 12. Gráfica de rendimientos de la extracción en función de volúmenes menores a 10mL para 5 triazinas en cartucho de 100mg.

Al igual que en el cartucho de 100mg, con el cartucho de 500mg, los volúmenes de muestra aplicados se seleccionaron de acuerdo a los  $V_r$  calculados. Solo con los compuestos polares se emplearon volúmenes inferiores a 10 mL para poder determinar los volúmenes de fuga. Los resultados de los rendimientos se muestran en la tabla 5 y en las figuras 13-14.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Tabla 5. Rendimientos obtenidos de la preconcentración de diferentes volúmenes de muestra de plaguicidas en un cartucho de 500mg empacado con sílice C<sub>18</sub>

HERBICIDA	% Rendimiento V <sub>0</sub> =0.6 mL									
	2.5mL	5mL	7.5mL	10mL	50mL	100mL	200mL	300mL	Vf exp (mL)	Vf calc. (mL)
deisopropilatrizona	101	103	95	71	31	22	12	9	6.2	6.8
desetilatrizona	100	103	95	81	60	59	32	27	6.5	19.1
2-hidroxiatrizona	100	100	90	75	29	22	10	11	6	20.0
cianazina	100	103	97	100	93	99	82	70	94	53.3
simazina	101	100	99	100	91	95	89	93	100	78.7
hexaxinona	-	-	-	100	101	99	93	91	130	116.3
atrazina	-	-	-	100	100	99	94	100	n.d.	248.3
desmedifam	-	-	-	100	100	95	90	90	n.d.	375.7
simetrina	-	-	-	100	93	96	95	92	170	184.2
propazina	-	-	-	100	99	97	99	100	>300	581.8
terbutilazina	-	-	-	100	92	100	100	98	>300	802.9
prometrina	-	-	-	100	94	104	100	100	>300	1716.3

En los resultados podemos observar que no hubo cambios notables en los V<sub>f</sub> para los metabolitos mucho más polares (1 a 3), en relación con los resultados obtenidos con el cartucho de 100mg, ya que también son inferiores a 10 mL, por lo que se evidencia la insuficiente retención para los compuestos polares. Teóricamente el V<sub>f</sub> calculado es mayor, probablemente porque en la práctica la retención de ciertos analitos polares depende del flujo utilizado y requieren mayor tiempo para interaccionar con la fase estacionaria en estos cartuchos pequeños. Por el contrario, la cianazina y la simazina mejoran notablemente su retención, al igual que los siguientes compuestos.

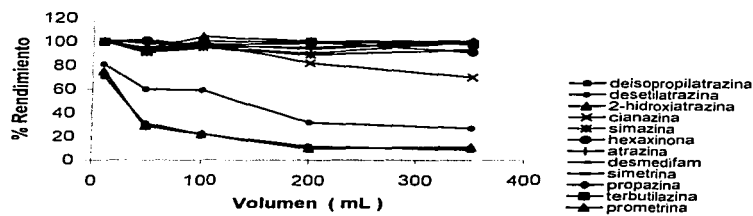


Figura 13. Gráfica de rendimientos de la extracción en función de volumen en cartucho de 500mg.

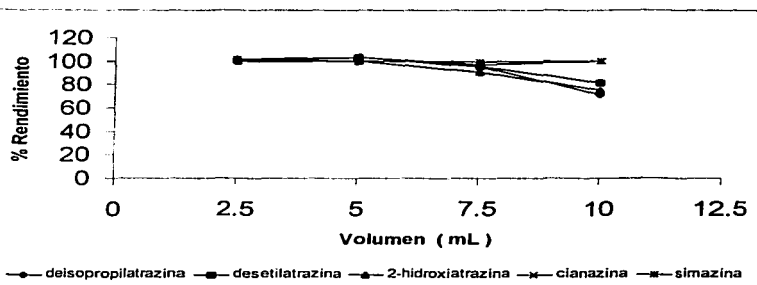


Figura 14. Gráfica de rendimientos de la extracción en función de volúmenes menores a 10 mL para 5 triazinas en cartucho de 500mg.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Para el cartucho de 1000mg se observaron volúmenes de fuga mayores a los 10 mL para los plaguicidas. Los resultados de los rendimientos obtenidos a diferentes volúmenes se muestran en la tabla 6. Para determinar con mayor certeza el  $V_f$  del compuesto más polar, la deisopropilatrizona, se realizó otra curva con volúmenes entre 10 y 50 mL (tabla 7).

Tabla 6. Rendimientos obtenidos de la preconcentración de diferentes volúmenes de muestra de muestra de plaguicidas en un cartucho de 1000mg.

HERBICIDA	% Rendimiento $V_0 = 1.2 \text{ mL}$							
	10mL	50mL	100mL	200mL	300mL	600mL	Vf exp (mL)	Vf cal. (mL)
deisopropilatrizona	101	80	75	70	40	17	18	13.6
desetilatrizona	100	100	93	83	65	50	55	38.2
2-hidroxiatrizona	100	100	95	90	83	62	60	39.9
cianazina	100	100	100	99	90	80	180	106.6
simazina	100	100	100	100	96	98	220	157.5
hexaxinona	100	100	100	99	100	99	320	232.6
atrizona	100	100	97	100	92	97	=350	496.7
desmedifam	100	91	100	100	100	99	>600	751.4
simetrina	100	100	91	101	98	99	>600	368.3
propazina	100	95	99	100	99	101	>600	1163.5
terbutilazina	100	95	98	100	100	98	>600	1605.9
prometrina	100	94	101	100	98	98	>600	3432.6

Tabla 7. Rendimientos obtenidos de la preconcentración de diferentes volúmenes de muestra para la deisopropilatrizona en cartucho de 1gr.

HERBICIDA	% Rendimiento			
	10mL	20mL	40mL	50mL
deisopropilatrizona	101	98	90	80

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Con estos resultados es claro que al aumentar la cantidad de adsorbente aumenta de manera proporcional el  $V_r$  de los compuestos. Para los más polares se observa que la retención es mucho mayor en relación a las anteriores cantidades de adsorbente. Así por ejemplo se tiene un rendimiento de 100% para la 2-hidroxiatrazina con 50 mL y del 90% con 200 mL. En el caso anterior con 500 mg se tenían 29 y 10% respectivamente. Para los demás compuestos, por tener un carácter menos polar, su retención es buena aun con cantidades de adsorbentes menores.

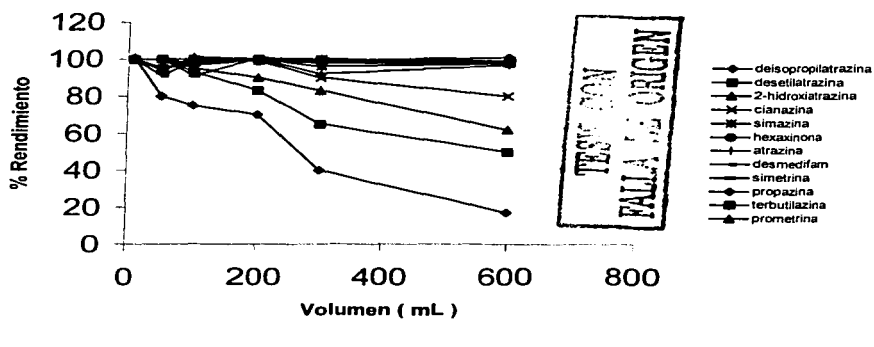


Figura 15. Gráfica de rendimientos de la extracción en función de volumen en cartucho de 1000mg.

De la tabla 8 se observa que los valores de  $V_r$  y  $V_f$  calculados se aproximan bastante a los  $V_r$  experimentales para los plaguicidas. Para estos plaguicidas más polares se correlacionaron  $V_r$  calculados vs  $V_f$  experimentales. Los coeficientes de correlación que se presentaron con las diferentes cantidades de adsorbente fueron de 0.904, 0.902 y 0.998 para 100mg, 500mg y 1000mg respectivamente permitiendo corroborar que al aumentar la cantidad de adsorbente el valor de  $V_r$  aumenta de manera lineal como se observa en las figuras 16,17 y 18.

Tabla 8. Valores de  $V_r$  experimental y  $V_r$  calculados para algunos plaguicidas en sílice  $C_{18}$

HERBICIDA	100mg			500mg			1000mg		
	$V_r$ exp.	$V_r$ teórico	$V_r$ teórico	$V_r$ exp.	$V_r$ teórico	$V_r$ teórico	$V_r$ exp.	$V_r$ teórico	$V_r$ teórico
deisopropilatrizona	3 mL	1.4mL	2.8mL	6.2mL	6.8mL	14 mL	18 mL	13.6mL	27.8 mL
desetilatrizona	4.4 mL	3.8 mL	7.9mL	6,5mL	19.1mL	39.3 mL	55 mL	38.2mL	78.7 mL
2-hidroxiatrizona	4.8 mL	4.0 mL	8.2mL	6mL	20 mL	41.16 mL	60 mL	39.9mL	81.8 mL
cianazina	8 mL	10.7 mL	22mL	94 mL	53.3mL	110.3 mL	180 mL	106.6mL	219.6 mL
simazina	17.8 mL	15.7mL	32.4mL	100 mL	78.7mL	162 mL	220 mL	157.5mL	324.2 mL

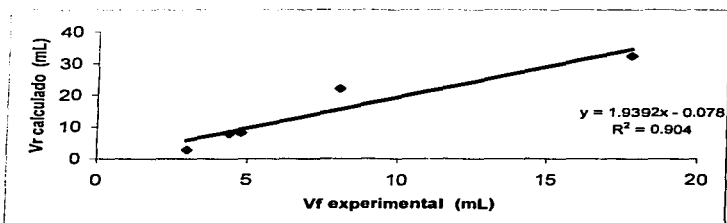


Figura 16. Gráfica de corrección entre  $V_r$  calculado y  $V_r$  experimental en cartucho de 100 mg.

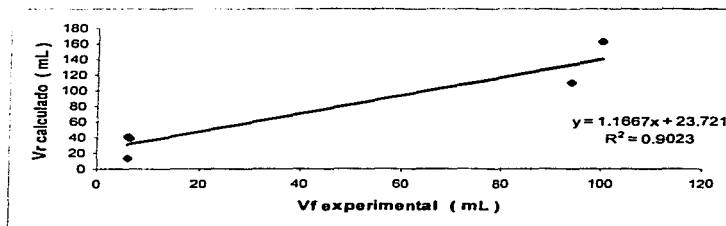


Figura 17. Gráfica de correlación entre  $V_r$  calculado y  $V_r$  experimental en cartucho de 500mg.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



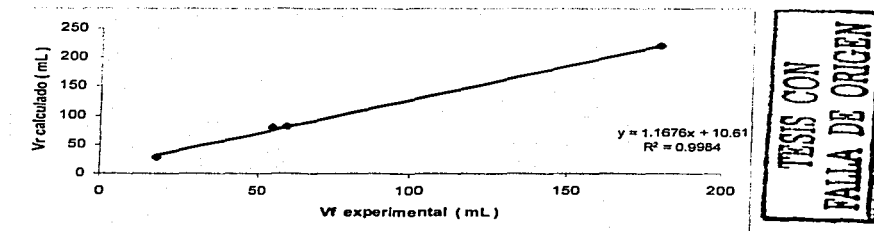


Figura 18. Gráfica de correlación entre  $V_r$  calculado y  $V_r$  experimental en cartucho de 1000mg.

Los resultados obtenidos corroboran que la sílice  $C_{18}$  no es muy útil para preconcentrar los plaguicidas polares ya que es más difícil retenerlos, aunque a medida que aumenta la cantidad de adsorbente los rendimientos son mejores y la correlación entre  $V_r$  experimental y  $V_r$  calculado es mucho mayor.

También se realizaron correlaciones con los valores de  $V_r$  teórico y los  $V_r$  experimentales. Los resultados se representan en las figuras 19, 20 y 21 de donde se observa que existe una tendencia lineal entre estos dos parámetros, los coeficientes de correlación son muy cercanos a la unidad. El  $r$  fue mejor con los datos obtenidos con el cartucho de 1000 mg, al igual que en la correlación  $V_r$  cal vs  $V_r$  exp. Es importante mencionar que los valores de  $V_r$  teóricos se obtuvieron gracias a un programa informático de acuerdo a la referencia Hennion (1998).

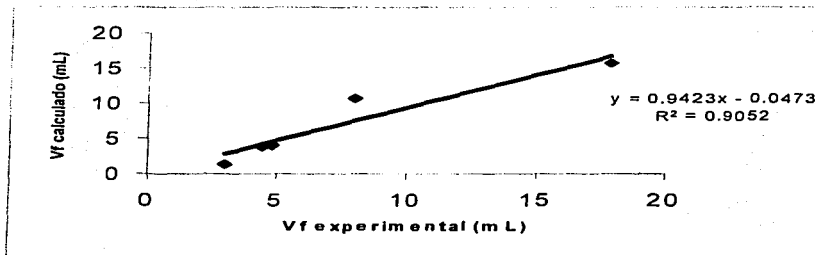


Figura 19. Gráfica de correlación entre Vf calculado y Vf experimental en cartucho de 100mg.

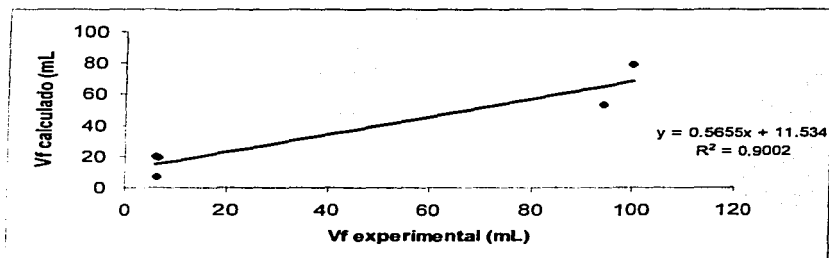


Figura 20. Gráfica de correlación entre Vf calculado y Vf experimental en cartucho de 500mg.

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

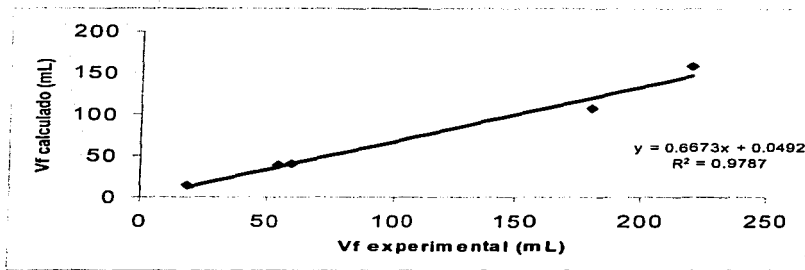
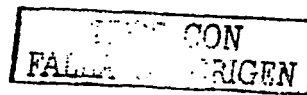


Figura 21. Gráfica de correlación entre Vf calculado y Vf experimental en cartucho de 1000mg.

### 3.3.2. Recobro en función de la cantidad de adsorbente



Los rendimientos de extracción o recobros fueron obtenidos con un volumen fijo de agua grado HPLC con las diferentes cantidades de adsorbente 100, 300, 500, 750 y 1000mg adicionándole una cantidad de 20µg de cada plaguicida, excepto para la simetrina que fue de 10µg. Los resultados para este estudio son presentados en la tabla 9.

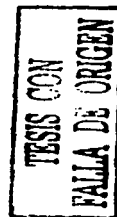
Para este estudio se seleccionaron a los plaguicidas que presentaban  $V_r$  menores, es decir los más polares, de donde se decidió utilizar un volumen fijo de 10 mL, que es el volumen en el cual algunos de ellos fugan. Los plaguicidas con  $V_r$  mayores considerados ( $\log k'w > 2.5$ ) como medianamente polares presentaron rendimientos del 100% para todas las cantidades de adsorbente y el volumen seleccionado para este estudio. Para estos no fue necesario calcular su  $V_r$  experimental ya que su retención fue suficiente o muy elevada en sílice C18.

Tabla 9. Rendimientos obtenidos de la preconcentración de diferentes cantidades de adsorbente con un volumen de muestra de 10mL de los 5 plaguicidas polares en cartuchos empacados con sílice C<sub>18</sub>.

HERBICIDA	% Rendimiento				
	100mg	300mg	500mg	750mg	1000mg
1) deisopropilatrazina	83	90	95	100	101
2) desetilatrazina	80	87	92	97	100
3) 2-hidroxiatrazina	62	69	77	84	100
4) cianazina	86	91	98	100	100
5) simazina	95	98	100	100	100

Tabla 10. Correlaciones

HERBICIDA	a	b	r
1) deisopropilatrazina	81.3	0.258	0.9912
2) desetilatrazina	783	0.258	0.9912
3) 2-Hidroxiatrazina	58.9	0.0342	0.9973



Se correlacionaron los resultados obtenidos para este estudio hasta 750 mg ya que a partir de 1000mg ya no fue necesario porque hay una obtención de los rendimientos del 100% para todos los compuestos, es decir que a esta cantidad de adsorbente ya no hay fuga con el volumen utilizado. Por lo tanto, esto sólo se realizó para las tres primeras triazinas; para las dos últimas se observa que a partir de 500 mg el recobro es del 100%.

La figura 22 representa las curvas de %R en función de la cantidad de adsorbente.

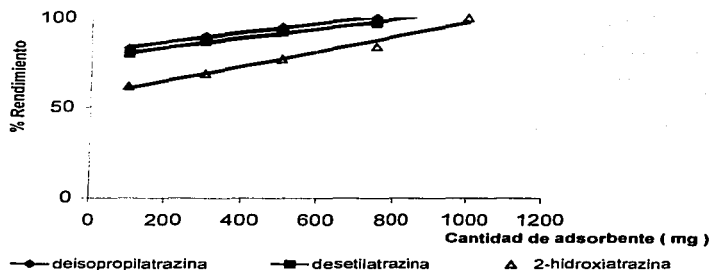


Figura 22. Rendimientos de extracción de diferentes cantidades de adsorbente con un volumen de 10 mL.

La sílice C18, es muy útil para preconcentrar compuestos apolares y medianamente polares este tipo de fases se caracterizan por ser hidrolíticamente estables a un pH de 2-8.5. El rendimiento de los analitos puede mejorar cuando la cantidad de adsorbente aumenta, pero no de manera suficiente para los compuestos con  $\log k'_w < 1$ ; para estos es más recomendable utilizar otro tipo de fases como por ejemplo polímeros como el PRP-1 o PLRP-S, los cuales son adsorbentes estables en un amplio intervalo de pH 1-14, mayor que el de las sílices. Además el factor de retención de los compuestos pueden ser 20 y 50 veces mayor que los de las sílices C18 para compuestos con anillos aromáticos o que puedan tener interacciones  $\pi-\pi$  con el adsorbente.

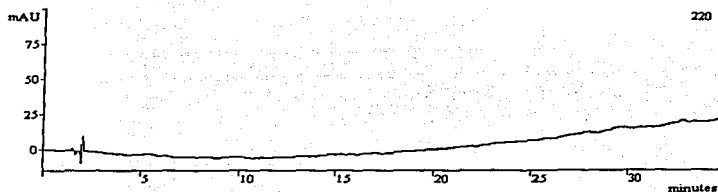
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 3.4. Aplicación del método a muestras de agua reales

Un protocolo de preconcentración y análisis fue aplicado a 2 diferentes muestras de agua potable como son de la red de distribución de Ciudad Universitaria y agua de pozo, con la finalidad de observar la utilidad del estudio para determinar a los plaguicidas a nivel trazas en diferentes tipos de agua.

El volumen con el que se trabajó fue el de 200mL de muestra adicionado con los estándares a una concentración de 10 ppb y una muestra (blanco) sin adicionar en un cartucho de 1000mg. También fue inyectado directamente un control con la misma cantidad de plaguicidas que se esperaba tener en los extractos. Los cromatogramas de las preconcentraciones se muestran en las figuras 20 y 21.

a)



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

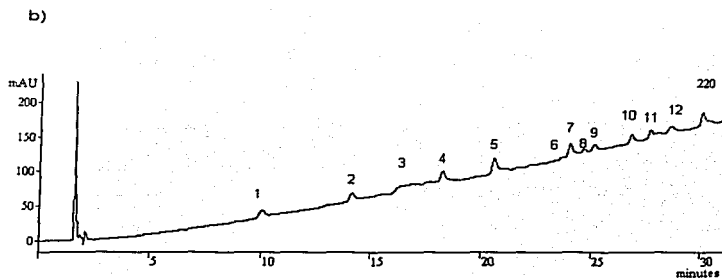


Figura 20. Preconcentración de 200 mL de agua potable (de la red de distribución de Ciudad Universitaria), a) sin adición de los plaguicidas b) adicionada con estándares de los plaguicidas a una concentración de 10 ppb. Condiciones de análisis e identificación de los picos igual que en la figura 7 y 8.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

ESTADO DE GUATEMALA  
UNIVERSIDAD DE LA AMÉRICA CENTRAL

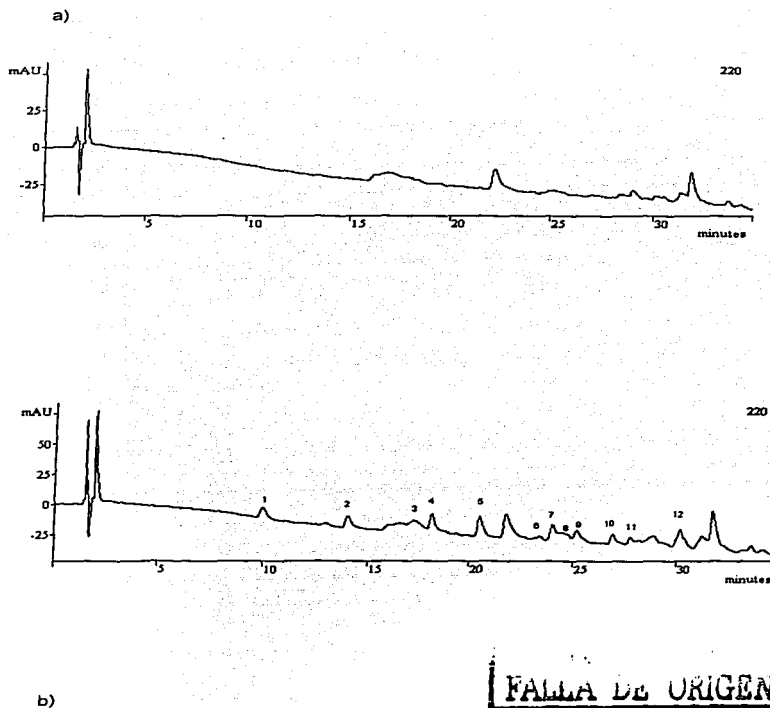


Figura 21. Preconcentración de 200 mL de agua de pozo (Valle de bravo), a) sin adicionar los plaguicidas b) adicionada con estándares de los plaguicidas a una concentración de 10 ppb. Condiciones de análisis e identificación de los picos igual que en la figura 7 y 8.



Como se puede observar en los cromatogramas, los picos de los plaguicidas se diferencian del ruido de la línea base, por lo que a esta concentración tan baja se pueden determinar los plaguicidas en estudio en estos tipos de agua. Para evitar la menor cantidad de interferentes, la muestra de agua de pozo fue filtrada en una membrana de nylon con un tamaño de poro 0.45  $\mu\text{m}$ , previamente acondicionada con metanol y después con agua desionizada, aunque se puede observar en el cromatograma sin adición de plaguicidas, que hay más interferentes en este tipo de agua que en el agua potable.

En este estudio, la selección de la cantidad de adsorbente dependió de aquella en la cual los compuestos tuvieran una mejor retención; en este caso se obtuvieron mejores resultados con un cartucho de 1000mg y con un volumen de 200 mL. Al comparar los rendimientos obtenidos con las muestras reales y los obtenidos con agua pura, se observó que son parecidos, todos mayores al 70%. El tipo de agua no modificó considerablemente la magnitud de los recobros debido a que las aguas potables y subterráneas poseen una cantidad baja de materia orgánica disuelta. En otros tipos de agua como las superficiales se debe realizar una evaluación de cómo varía R con respecto a los valores del agua pura y una cuantificación por adiciones estándar, debido a que en algunos trabajos se han reportado variaciones en los recobros dependientes de la concentración de ácidos húmicos presentes ( Li *et al*, 2001).

Tabla 11. Rendimientos obtenidos de los diferentes tipos de agua en cartucho de 1000mg.

HERBICIDA	% Rendimiento con agua de C.U.	% Rendimiento con agua de pozo
deisopropilatrizona	75	71
desetilatrizona	81	76
2-hidroxiatrizona	93	87
cianazina	96	88
simazina	100	100

## CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES

- ✦ Se ha demostrado que el  $k'_w$  es un parámetro importante y útil a considerar en la Extracción en Fase Sólida cuando se manejan muestras acuosas, ya que permite hacer predicciones de los  $V_r$  y de aquí las aproximaciones al  $V_i$ , parámetro de la EFS.
- ✦ Se debe considerar que existe una variación lineal de los parámetros con la cantidad de sílice C18 para poder realizar las predicciones y comparar diferentes datos obtenidos de la literatura.
- ✦ Debido a que los valores entre  $V_r$  se aproximan a los de  $V_i$  experimental es posible realizar predicciones simples y válidas y evitar el efectuar los ensayos y error tan comunes que provocan pérdida de tiempo y dinero.
- ✦ Una determinación de los plaguicidas triazínicos a nivel traza en muestras acuosas es posible por medio de la CLAE estableciendo las condiciones adecuadas para ello como volumen de muestra y cantidad de adsorbente.
- ✦ Los plaguicidas con  $\log k'_w < 2$  no se pueden preconcentrar con este adsorbente, porque su retención es demasiado débil y los plaguicidas con  $\log k'_w$  entre 2 y 3 pueden preconcentrarse si se selecciona la cantidad apropiada de adsorbente.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- **Barbéra Claudio.** Pesticidas agrícolas. México 1989. Ed. Omega. pag 423,485-489.
- **Braumann Thomas.** 1986. Determination of hydrophobic parameters by reversed-phase liquid chromatography: Theory, experimental techniques, and application in studies on quantitative structure-activity relationships. *J. Chromatogr. A.* 373:191-225.
- **Biziuk M., Przyjazny A., Czerwinski J. and Wierowski M.** 1996. Occurrence and determination of pesticides in natural and treated waters. *J. Chromatogr. A.* 754: 103-123.
- **Buchheit Junker and Witznbacher M.** 1996. Pesticide monitoring of drinking water with the help of solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 737:67-74.
- **Conlon R.D.** Introducción a la cromatografía líquida. 1981. Perkin-Elmer pag 17-27, 33-45, 182-186, 197-200.
- **Coquart V., García Camacho P. and Hennion M-C.** 1993. Trace-level determination of hydroxyatrazine and dealkylated degradation products of atrazine in waters. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 52: 99-112.

- **Chiron S. Fernandez A. and Barceló D.** 1993. Comparison of on-line solid-phase disk extraction to liquid-liquid extraction for monitoring selected pesticides in environmental waters. *Environ. Sci. Technol.* 27:2352-2359.
- **Dean John, Wade G. and Barnabas I.** 1996. Determination of triazine herbicides in environmental samples. *J. Chromatogr. A.* 733: 295-335.
- **Hennion M-C. and Coquart V.** 1993. Comparison of reversed-phase extraction sorbents for the on-line trace enrichment of polar organic compounds in environmental aqueous samples. *J. Chromatogr. A.* 642: 211-224.
- **Hennion M-C. and Pichon V.** 1994. Solid-phase extraction of polar organic pollutants from water. *Environ. Sci. Technol.* Vol 28, num. 13.
- **Hennion M-C., Coumes C. and Pichon V.** 1998. Trace analysis of polar organic pollutants in aqueous samples tools for the rapid prediction and optimisation of the solid-phase extraction parameters. *J. Chromatogr. A.* 823: 147-161.
- **Klimmer Q. R.** Plaguicida : Toxicología sintomatología y terapia. 1998. Ed. Vilassar de mar- Barcelona- España. pag 17.
- **Legrand M.F., Costentin E. And Bruchet A.** 1991. Occurrence of 38 pesticides in various French surface and ground waters. *Environ. Sci. Technol.* 12: 985-996.
- **Li N. and Lee Kee.** 2001. Solid- phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water. Negative effect of humic acid. *J. Chromatogr. A* 921:255-263.

- **Matsui Jun, Fujiwara K., Ugata Satoshi, and Takeuchi T.** 2000. Solid-phase extraction with a dibutylmelamine-imprinted polymer as triazine herbicide-selective sorbent. *J. Chromatogr. A.* 889:25-31.
- **McLaughlin R.A. and Johnson B.S.** 1997. Optimizing recoveries of two chlorotriazine herbicide metabolites and 11 pesticides from aqueous samples using solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 790: 161-167.
- **Nélieu Sylvie, Stobiecki Maciej y Einhorn Jacques.** 2000. Tandem solid-phase extraction of atrazine ozonation products in water. *J. Chromatogr. A.* 866:195-201.
- **Noble Alan.** 1993. Partition coefficients (n-octanol-water) for pesticides. *J. Chromatogr.* 642:3-14.
- **Pacáková Vera, Stulík Karel and Jístra J.** 1996. High-performance separations in the determination of triazine herbicides and their residues. *J. Chromatogr. A.* 754:17-31.
- **Pinto F. Gláucia Maria y S.F. Isabel Cristina.** 2000. Use of solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography for the determination of triazine residues in water: validation of the method. *J. Chromatogr. A.* 869: 463-469.
- **Poole Colin F., Gunatileka Ajith D. and Sethuraman R.** 2000. Contribuciones of theory to method development in solid-phase extraction. *J. Chromatogr. A.* 885:17-39.
- **Sabik Hassan, J. Roger, R. Bernard.** 2000. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. *J. Chromatogr. A.* 885:217-236.

- **Schottler S., Eisenreich S. and Capel P.** 1994. Atrazine, alachlor, and cianazine in a large agricultural river system. *Environ. Sci. Technol.* 28:1079-1089.
- Skoog Douglas A., West D. M. y Holler.** *Fundamentos de Química Analítica.* 1996. 4 edición, editorial Reverte pag 710-713.
- **Skoog Douglas A. y West D. M.** *Química Analítica.* 1989. 4 edición, editorial McGraw Hill pag 532-533, 537, 551-553, 554-555.
- **Skoog Douglas A. y Leary James J.** *Análisis instrumental.* 1994. 4 edición, editorial McGraw-Hill pag 731-768.
- **Skoog Douglas, Holler J.F. y Nieman T.A.** *Principios de análisis instrumental.* 1998. 5 edición, editorial McGraw-Hill pag 800-808.
- **Tadeo J.L., Sánchez Brunete C., Pérez R.A. and Fernández M.D.** 2000. Analysis of herbicides residues in cereals, fruits and vegetables. *J. Chromatogr. A.* 882:175-191.
- **Vandecasteele Karel, Gaus Irina, Debreuck William and Walraevens K.** 2000. Identification and quantification of 77 pesticides in groundwater using solid phase coupled to liquid-liquid microextraction and reversed-phase liquid chromatography. *Anal. Chem.* 72: 3093-3101.
- **Vreus J., Salan J.S., Ventura, and Barcelo D.** 1998. Monitoring of pesticides in river water using fully automated on-line solid-phase extraction and liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 795: 71-82.

- Willard H., Merritt Lynne L. and Dean John A. Métodos instrumentales de análisis .México 1984.. Editorial Continental. Pag 561-584.

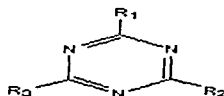
- Willard H., Merritt Lynne L. and Dean John A. Métodos instrumentales de análisis. México 1986. Editorial Continental. Pag 553-577, 453-461.

## **APÉNDICE A**

### **PROPIEDADES DE LOS PLAGUICIDAS**



## TRIAZINAS



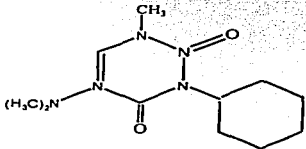
TEMS CON  
 FALLA DE ORIGEN

Propiedades fisicoquímicas y fórmulas correspondientes a estos derivados abreviadas señalando sólo los sustituyentes correspondientes al esqueleto

Producto	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Propiedades fisicoquímicas
deisopropilatrazina	-Cl	-NH-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-NH <sub>2</sub>	Sólido, p.f. 174-176 °C. Solubilidad en agua: No reportada. Soluble en disolventes orgánicos. Presión de vapor: No reportada pka: 1.3      log P: 1.2
desetilatrazina	-Cl	-NH <sub>2</sub>	-NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Sólido, p.f. 132-134°C. Solubilidad en agua: No reportada. Soluble en disolventes orgánicos. Presión de vapor: No reportada pka: 1.3      log P: 1.6
2-hidroxiatrazina	-OH	-NH-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Sólido, p.f. 310< °C. Solubilidad en agua: No reportada. Poco soluble en disolventes orgánicos como metanol y acetonitrilo. Presión de vapor: No reportada pka: 5.2      log P: 1.4
cianazina	-Cl	-NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	-NH-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -CN	Sólido, p.f. 167 °C. Solubilidad en agua: 171 ppm. Soluble en cloroformo y metil ciclohexano. Presión de vapor 1.6 x 10 <sup>-9</sup> pka: --      log P: 1.8
simazina	-Cl	-NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	-NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	Sólido cristalino, p.f. 225-227 °C. Solubilidad en agua: 5 ppm. Ligeramente soluble en disolventes orgánicos: (cloroformo, dioxano). Presión de vapor: 6.1 x 10 <sup>-9</sup> / 20° Presión de vapor: 9 x 10 <sup>-7</sup> / 50° pka: 1.65      log P: 2.3

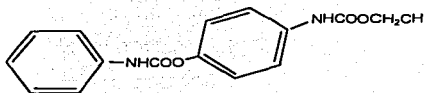
atrazina	-Cl	-NH-CH-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	Sólido, p.f. 175-177°C. Solubilidad en agua: 30ppm. Soluble en metanol, cloroformo. Presión de vapor: $3 \times 10^{-7}/20^{\circ}$ . Presión de vapor: $2.3 \times 10^{-5}/50^{\circ}$ pka: 1.68 log P: 2.7
simetrina	-SCH <sub>3</sub>	-NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	-NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	Sólido cristalino, p.f. 82-83. Solubilidad en agua: 450ppm. Soluble en disolventes orgánicos. Presión de vapor: $7.1 \times 10^{-7}/20^{\circ}$ pka: 4 log P: 2.8
prometón	-OCH <sub>3</sub>	-NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Sólido, p. f. 91-92 °C. Solubilidad en agua: 6ppm. Soluble en disolventes orgánicos. Presión de vapor: 0.36 mPa pka: — log P: —
propazina	-Cl	-NH-CH-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-NH-CH-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Sólido, p. f. 212-214 °C. Solubilidad en agua: 8.6ppm. Soluble en disolventes orgánicos. Presión de vapor: $2.9 \times 10^{-6}/20^{\circ}$ pka: 1.85 log P: 2.91
terbutilazina	-Cl	-NH-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	-NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	Sólido, p.f. 177-179°C. Solubilidad en agua: 5ppm/20° y soluble en disolventes orgánicos. Presión de vapor: $1.12 \times 10^{-6}/20^{\circ}$ pka: 1.94 log P: 3.06
prometina	-SCH <sub>3</sub>	-NH-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-NH-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Sólido, p.f. 118-120 °C. Solubilidad en agua: 45ppm. Soluble en disolventes orgánicos. Presión de vapor: $1 \times 10^{-6}/20^{\circ}$ pka: 4.05 log P: 3.34

\*Presión de vapor : mm de Hg.

 <p>hexazinona</p>	<p>Sólido, p. f. 115-117 °C. Solubilidad en agua: 33000ppm. Soluble en disolventes orgánicos. Presión de vapor: <math>2 \times 10^{-5}/25^{\circ}</math> mm de Hg. pka: no reportado log P: no reportado</p>
---	--

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## CARBAMATO



desmedifam

Sólido, p. f. 120 °C.  
Solubilidad en agua: 9ppm.  
Soluble en disolventes orgánicos.  
Presión de vapor: 400nPa.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**APÉNDICE B**

**ESPECTROS DE ABSORCIÓN EN LA REGIÓN DE  
U.V. PARA LOS PLAGUICIDAS EN ESTUDIO**

## Spectrum Plot Report

## Spectrum # 3

File: c:\star\module04\isabe038.run  
 IR: 2.740 min PuP (220->367 nm) = 224.230 nm  
 Name: deisopropilatrazina60MeOH

Instrument: Arreglo de diodos  
 Method: ISABEL.MTH  
 Operator: Isa  
 Run Date: 27-AUG-1 4:28 PM

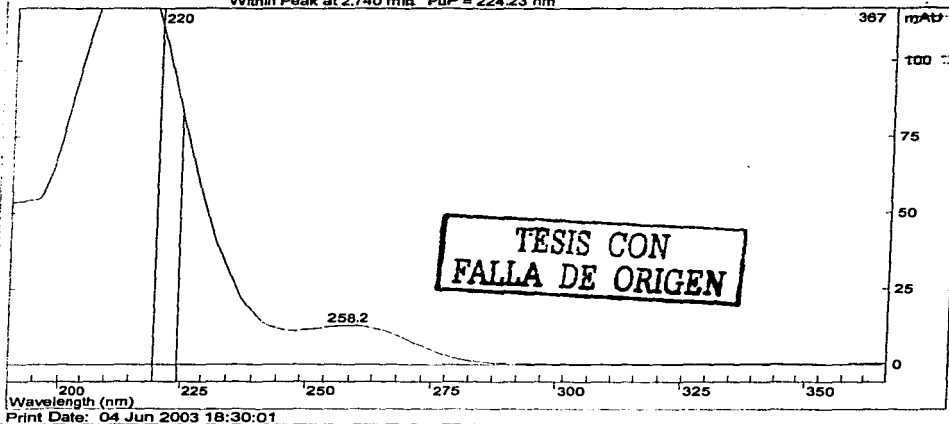
Scan Rate: 10.851 Hz Bunch: 4 Data Rate: 2.713 Hz  
 Detector Range: 190->367 nm Valid Range: 220->367 nm  
 Spectrum Type: Within Peak Correction Type: Baseline

Absorbance Table							
nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU
190	53.456	229	53.459	268	9.579	306	0.237
195	54.380	234	31.064	273	6.237	311	0.253
200	74.464	239	17.543	278	3.322	316	0.214
205	105.274	244	12.144	282	1.530	320	0.206
210	129.172	249	11.428	287	0.674	325	0.178
215	131.133	254	12.351	292	0.345	330	0.268
220	111.578	258	13.021	297	0.252	334	0.317
224	81.852	263	12.131	302	0.252	339	0.272

Channel Range: 220 to 367 nm Absorbance Range: 0.1756 to 111.58 mAU

Max Wavelength (nm): 258.15  
 Percent of Max Abs.: 11.7%

Within Peak at 2.740 min PuP = 224.23 nm



## Spectrum Plot Report

Spectrum # 3

File: c:\star\module04\lsabe038.run  
 tR: 3.508 min PuP (220->367 nm) = 224.294 nm  
 Name: desetilatraz60MeOH

Instrument: Arreglo de diodos  
 Method: ISABEL.MTH  
 Operator: Isa  
 Run Date: 28-AUG-1 11:29 AM

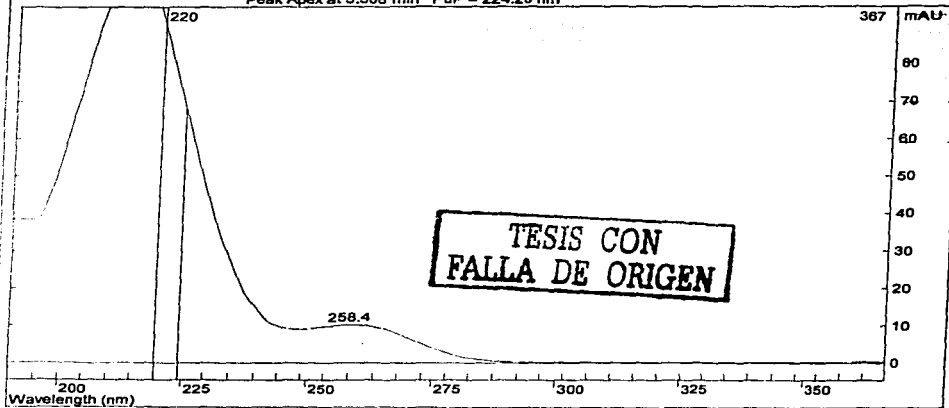
Scan Rate: 10.851 Hz Bunch: 4 Data Rate: 2.713 Hz  
 Detector Range: 190->367 nm Vald Range: 220->367 nm  
 Spectrum Type: Peak Apex Correction Type: Baseline

Absorbance Table							
nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU
190	38.541	229	44.858	268	7.800	306	0.144
195	38.498	234	26.474	273	5.113	311	0.168
200	55.985	239	14.897	278	2.789	316	0.153
205	81.306	244	9.982	282	1.361	320	0.200
210	101.248	249	8.132	287	0.641	325	0.166
215	104.506	254	9.762	292	0.310	330	0.185
220	90.726	258	10.278	297	0.174	334	0.202
224	67.804	263	9.698	302	0.212	339	0.193

Channel Range: 220 to 367 nm Absorbance Range: 0.1436 to 90.726 mAU

Max Wavelength (nm): 258.38  
 Percent of Max Abs.: 11.3%

Peak Apex at 3.508 min PuP = 224.29 nm



Print Date: 04 Jun 2003 18:33:35

84

## Spectrum Plot Report

Spectrum # 3

File: c:\star\module04\isabe007.run  
 IR: 2.974 min PuP (220->367 nm) = 229.567 nm  
 Name: 2-hidroxiarazina 70MeOH

Instrument: Arreglo de diodos  
 Method: ISABEL.MTH  
 Operator: isa  
 Run Date: 30-AUG-1 1:15 PM

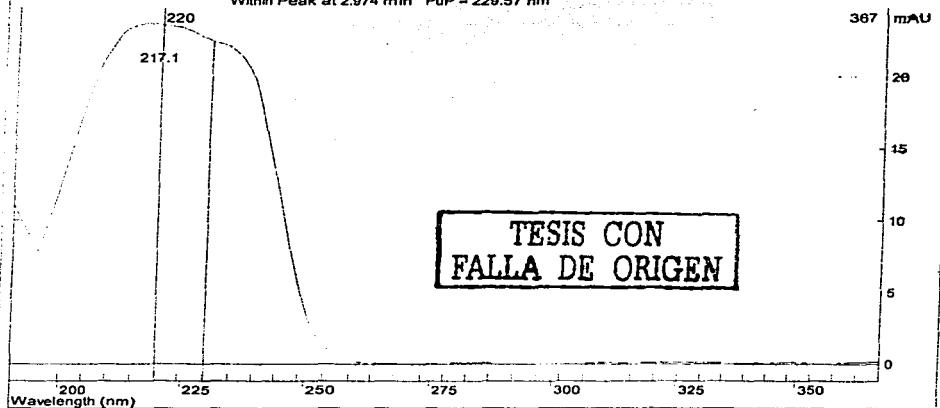
Scan Rate: 10.851 Hz Bunch: 4 Data Rate: 2.713 Hz  
 Detector Range: 190->367 nm Valid Range: 220->367 nm  
 Spectrum Type: Within Peak Correction Type: Baseline

Absorbance Table									
nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU
190	11.038	229	22.556	268	0.038	306	0.092	344	0.080
195	7.874	234	21.854	273	0.037	311	0.125	348	0.143
200	12.696	239	19.264	278	0.081	316	0.092	353	0.087
205	18.219	244	12.536	282	0.101	320	0.103	358	0.062
210	22.229	249	5.142	287	0.095	325	0.151	362	0.146
215	23.667	254	1.361	292	0.079	330	0.121	367	0.164
220	23.668	258	0.292	297	0.079	334	0.094		
224	23.368	263	0.082	302	0.085	339	0.061		

Channel Range: 220 to 367 nm Absorbance Range: 0.0370 to 23.705 mAU

Max Wavelength (nm): 217.07  
 Percent of Max Abs.: 100.0%

Within Peak at 2.974 min PuP = 229.57 nm



Print Date: 04 Jun 2003 18:41:26

## Spectrum Plot Report

## Spectrum # 3

File: c:\star\module04\isabe041.run  
 IR: 4.067 min PuP (220->367 nm) = 224.944 nm  
 Name: cianazinaMeOH

Instrument: Arreglo de diodos  
 Method: ISABEL.MTH  
 Operator: isa  
 Run Date: 28-AUG-1 11:59 AM

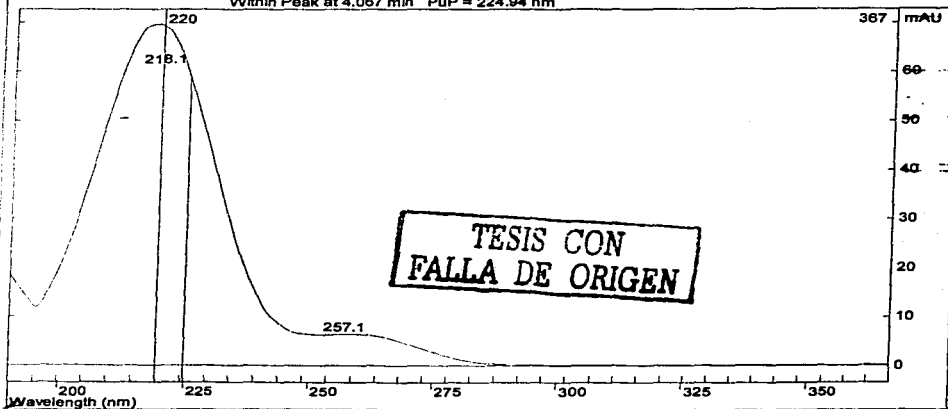
Scan Rate: 10.851 Hz Bunch: 4 Data Rate: 2.713 Hz  
 Detector Range: 190->367 nm Valid Range: 220->367 nm  
 Spectrum Type: Within Peak Correction Type: Baseline

Absorbance Table							
nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU
190	18.369	229	44.923	268	5.010	308	0.101
195	11.864	234	28.360	273	3.452	311	0.145
200	20.015	239	15.493	278	1.947	316	0.066
205	34.962	244	8.741	282	0.931	320	0.145
210	53.015	249	6.569	287	0.426	325	0.090
215	66.756	254	6.347	292	0.214	330	0.103
220	69.211	258	6.441	297	0.143	334	0.099
224	60.319	263	6.085	302	0.132	339	0.160

Channel Range: 220 to 367 nm Absorbance Range: 0.0661 to 69.668 mAU

Max Wavelength (nm): 218.11 257.08  
 Percent of Max Abs.: 100.0% 9.3%

Within Peak at 4.067 min PuP = 224.94 nm



Print Date: 04 Jun 2003 17:38:15



## Spectrum Plot Report

Spectrum # 7

File: c:\startmodule04\isabe042.run  
 IR: 5.763 min PuP (220->367 nm) = 224.746 nm  
 Name: simazina60MeOH

Instrument: Arreglo de diodos  
 Method: ISABEL.MTH  
 Operator: isa  
 Run Date: 28-AUG-1 12:10 PM

Scan Rate: 10.851 Hz Bunch: 4 Data Rate: 2.713 Hz  
 Detector Range: 190->367 nm Valid Range: 220->367 nm  
 Spectrum Type: Peak Apex Correction Type: Baseline

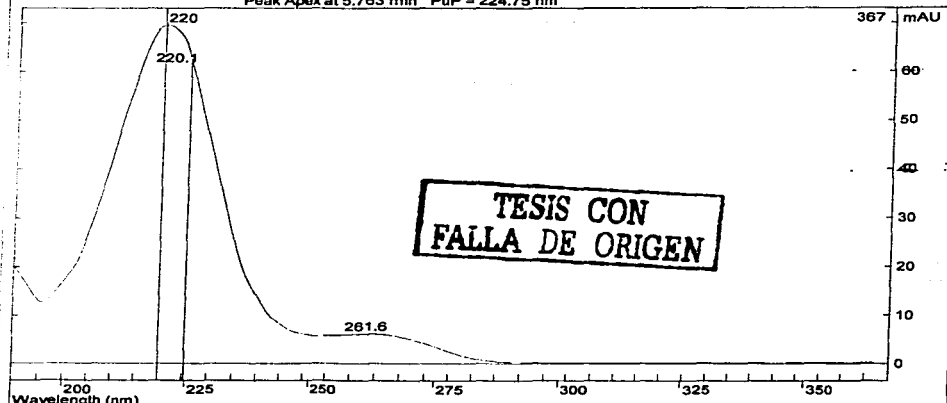
## Absorbance Table

nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU
190	20.198	229	44.955	268	5.491	308	0.142
195	12.939	234	25.543	273	4.198	311	0.108
200	17.047	239	13.846	278	2.557	316	0.115
205	27.315	244	8.277	282	1.183	320	0.130
210	43.103	249	6.192	287	0.474	325	0.158
215	59.904	254	5.773	292	0.227	330	0.128
220	69.368	258	6.015	297	0.152	334	0.168
224	63.732	263	6.115	302	0.128	339	0.158

Channel Range: 220 to 367 nm Absorbance Range: 0.1079 to 69.489 mAU

Max Wavelength (nm): 220.12 261.57  
 Percent of Max Abs.: 100.0% 8.9%

Peak Apex at 5.763 min PuP = 224.75 nm



Spectrum Plot Report

Spectrum # 3

File: c:\star\module04\isabe043.run  
 IR: 7.772 min PuP (220->367 nm) = 241.580 nm  
 Name: hexaxinona60MeOH

Instrument: Arreglo de diodos  
 Method: ISABELMTH  
 Operator: isa  
 Run Date: 28-AUG-1 12:21 PM

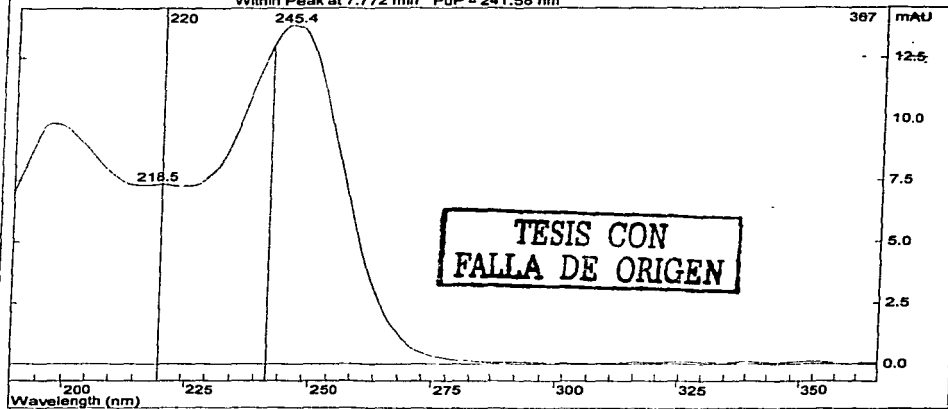
Scan Rate: 10.851 Hz Bunch: 4 Data Rate: 2.713 Hz  
 Detector Range: 190->367 nm Valid Range: 220->367 nm  
 Spectrum Type: Within Peak Correction Type: Baseline

Absorbance Table							
nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU
190	7.044	229	7.687	268	1.214	306	0.028
195	9.575	234	9.318	273	0.465	311	0.025
200	9.875	239	11.852	278	0.243	316	0.086
205	8.773	244	13.707	282	0.136	320	0.057
210	7.771	249	13.244	287	0.072	325	0.095
215	7.324	254	10.135	292	0.081	330	0.083
220	7.354	258	6.060	297	0.064	334	0.048
224	7.279	263	2.915	302	0.037	339	0.094

Channel Range: 220 to 367 nm Absorbance Range: 0.0251 to 13.812 mAU

Max Wavelength (nm): 218.45 245.44  
 Percent of Max Abs.: 53.3% 100.0%

Within Peak at 7.772 min PuP = 241.58 nm



Print Date: 04 Jun 2003 17:49:31

88

## Spectrum Plot Report

## Spectrum # 3

File: c:\star\module04\lsabe044.run  
 tR: 8.202 min PuP (220->367 nm) = 224.900 nm  
 Name: alrazina60MeOH

Instrument: Arreglo de diodos  
 Method: ISABEL.MTH  
 Operator: Isa  
 Run Date: 28-AUG-1 12:36 PM

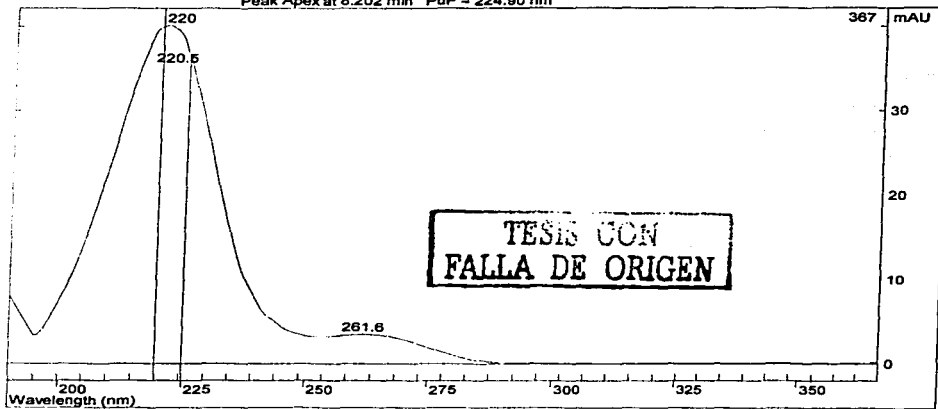
Scan Rate: 10.851 Hz Bunch: 4 Data Rate: 2.713 Hz  
 Detector Range: 190->367 nm Vald Range: 220->367 nm  
 Spectrum Type: Peak Apex Correction Type: Baseline

Absorbance Table							
nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU
180	8.158	229	27.034	268	3.119	308	0.079
195	3.404	234	15.847	273	2.389	311	0.027
200	7.654	239	8.458	278	1.473	316	0.039
205	14.466	244	4.995	282	0.697	320	0.076
210	23.833	249	3.622	287	0.258	325	0.074
215	33.884	254	3.306	292	0.098	330	0.085
220	39.980	258	3.433	297	0.059	334	0.070
224	37.519	263	3.496	302	0.053	339	0.073

Channel Range: 220 to 367 nm Absorbance Range: 0.0285 to 40.173 mAU

Max Wavelength (nm): 220.54 261.59  
 Percent of Max Abs.: 100.0% 8.8%

Peak Apex at 8.202 min PuP = 224.90 nm



Print Date: 04 Jun 2003 17:53:16

Spectrum Plot Report

Spectrum # 3

File: c:\star\module04\ady573.run  
 IR: 2.070 min PuP (220->367 nm) = 234.089 nm  
 Name: 85%PR desmedif

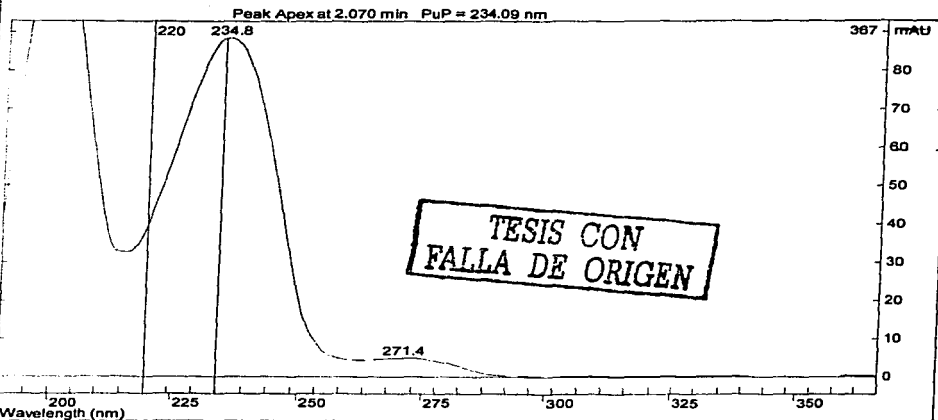
Instrument: Arreglo de diodos  
 Method: ISABEL.MTH  
 Operator: isa  
 Run Date: 12-JUL-2 3:49 PM

Scan Rate: 10.851 Hz Bunch: 4 Data Rate: 2.713 Hz  
 Detector Range: 190->367 nm Valid Range: 220->367 nm  
 Spectrum Type: Peak Apex Correction Type: Baseline

Absorbance Table			
nm	mAU	nm	mAU
190	42.672	229	77.713
195	97.449	234	88.459
200	120.119	239	82.091
205	92.590	244	58.401
210	50.132	249	26.423
215	32.756	254	9.106
220	39.788	258	4.936
224	58.036	263	4.503
		268	4.818
		273	4.972
		278	4.234
		282	2.938
		287	0.995
		292	0.361
		297	0.268
		302	0.290
		306	0.243
		311	0.214
		316	0.244
		320	0.237
		325	0.264
		330	0.244
		334	0.235
		339	0.252
		344	0.303
		348	0.275
		353	0.332
		358	0.298
		362	0.397
		367	0.340

Channel Range: 220 to 367 nm Absorbance Range: 0.2140 to 88.599 mAU

Max Wavelength (nm): 234.83 271.43  
 Percent of Max Abs.: 100.0% 5.7%



Print Date: 04 Jun 2003 17:57:43

90

Spectrum Plot Report

Spectrum # 3

File: c:\star\module04\isabe074.run  
 IR: 3.195 min PuP (220->367 nm) = 228.767 nm  
 Name: simetrin80MeOH

Instrument: Arreglo de diodos  
 Method: ISABEL.MTH  
 Operator: Isa  
 Run Date: 31-AUG-1 12:58 PM

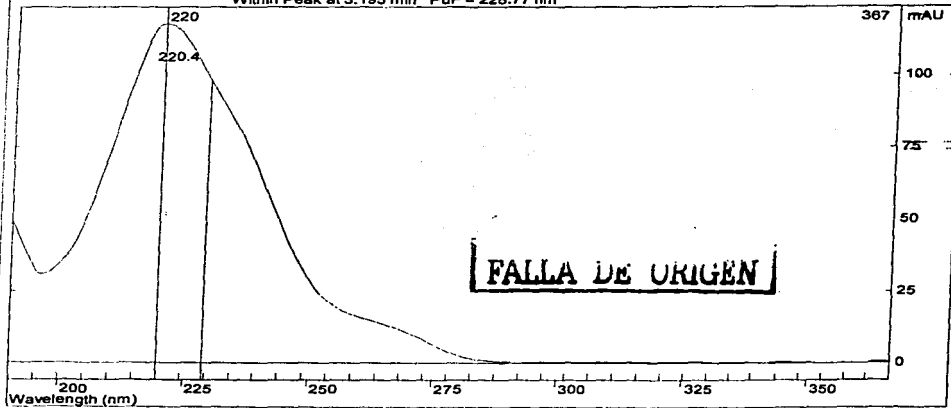
Scan Rate: 10.651 Hz Bunch: 4 Data Rate: 2.713 Hz  
 Detector Range: 190->367 nm Valid Range: 220->367 nm  
 Spectrum Type: Within Peak Correction Type: Baseline

Absorbance Table					
nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU
190	49.342	229	96.454	268	11.762
195	31.999	234	83.770	273	8.129
200	35.261	239	67.425	278	4.228
205	51.117	244	47.830	282	1.688
210	76.383	249	31.579	287	0.697
215	103.655	254	21.673	292	0.397
220	117.599	258	16.838	297	0.303
224	110.846	263	14.391	302	0.295
				306	0.308
				311	0.286
				316	0.280
				320	0.278
				325	0.321
				330	0.285
				334	0.246
				339	0.376
				344	0.355
				348	0.342
				353	0.401
				358	0.453
				362	0.439
				367	0.537

Channel Range: 220 to 367 nm Absorbance Range: 0.2458 to 117.91 mAU

Max Wavelength (nm): 220.35  
 Percent of Max Abs.: 100.0%

Within Peak at 3.195 min PuP = 228.77 nm



Print Date: 04 Jun 2003 18:03:59

**TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN**

91

## Spectrum Plot Report

Spectrum # 3

File: c:\star\module04\isabe046.run  
 IR: 12.214 min PuP (220->367 nm) = 225.043 nm  
 Name: propazina60MeOH

Instrument: Arreglo de diodos  
 Method: ISABEL.MTH  
 Operator: Isa  
 Run Date: 28-AUG-1 1:14 PM

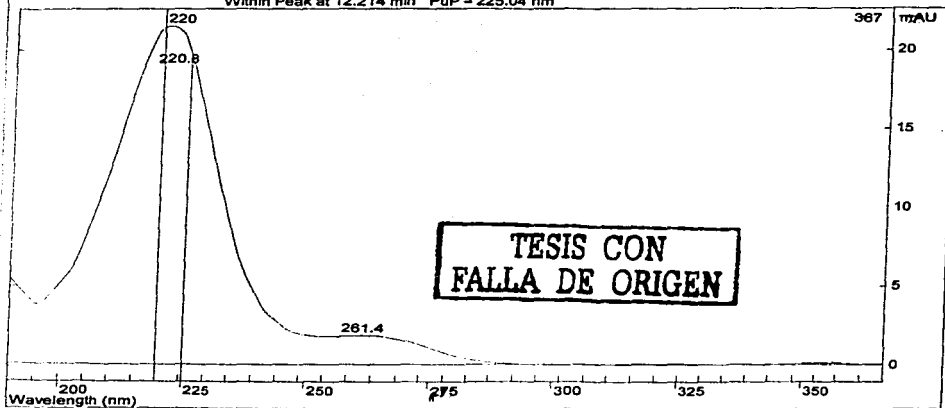
Scan Rate: 10.851 Hz Bunch: 4 Data Rate: 2.713 Hz  
 Detector Range: 190->367 nm Valid Range: 220->367 nm  
 Spectrum Type: Within Peak Correction Type: Baseline

Absorbance Table							
nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU
190	5.494	229	14.998	268	1.623	306	0.032
195	3.881	234	8.844	273	1.277	311	0.003
200	5.219	239	4.781	278	0.766	316	0.030
205	6.174	244	2.777	282	0.370	320	0.020
210	12.818	249	1.987	287	0.152	325	0.048
215	18.065	254	1.795	292	0.024	330	0.009
220	21.384	258	1.814	297	0.005	334	0.001
224	20.315	263	1.839	302	-0.017	339	0.025

Channel Range: 220 to 367 nm Absorbance Range: -0.0171 to 21.528 mAU

Max Wavelength (nm): 220.76 261.39  
 Percent of Max Abs.: 100.0% 8.6%

Within Peak at 12.214 min PuP = 225.04 nm



92

## Spectrum Plot Report

## Spectrum # 3

File: c:\star\module04\isabe047.run  
 (R: 13.867 min PuP (220->367 nm) = 225.515 nm  
 Name: terbutilazina60MeOH

Instrument: Arreglo de diodos  
 Method: ISABEL.MTH  
 Operator: isa  
 Run Date: 28-AUG-1 1:37 PM

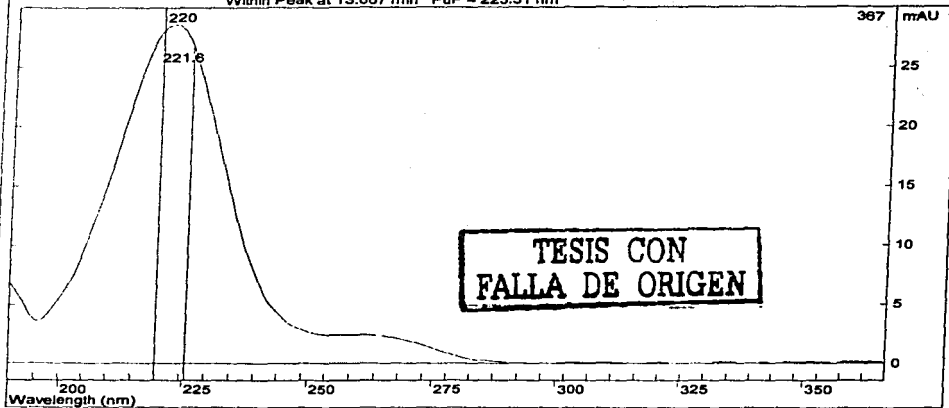
Scan Rate: 10.851 Hz Bunch: 4 Data Rate: 2.713 Hz  
 Detector Range: 190->367 nm Valid Range: 220->367 nm  
 Spectrum Type: Within Peak Correction Type: Baseline

Absorbance Table							
nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU
180	6.900	229	21.588	268	2.090	306	0.078
195	3.695	234	13.508	273	1.564	311	0.068
200	5.600	239	7.515	278	0.902	316	0.104
205	9.633	244	4.256	282	0.384	320	0.078
210	15.858	249	2.861	287	0.199	325	0.101
215	22.995	254	2.432	292	0.093	330	0.104
220	28.053	258	2.395	297	0.103	334	0.119
224	27.685	263	2.380	302	0.083	339	0.096

Channel Range: 220 to 367 nm Absorbance Range: 0.0679 to 28.554 mAU

Max Wavelength (nm): 221.60  
 Percent of Max Abs.: 100.0%

Within Peak at 13.867 min PuP = 225.51 nm



Print Date: 04 Jun 2003 18:14:57

Spectrum Plot Report

Spectrum # 3

File: c:\star\module04\isabe077.run  
 IR: 2.808 min PuP (220->367 nm) = 228.460 nm  
 Name: prometrin90metanol

Instrument: Arreglo de diodos  
 Method: ISABELMTH  
 Operator: Isa  
 Run Date: 31-AUG-1 2:00 PM

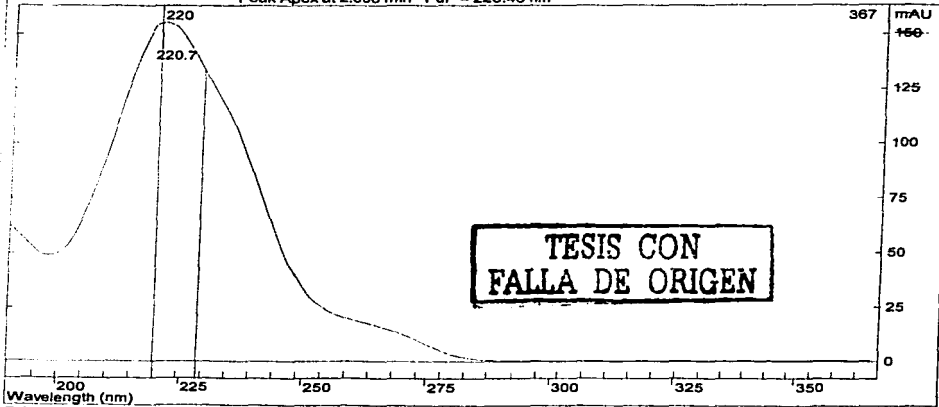
Scan Rate: 10.851 Hz Bunch: 4 Data Rate: 2.713 Hz  
 Detector Range: 190->367 nm Vald Range: 220->367 nm  
 Spectrum Type: Peak Apex Correction Type: Baseline

Absorbance Table							
nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU
190	62.600	229	130.790	268	14.449	306	0.201
195	51.761	234	112.740	273	10.023	311	0.306
200	50.205	239	87.559	278	5.158	316	0.215
205	67.868	244	58.986	282	2.023	320	0.287
210	99.028	249	37.449	287	0.776	325	0.272
215	134.958	254	25.408	292	0.398	330	0.266
220	155.099	258	20.118	297	0.323	334	0.334
224	148.512	263	17.499	302	0.205	339	0.279

Channel Range: 220 to 367 nm Absorbance Range: 0.2010 to 155.96 mAU

Max Wavelength (nm): 220.74  
 Percent of Max Abs.: 100.0%

Peak Apex at 2.808 min PuP = 228.46 nm



Print Date: 04 Jun 2003 18:22:19

94



Spectrum Plot Report

Spectrum # 3

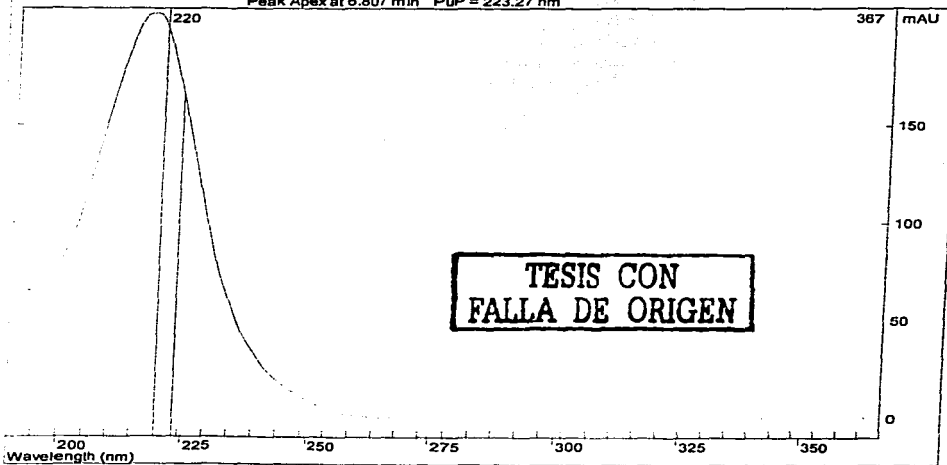
File: c:\startmodule04\ady1033.run  
 tR: 6.807 min PuP (220->367 nm) = 223.267 nm  
 Name: prometon

Instrument: Arreglo de diodos  
 Method: ISABEL.MTH  
 Operator: Isa  
 Run Date: 16-DEC-2 3:09 PM

Scan Rate: 10.851 Hz Bunch: 4 Data Rate: 2.713 Hz  
 Detector Range: 190->367 nm Valid Range: 220->367 nm  
 Spectrum Type: Peak Apex Correction Type: Baseline

Absorbance Table							
nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU	nm	mAU
190	66.588	229	98.121	268	0.241	308	0.207
195	64.808	234	57.762	273	0.239	311	0.210
200	81.994	239	33.351	278	0.189	316	0.211
205	117.807	244	19.259	282	0.170	320	0.213
210	166.527	249	10.853	287	0.151	325	0.215
215	204.123	254	5.138	292	0.209	330	0.217
220	200.079	258	1.764	297	0.213	334	0.199
224	153.849	263	0.592	302	0.223	339	0.299

Peak Apex at 6.807 min PuP = 223.27 nm



Print Date: 04 Jun 2003 18:48:23

95