

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE  
MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

QUIMICA ANALITICA

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## **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 está 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.

# INDICE

|   | pag |
|---|-----|
| I. RESUMEN.   | 1   |
| II. INTRODUCCION.   | 3   |
| 2.1. Antecedentes.  | 3   |
| 2.1.1. Contaminación del agua                             | 3   |
| 2.1.2. Clasificación de contaminantes prioritarios.       | 4   |
| 2.1.3. Análisis químico de contaminantes prioritarios     | 7   |
| 2.1.4. Determinación del potencial mutagénico             | 7   |
| 2.1.5. Métodos de concentración                           | 9   |
| 2.1.6. Métodos de cuantificación y caracterización        | 18  |
| 2.2. Objetivos.   | 20  |
| III. GENERALIDADES.                                       | 21  |
| 3.1. Extracción en fase sólida.                           | 21  |
| 3.1.1. Análisis por desplazamiento                        | 21  |
| 3.1.2. Análisis frontal                                   | 23  |
| 3.1.3. Análisis por elución                               | 24  |
| 3.2. Cromatografía de fases químicamente unidas.          | 26  |
| 3.3. Mecanismo de retención.                              | 30  |
| IV. PARTE EXPERIMENTAL.                                   | 35  |
| 4.1. Materiales y reactivos.                              | 35  |
| 4.2. Diseño y montaje instrumental.                       | 37  |
| 4.3. Acondicionamiento de la columna de concentración.    | 37  |
| 4.4. Estándares.  | 38  |
| 4.5. Muestras.  | 38  |
| 4.6. Cálculo de la eficiencia de recuperación.            | 39  |
| V. PROCEDIMIENTOS DE CONCENTRACION.                       | 41  |
| 5.1. Concentración de ácidos (fenoles).                   | 41  |
| 5.2. Concentración de neutros (aromáticos polinucleares). | 41  |
| 5.3. Concentración de básicos (bencidinas).               | 42  |
| VI. RESULTADOS Y DISCUSION.                               | 45  |
| VII. CONCLUSIONES.  | 76  |
| VIII. BIBLIOGRAFIA  | 79  |

## I. RESUMEN.

En este trabajo se estudió la aplicación de la extracción en fase sólida para la obtención de concentrados de contaminantes orgánicos en agua.

Actualmente hay disponibilidad de utilizar diversos materiales, tales como sílice, alúmina, florisil y fases químicamente unidas, en forma de columnas de longitudes muy pequeñas y de costo relativamente bajo, que ofrecen eficiencias moderadas.

La primera parte del estudio se realizó con muestras sintéticas con compuestos conocidos, con el objetivo de establecer las condiciones óptimas de extracción y de análisis cromatográfico. Se evaluó la eficiencia de recuperación, la capacidad máxima de concentración y la variación en las eficiencias de recuperación al añadir modificadores a las disoluciones.

La segunda parte del estudio consistió en estudiar el comportamiento de los sistemas, con muestras reales obtenidas de una planta de tratamiento de aguas.

Los resultados muestran eficiencias de concentración superiores al 70% y tiempos de operación cortos, permitiendo concluir que estas columnas representan una opción útil y accesible para la preparación de concentrados y, que debido a la sencillez de operación, esta puede implantarse sin ninguna dificultad en cualquier laboratorio.

## ABSTRACT

The application of solid phase extraction to obtain concentrates of organic contaminants in water was studied in this work.

Nowadays there are diverse available materials that offer moderate efficiencies such as silica, alumina, florisol and chemically bonded phases in the form of short and inexpensive columns.

The study was realized, initially, with synthetic samples with known chemicals, to establish the most effective conditions of extraction and chromatographic analysis. The recovery efficiency, the maximum concentration capacity and the variation of recovery efficiency by adding modifiers to the solutions was evaluated.

The behavior of the systems with real samples obtained from a wastewater treatment plant was also studied.

The obtained results indicate a concentration efficiencies higher than 70% and with short times of operation allows conclude that these columns represent a useful and accesible option to prepare the concentrates, and since the operation is simple, this method can be implanted without difficulty in any laboratory.

## II. INTRODUCCION.

### 2.1. Antecedentes.

#### 2.1.1. Contaminación del agua.

La distribución en el ambiente de productos químicos naturales y sintéticos provoca la contaminación del agua. Su variado origen: el uso generalizado de productos químicos en la industria, los servicios y la agricultura, la acumulación de aguas de desecho, los derrames accidentales, los desperdicios de materia orgánica y la extracción y transformación de combustibles fósiles, es un indicador de la complejidad del problema. Incluso, las fuentes de agua alejadas de las zonas de descarga pueden presentar contaminación por efecto de lixiviaciones. Aún los tratamientos de potabilización pueden producir contaminación; por ejemplo, la cloración del agua induce la formación de productos de alto riesgo potencial a la salud humana, cuando esta contiene materia orgánica.

En general, salvo en el caso de derrames accidentales abundantes, estos compuestos se encuentran en bajas concentraciones, del orden de  $\mu\text{g}/\text{lt}$ , de tal manera que el problema de evaluación del agua no es trivial. Este puede enfocarse desde dos puntos de vista, distintos pero complementarios. Por una parte, la detección, identificación y cuantificación de sustancias individuales con alta

probabilidad de estar presentes; por otra, la determinación del riesgo a la salud en forma global, independientemente de la presencia de alguna o algunas especies en particular. En ambos casos, es necesario obtener un concentrado de los contaminantes en el cual sea factible aplicar las pruebas químicas o microbiológicas en uso (1).

#### 2.1.2. Clasificación de contaminantes prioritarios.

El tipo y número de contaminantes orgánicos que pueden estar presentes en el agua es muy variable. Los pesos moleculares de estos varían desde cerca de 100 hasta 20,000 daltons y se encuentran, compuestos ácidos, básicos y neutros, con diversas funciones químicas.

Como resultado de un esfuerzo por racionalizar el problema y simplificarlo a dimensiones manejables, la Agencia de Protección del Ambiente de los Estados Unidos (U.S.E.P.A., por sus siglas en inglés) ha considerado más de una centena de compuestos con alta probabilidad de incidencia en los Estados Unidos y que representan un riesgo potencial a la salud (2). Estos compuestos, conocidos como contaminantes orgánicos prioritarios, se clasifican según su método de aislamiento. Esta clasificación involucra procedimientos generales de extracción y de análisis para cada grupo de compuestos propuestos y que pueden agruparse en las siguientes categorías:

CONTAMINANTES  
ORGANICOS

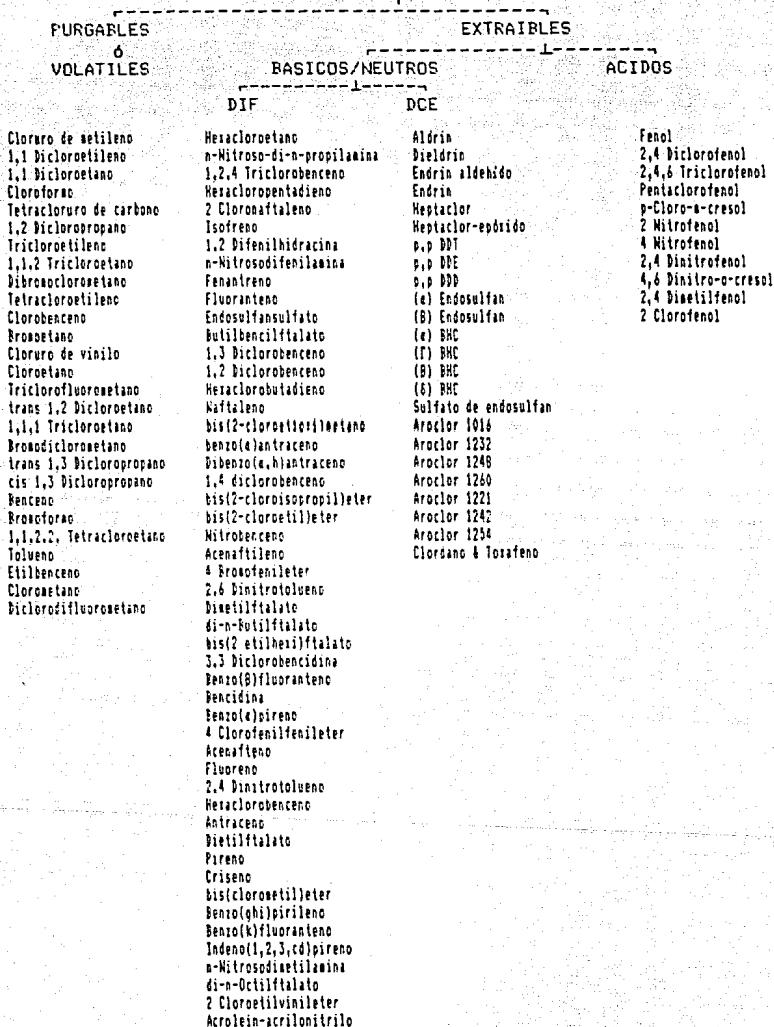


Figura 2.1. Clasificación de contaminantes prioritarios, según la U.S.E.P.A.

DIF = Detector de ionización de flama; DCE = Detector de captura de electrones



a) Purgables: Son compuestos de baja solubilidad en agua y con alta volatilidad, de forma que es posible obtenerlos por arrastre con un gas inerte. A su vez se dividen en subgrupos de acuerdo a sus características químicas (aromáticos, trihalometanos, etc.) y/o el procedimiento de análisis o detección.

b) Extraíbles: Son compuestos con solubilidad muy diversa en agua (desde fenol hasta hexacloroetano), que por modificación del pH es posible extraerlos con disolventes no polares como el cloruro de metileno. Se subdividen de acuerdo al pH de extracción y al sistema de detección recomendado (2).

Debe hacerse notar que la U.S.E.P.A. ha estado trabajando durante varios años en este tipo de problemas, y ayuda a diferentes grupos de investigadores a:

1) Examinar las fuentes de agua que tengan presentes contaminantes prioritarios.

2) Almacenar en sistemas de computo los datos correspondientes a los contaminantes prioritarios estudiados.

3) Desarrollar metodologías analíticas para identificar, tanto como sea posible, la mayoría de los contaminantes desconocidos y que están presentes en las muestras de agua estudiadas (3,4).

### 2.1.3. Análisis químico de contaminantes prioritarios.

El análisis de contaminantes prioritarios para el control de la calidad del agua proporciona criterios que son útiles para evaluar el estado y evolución de la contaminación. Sin embargo, con tan solo esta información no es posible establecer en forma absoluta cual es el riesgo real a la salud. Esto se debe fundamentalmente a que no se analizan todos los compuestos presentes, sólo los de mayor probabilidad, y no se conocen los efectos de sinergia entre ellos. Conocer este riesgo es particularmente importante para establecer planes y programas de tratamiento y reuso del agua, por lo que, se han desarrollado métodos microbiológicos que permiten determinar la capacidad mutagénica de los productos contaminantes como un todo.

### 2.1.4. Determinación del potencial mutagénico.

Existen numerosas pruebas para evaluar la capacidad mutagénica (inductora de mutaciones) o genotóxica (inductora de daño genético) de agentes químicos y/o contaminantes que permiten determinar distintos tipos de alteraciones genéticas, tanto en células somáticas (constituyentes del cuerpo) como germinales, "in vivo" e "in vitro". Las principales pruebas, de corta duración, para detectar mutágenos son las siguientes:

a) Mutaciones Genéticas.

1. Sistemas microbianos con y sin activación metabólica. Prueba de reversión en "Salmonella typhimurium" y "Escherichia Coli".

2. Cultivo de células de mamífero con y sin activación metabólica. Detección de mutaciones en el locus HGPRT o TK.

3. Detección de mutaciones letales ligadas al cromosoma X, en la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*.

b) Alteraciones Cromosómicas.

1. Detección de aberraciones cromosómicas y micronúcleos en células de médula ósea y sangre de roedores.

2. Detección de aberraciones cromosómicas y micronúcleos en linfocitos humanos en cultivo o provenientes de individuos expuestos.

3. Detección de micronúcleos en células meióticas de plantas, como "tradescantia".

4. Detección de micronúcleos en células somáticas de "Vicia faba" y "Allium cepa".

Ya existen protocolos normalizados para el empleo adecuado de las pruebas más usuales, tanto para asegurar la reproducibilidad y confiabilidad de los resultados como la comparación de los datos emanados de distintos laboratorios, sin embargo pueden adecuarse al tipo de compuesto a estudiar.

La selección y número de pruebas para evaluar la mutagenicidad o carcinogenicidad de un compuesto dado depende de varios factores como:

1. Semejanza estructural de su molécula con la de un mutágeno o carcinógeno conocido.
2. Usos habituales.
3. Magnitud de su consumo o difusión.
4. Persistencia en el ambiente.
5. Tamaño y características de las poblaciones expuestas.
6. Beneficios que aporta.

Se recomienda abordar el estudio de la capacidad mutagénica de compuestos con un enfoque secuencial, iniciando con pruebas sensibles, cortas y económicas. Si los resultados son concluyentes, se puede tomar la decisión de controlar su uso o difusión. Si sus beneficios son grandes, se procede a evaluar su carcinogenicidad en bioensayos animales. Si por el contrario, los resultados en la primera etapa no son concluyentes, se determina la mutagenicidad de los compuestos en un sistema de prueba más complejo.

#### 2.1.5. Métodos de concentración.

Cuando el problema analítico es la detección de compuestos presentes en concentraciones del orden de microgramos por litro, generalmente es necesario tomar como base un procedimiento de concentración de acuerdo a las propiedades del compuesto de interés.

La concentración se puede llevar a cabo mediante: extracción con disolventes orgánicos; adsorción en carbón activado; adsorción en membrana de polietileno, seguido de un lavado con disolventes orgánicos; adsorción en un revestimiento de poliuretano poroso, obteniéndose una adsorción selectiva; adsorción en resinas del tipo XAD ó TENAX, eluyendo con disolventes orgánicos; extracción mediante arrastre con un gas inerte (técnica de cámara de vapor ó head-space) (1,5,6,7,8).

Osmosis Inversa.- Kopfler desarrolló un procedimiento denominado de ósmosis inversa para concentrar y fraccionar contaminantes de muestras de agua potable mediante una membrana.

La ósmosis inversa es una técnica en donde se separa un soluto de una solución, obligando al disolvente a fluir a través de una membrana, mediante la aplicación de una presión superior a la presión osmótica normal. El término de ósmosis inversa se utiliza generalmente para describir los procesos en los que las moléculas de soluto son de aproximadamente el mismo tamaño que las del disolvente. A diferencia de los procesos de destilación y congelación, esta puede funcionar a temperatura ambiente sin cambio de fases. En este método se pueden emplear muestras de volumen grande.

El método de ósmosis inversa fue probado inicialmente en 1974 para dos muestras de 400 galones cada una. Cada

muestra se concentró a 1/10 del volumen inicial empleando una membrana de acetato de celulosa seguida de una membrana de nylon. Los extractos fueron liofilizados a polvos y extraídos con pentano, diclorometano y diclorometano acidulado, obteniéndose fracciones de muestras derivadas de cada extracción. Posteriormente, se realizó una segunda concentración de cada una de estas fracciones mediante una extracción líquido-líquido y mediante adsorción/desorción en resinas del tipo XAD-2.

Con este método se obtienen recuperaciones entre 35 y 40%. Aunque estos valores representan las mejores recuperaciones publicadas, usando grandes volúmenes de agua, existen algunas desventajas para considerarla como una metodología ideal:

- 1) La mayoría de los compuestos orgánicos volátiles son eliminados en el proceso de concentración.

- 2) Se ha demostrado que algunos de los componentes del concentrado final provienen de los metales y/o plásticos que forman parte del sistema de bombeo, o de las membranas, empleados en el proceso de concentración.

- 3) La estabilidad de los extractos a veces representa un problema difícil de controlar.

- 4) No existe forma de establecer si todos los compuestos que se encontraban en la muestra original, están presentes en el concentrado final (3,5,9,10).

Extracción líquido-líquido.- Los procesos para separar los componentes de una solución que dependen de la distribución desigual de los componentes entre dos líquidos inmiscibles, se conocen como procesos de extracción líquido/líquido. La solución líquida que se va a tratar se pone en contacto íntimo con un líquido inmiscible que sea apropiado y que, extraiga uno o varios componentes. Para el análisis en agua, el procedimiento más usual consiste en hacer la extracción con tres porciones de cloruro de metileno de aproximadamente 60 ml cada una. También se utilizan métodos de extracción continua usando como disolvente extractor diclorometano. Una vez realizada la extracción, se hace una concentración por evaporación del disolvente en un sistema Kuderna-Danish.

Se han desarrollado procedimientos de extracción muy específicos para una gran cantidad de compuestos, los que en algunas ocasiones son muy ventajosos respecto a otros métodos de concentración.

Algunos de los problemas asociados a los métodos de extracción líquido/líquido, para pruebas de mutagenicidad, están relacionados con la pureza y la toxicidad del agente de extracción, y generalmente son inconvenientes cuando se trabaja con muestras grandes, ya que requiere volúmenes grandes del agente extractor; la pérdida de los volátiles durante la evaporación, causada por el calentamiento y en algunos casos por arrastre de sistemas de vacío empleados, es considerable; las diferentes eficiencias de extracción de

algunos compuestos al variar el agente extractor; etc. (1,3,7,10,11,12,13,14,15).

Adsorción en carbón activado.- Los adsorbentes son materiales naturales o sintéticos de estructura microcristalina, cuyas superficies porosas internas son accesibles para la retención de solutos. Por lo común, las fuerzas de atracción son más débiles y menos específicas que las de los enlaces químicos; de donde, la adsorción es en general análoga a una condensación de moléculas gaseosas o a la cristalización partiendo de un líquido. Su acción selectiva es más pronunciada en una capa mononuclear adyacente a la superficie sólida, pero en ocasiones la selectividad persiste a espesores de 3 o 4 moléculas. Este efecto combinado se identifica como adsorción física.

Los adsorbentes que se utilizan a gran escala incluyen carbón activado, gel de sílice, alúmina activada, tierra de fuller y otras arcillas.

El carbón activado ha sido empleado para realizar concentraciones mediante extracciones directas. El uso de carbón activado para concentrar mutágenos, en niveles de trazas, de muestras de agua se conoce desde hace varios años y se han detallado y estandarizado dos métodos principales: extracción carbón-cloroformo (CCE) y extracción carbón-alcohol (CAE).

En 1950, Braus, Middleton y Walton, usaron una columna de carbón activado para filtrar aproximadamente 5000 galones



de agua, recuperando entre 2 y 4 gr de contaminantes mediante una extracción posterior con eter.

Una gran cantidad de muestras que contienen contaminantes orgánicos han sido analizadas mediante procedimientos analíticos especializados utilizando carbón activado para efectuar la concentración de los solutos.

Las ventajas del carbón activado son su alta capacidad de adsorción, lo que permite utilizar pequeñas cantidades de adsorbente para realizar la extracción, y su alta estabilidad térmica a temperaturas superiores a los 700°C, lo que permite la desorción de cualquier compuesto adsorbido. El impedimento básico de este método de concentración es que contaminantes similares pueden verse afectados de diferente manera en el procedimiento de concentración. Otros problemas que se presentan al utilizar carbón activado y que son detallados por Rosen's, incluyen el tamaño del poro, el contenido de materia orgánica extractable y la desorción con diferentes disolventes orgánicos (1,3,10,16,17,18).

Adsorción en polímeros porosos.- La concentración de los compuestos orgánicos presentes en el agua en el orden de trazas por medio de polímeros porosos, está basada en la adsorción que presenta una redícula sólida (polímero poroso). Mientras que la extracción líquido/líquido está basada en la distribución de compuestos disueltos entre dos disolventes inmiscibles, la extracción tipo adsorción se

basa en la distribución de compuestos entre un líquido y un sólido, con la condición de que, en ambos casos, el coeficiente de distribución sea tal que la extracción se vea favorecida hacia el agente extractor. En el caso de la extracción con un polímero el soluto pasa por un cambio de fase verdadero a escala molecular a un estado "disuelto" dentro del sólido, en donde cada molécula de soluto está íntimamente rodeada de moléculas del material adsorbente. Al pasar agua que contiene contaminantes orgánicos a través de la columna de concentración se presenta el proceso denominado "cromatografía frontal", en donde los compuestos son adsorbidos en el polímero de acuerdo a su coeficiente de partición, en el sistema particular adsorbente/agua. Si se usara un adsorbente tal que el coeficiente de partición de los compuestos investigados disueltos en el agua favoreciera la retención, todos los compuestos serían retenidos en la columna, y el agua que saliera de esta estaría libre de ellos. Sin embargo, después de pasar un determinado volumen de agua contaminada, ocurre que el agua que sale de la columna de concentración contiene de nuevo los contaminantes, debido a que hay una saturación del polímero. Desde el punto de vista de máxima concentración, el estado ideal sería cuando los contaminantes se adsorbieran al 100%, lo cual dependería del adsorbente utilizado en el proceso, de la estructura del compuesto bajo investigación, de la composición de la solución acuosa, de

las concentraciones de los contaminantes en la muestra de agua y del volumen de muestra empleado.

Con este tipo de adsorbentes, el coeficiente de distribución generalmente es mayor que en la extracción líquido/líquido y por lo tanto la recuperación es mayor. Puesto que el principio es análogo a la extracción líquida, el hecho de usar un diferente agente extractor, da como resultado un diferente factor de concentración.

Los factores que hacen que el uso de polímeros porosos sea ventajoso para la extracción de trazas de compuestos orgánicos, son los siguientes:

1) Los coeficientes de distribución de los compuestos en un sistema polímero/agua tienden a valores muy grandes si el polímero es seleccionado correctamente para el tipo de contaminantes presentes.

2) La adsorción del agua en el polímero es mínima.

3) El "mojado" del polímero con agua hace posible un transporte satisfactorio de las sustancias hacia la superficie del polímero.

4) La superficie del polímero es inerte.

La desorción de los compuestos adsorbidos en la columna de concentración se puede realizar mediante disolventes orgánicos o mediante calentamiento.

En la desorción con disolventes orgánicos, se usa un volumen pequeño de un eluyente en el que el coeficiente de distribución para un sistema particular polímero/eluyente, está desplazado para el compuesto de interés en favor del

eluyente. Cuando el líquido pasa a través de la columna de concentración ocurre un proceso inverso al de la retención y los compuestos son desorbidos del polímero. Los compuestos que se encontraban originalmente en la muestra de agua, ahora se encuentran en el eluyente, del cual sólo se requieren unos cuantos mililitros para la desorción total de los compuestos.

En la desorción térmica, la columna de concentración se coloca antes de una columna analítica, en un sistema de cromatografía de gases, y es calentada a una temperatura apropiada para que se efectúe la desorción. Como una consecuencia de la acción de la temperatura, ocurre la desorción de los compuestos y son transportados por el gas acarreador del sistema cromatográfico a través de la columna analítica.

La técnica utilizada para la desorción térmica debe ser tal que todos los compuestos contenidos en el adsorbente sean transferidos a la fase gaseosa en un tiempo razonable (1,3,5,16,19,20,21,22,23).

Extracción con fases químicamente unidas.- Recientemente se han introducido al mercado una variedad de pequeños cartuchos empacados, para concentrar muestras líquidas. Estas columnas ofrecen ventajas en cuanto a la simplicidad de su uso. En algunos trabajos en donde se emplean estas columnas, se han alcanzado recuperaciones mayores al 95% en la concentración de muestras. Por otro

lado, se han desarrollado técnicas para el enriquecimiento de trazas, las que proporcionan un medio rápido y fácil de concentración (24,25,26,27).

Es obvio que hay necesidad de desarrollar tecnología reproducible para concentrar y medir varios contaminantes presentes en el agua. Aunque la estrategia para coleccionar muestras, las mejores condiciones para adsorber y eluir compuestos orgánicos, y los procedimientos más eficientes y económicos para analizar estas muestras han sido determinados, se hace una continua investigación metodológica debido al avance tecnológico que día a día se presenta, obteniéndose como resultado nuevas técnicas de concentración y análisis de estos contaminantes prioritarios.

#### 2.1.6.- Métodos de cuantificación y caracterización.

Métodos cromatográficos.- Una vez que se han obtenido los concentrados de las muestras estudiadas mediante algún método de concentración, estos se analizan empleando, principalmente, la cromatografía de gases o la cromatografía de líquidos de alta resolución.

Dada la alta sensibilidad que los métodos cromatográficos ofrecen, el realizar análisis de compuestos orgánicos por esta técnica, hace que se requieran de pequeñas cantidades de muestra a comparación de la necesaria al emplear alguna otra metodología (como por ejemplo, UV/VIS).

El usar pequeñas cantidades de muestra implica que los límites de detección sean aún demasiado altos para lo que se requiere y de ahí la necesidad de emplear técnicas de concentración de muestras.

La presencia del eluyente utilizado en el proceso de concentración es otro problema cuando se emplea la cromatografía de gases como método de análisis, ya que en el cromatograma se observará una señal correspondiente al disolvente, la cual puede sobreponerse con algunas señales de los compuestos extraídos ya que este siempre estará en exceso. En algunos casos esta señal se puede eliminar al colocar una precolumna adecuada, capaz de retener al eluyente antes de que la muestra pase a la columna analítica.

Este tipo de problemas asociados a la cuantificación de los contaminantes se pueden evitar en gran medida si se emplean cartuchos empacados para efectuar la concentración, ya que la cantidad de eluyente necesario para eluir los compuestos adsorbidos es de 1 a 4 ml.

Este tipo de columnas (cartuchos) pueden ser una opción útil para la obtención de concentrados de compuestos orgánicos prioritarios, debido a las ventajas que presentan en cuanto a la simplicidad en su manejo, a las altas recuperaciones publicadas y a que no es necesario realizar una concentración adicional, como en el caso de la extracción líquido-líquido.

## 2.2. Objetivos.

El objetivo general de este trabajo es el de diseñar una metodología analítica mediante la cual se obtenga una concentración óptima para detectar contaminantes prioritarios mutagénicos, en concentraciones de trazas, en muestras de agua.

Los objetivos particulares serán:

1) Desarrollar una metodología alterna para la concentración de contaminantes en agua, clasificados según la U.S.E.P.A. como ácidos, neutros y básicos.

2) Desarrollar un método cromatográfico para realizar el análisis cualitativo y cuantitativo de dichos contaminantes.

3) Realizar pruebas de esta metodología desarrollada con muestras reales.

Para la concentración de los contaminantes se utilizaron cartuchos con fases químicamente unidas del tipo C-18. La cuantificación de muestras de un sólo componente se hizo mediante espectroscopía de ultravioleta en las longitudes de onda características de máxima absorción para cada componente, mientras que para muestras de más de un componente, así como para las muestras reales se utilizó cromatografía de gases con columna capilar.

### III. GENERALIDADES.

#### 3.1. Extracción en fase sólida.

La cromatografía comprende un diverso grupo de métodos de separación de gran importancia para el químico analítico, pues le permiten separar, aislar e identificar los componentes de mezclas, que de otro modo serían resueltas con dificultad o no podrían resolverse. El término "cromatografía" agrupa una gran variedad de sistemas y técnicas. En un sentido amplio, la cromatografía comprende los procesos basados en las diferencias de distribución de los componentes individuales de una mezcla entre un medio estacionario y una fase móvil.

La gran importancia de los procesos cromatográficos se debe a la velocidad de análisis, al gran poder de resolución y a la capacidad de operar cantidades de muestra muy pequeñas.

Los métodos cromatográficos se pueden clasificar de acuerdo a la forma como la fase móvil interacciona con la fase estacionaria. Estos métodos comprenden:

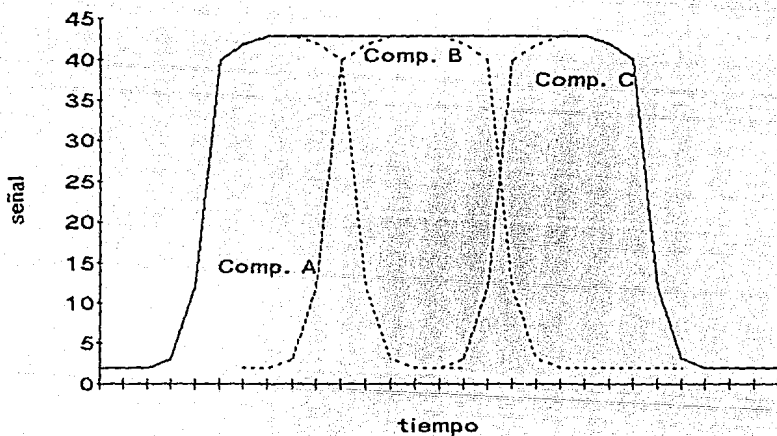
##### 3.1.1. Análisis por desplazamiento.

Este método consiste en colocar una pequeña cantidad de la muestra a separar en la parte inicial de la columna cromatográfica. Entonces se usa un líquido o vapor desplazador para empujar la muestra a través de la columna, este líquido o vapor tiene una afinidad mayor por la fase



estacionaria que cualquiera de los componentes de la mezcla. Conforme el líquido o vapor desplazador se mueve a través de la fase estacionaria, los componentes de la muestra se ven forzados a eluir de acuerdo con su afinidad por la fase estacionaria, sin separarse en bandas aisladas individuales, pero ordenadas en el interior de una sola banda ancha. Si al final de la columna se coloca un medio de detección adecuado, se puede obtener un cromatograma como el que se muestra en la figura 3.1.

Figura 3.1: Cromatograma que representa un análisis por desplazamiento.



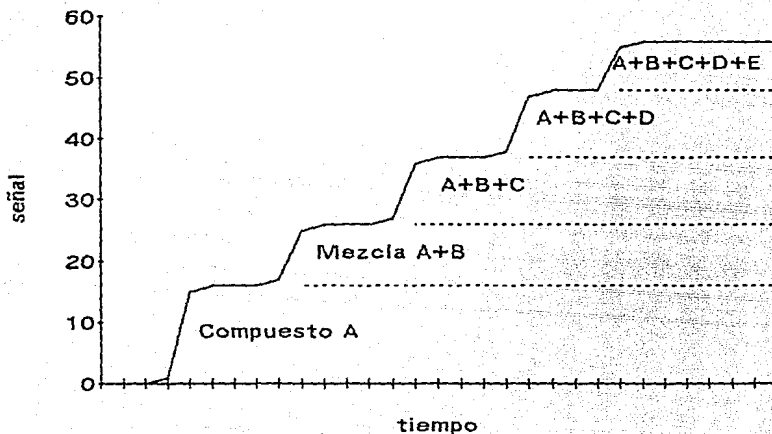
El análisis por desplazamiento, usualmente se utiliza en cromatografía de adsorción y tiene la desventaja de que la fase estacionaria se debe regenerar o reemplazar después

de cada separación, ya que en esta queda adsorbida el agente desplazador, además de que el tiempo de análisis es grande.

### 3.1.2. Análisis frontal.

En la técnica de análisis frontal la muestra sirve como

Figura 3.2: Cromatograma que representa un análisis frontal.



su propio desplazador. Conforme la muestra se eluye a través de la columna cromatográfica los componentes tienden a separarse como se muestra en la figura 3.2, en donde el componente que tiene la menor afinidad hacia la fase estacionaria será el primero que salga de ella. Puesto que la muestra se añade continuamente, cada componente que emerge de la columna estará mezclado con los componentes

que tengan menor afinidad por la fase que la de él mismo. Esto da como resultado que solamente el primer componente que emerge de la columna será recuperado o medido en una forma pura. En esta técnica, además de presentarse esta desventaja, también se presentan las mencionadas en el análisis por desplazamiento.

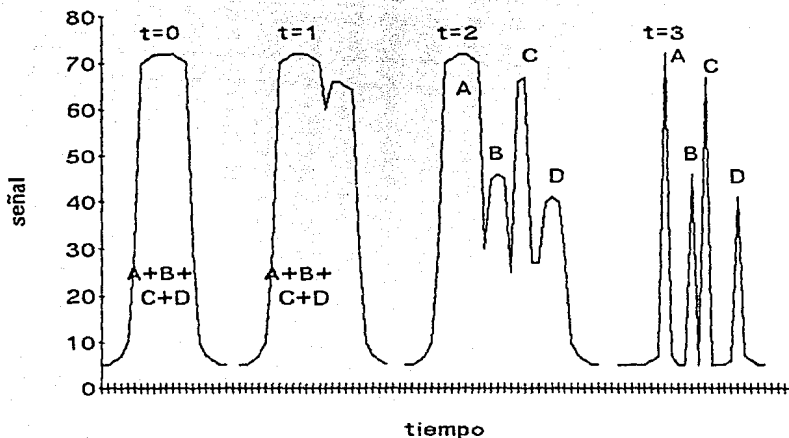
### 3.1.3. Análisis por elución.

La técnica de análisis por elución es la más empleada en el análisis de mezclas de compuestos. En esta técnica la muestra se introduce en la columna con un perfil estrecho de concentración y se hace pasar una fase móvil continuamente, la cual mueve los componentes individuales a través de la columna a diferentes velocidades. Cada componente se desplazará a una velocidad diferente de los demás dependiendo de su coeficiente de partición, K, donde:

$$K = \frac{\text{concentración de soluto en la fase líquida}}{\text{concentración de soluto en la fase móvil}}$$

Bajo condiciones favorables los componentes tendrán diferentes coeficientes de partición y por lo tanto serán completamente separados, como se muestra en la figura 3.3.

Figura 3.3: Cromatograma que representa un análisis por elución.



Este método presenta las siguientes ventajas:

1. La fase estacionaria es regenerada continuamente por la fase móvil. Se puede cargar otra muestra al sistema tan pronto como el último compuesto emerge de la columna.

2. Bajo condiciones favorables, los componentes individuales de una mezcla se separan completamente uno del otro.

3. Generalmente, el tiempo de análisis es de unos cuantos minutos, aún para mezclas complejas.

En cualquiera de los métodos mencionados se puede emplear el volumen de retención de cada componente para su identificación, mientras que la altura del pico o área del

pico se puede emplear como una medida de la concentración de dicho componente (28,29,30,31).

### 3.2. Cromatografía de fases químicamente unidas.

El espectacular desarrollo de la cromatografía de fase inversa químicamente unida (FIQU) es uno de los fenómenos más interesantes en la cromatografía líquida de alta resolución (C.L.A.R.). A partir de 1976, del 60 a 70% de los trabajos analíticos publicados por C.L.A.R. han empleado fases estacionarias no polares químicamente unidas a un soporte de sílice. De hecho la cromatografía de FIQU emerge como un tipo más general de cromatografía líquida, la cual puede reemplazar varias técnicas convencionales. Al principio se recomendó el uso de fases estacionarias no polares para la separación de mezclas de sustancias de baja polaridad, los cuales son poco solubles en agua. Sin embargo, se ha demostrado que con una fase estacionaria no polar se pueden separar compuestos con un amplio intervalo de polaridad.

Las primeras fases no polares químicamente unidas que se usaron fueron del tipo pelicular, con un tamaño de partícula grande (40 micras). Sin embargo, tales materiales no se podían obtener con una distribución uniforme de tamaño de partículas, además no había sido desarrollada suficientemente la tecnología de empaquete e instrumentación para la preparación y uso de columnas con micropartículas. Los avances actuales en tecnología de partículas han hecho

posible la manufactura de partículas uniformes de gel de sílice con diámetros pequeños y el desarrollo instrumental ha hecho posible el empacar columnas con este tipo de partículas con o sin grupo orgánico químicamente unido. Por otro lado, estas columnas tienen una mayor eficiencia y capacidad de carga que aquellas empacadas con adsorbentes pelliculares.

A fin de convertir el gel de sílice en fases hidrocarbonadas químicamente unidas, comúnmente se hace reaccionar la gel con un alquil triclorosilano. Como un resultado de esta reacción se obtienen enlaces covalentes como se ilustra en la figura 3.4, y una cadena hidrocarbonada, por lo general de octilo, C-8, u octadecilo, C-18. También se han obtenido fases químicamente unidas de cadenas hidrocarbonadas C-2, C-8, C-18, etc., a las que se les introduce como ligante un compuestos de diferentes propiedades, de tal manera que actualmente se dispone de una gran variedad de fases hidrocarbonadas de varios tamaños de partículas y de varias formas.

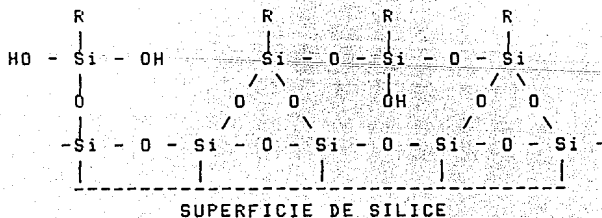
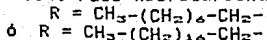


Figura 3.4. Fase hidrocarbonada químicamente unida.



La cantidad de átomos de carbono en la fase estacionaria es una propiedad importante que puede influenciar el comportamiento cromatográfico. Sin embargo, aunque se conozca esta cantidad de átomos de carbono, el tipo de fase estacionaria y el área específica, no se tiene la información suficiente como para conocer el porcentaje de recubrimiento de la superficie. Esto es debido a que en la superficie hay microporos en los cuales no puede penetrar el agente silanizante, y esto puede representar una gran fracción del área específica de la sílice.

Por otra parte, el comportamiento cromatográfico también depende de la forma y tamaño de las partículas. Las partículas de forma irregular tienen una mayor superficie que las partículas esféricas del mismo tamaño y, consecuentemente la velocidad de transferencia de masa a través de partículas químicamente unidas es superior, con lo cual se esperaría una mayor eficiencia. Sin embargo, las columnas empacadas con partículas irregulares, en algunas ocasiones, tienen una menor estabilidad que aquellas empacadas con partículas esféricas uniformes. Es bien conocido que la sílice de las columnas se disuelve lentamente cuando está en contacto con fases móviles acuosas y que la velocidad de degradación aumenta con el pH ( $\text{pH} > 7.0$ ) y con temperaturas elevadas.

En la actualidad existe una gran variedad de fases químicamente unidas no polares. Las diferencias observadas en la práctica con estas fases se pueden atribuir a las

diferencias en las siguientes propiedades, las cuales determinan el comportamiento cromatográfico.

1. El tamaño y la forma de la partícula de sílice.
2. La porosidad, el área específica y el tamaño de poro de la sílice.
3. La naturaleza química de la cadena hidrocarbonada que está químicamente unida.
4. La cantidad de hidrocarburo enlazado por unidad de volumen de columna, lo cual está relacionado al contenido de carbón de la fase estacionaria seca.
5. La configuración del grupo funcional unido a la superficie.
6. La concentración de silano y grupos siloxanos accesibles en la superficie.

Como una regla general, la longitud de la cadena es la que más afecta el comportamiento cromatográfico bajo condiciones preestablecidas. Similarmente, las fases estacionarias con mayor contenido de átomos de carbón tienen una mayor capacidad de retención y se obtienen columnas más estables. La longitud de la cadena y el contenido de átomos de carbón afecta la selectividad de las fases estacionarias.

Otro de los factores que juega un papel muy importante en la retención de los solutos es el efecto hidrofóbico. En la mayoría de los casos los eluentes usados con fases no polares químicamente unidas son disolventes polares puros o mezclas de estos. Para sistemas cromatográficos que involucran un adsorbente polar, tal como la alúmina, Snyder



estableció una serie eluotrópica. La tensión superficial y la constante dieléctrica del disolvente también juegan un papel muy importante en el mecanismo de retención del soluto. Por otro lado, la viscosidad del disolvente está relacionada a la difusividad en la fase móvil lo que repercute en la eficiencia de la columna. La magnitud de la caída de presión a través de la columna a una velocidad de flujo y a una determinada presión en la entrada de la columna también son establecidas por la viscosidad del disolvente, la cual disminuye cuando se incrementa la temperatura.

En muchas aplicaciones, particularmente cuando se separan solutos iónógenos, el pH del eluyente tiene que ser controlado usando una solución amortiguadora. La selección de un pH apropiado depende de la constante de disociación de los solutos debido a que la disociación de estos puede variar considerablemente los tiempos de retención.

### 3.3. Mecanismo de retención.

La retención del soluto en cromatografía de fase inversa puede explicarse mediante el modelo de "partición" entre la superficie del hidrocarburo de la fase no polar y la fase móvil, o por el modelo de "adsorción" del soluto en la parte no polar de la fase estacionaria. El modelo que involucra la partición, probablemente sea el menos adecuado debido a que el comportamiento de las cadenas enlazadas no es el de un líquido y las moléculas tienen menos grados de

libertad translacional y rotacional que en las fases líquidas no enlazadas. La naturaleza física de estas superficies generalmente no está muy bien definida y probablemente depende del tipo de la fase enlazada y de la superficie cubierta.

Se supone que el soluto se retiene mediante interacciones no polares. La retención usualmente se expresa mediante el factor de capacidad,  $k'$ , el cual está relacionado a la constante de equilibrio termodinámica,  $K$ , mediante la relación:

$$k' = \phi K$$

donde  $\phi$  es la relación de volúmenes de la fase estacionaria y la fase móvil, dada por la ecuación:

$$\phi = \frac{\text{Vol. fase estacionaria.}}{\text{Vol. fase móvil.}}$$

En la cromatografía de fase inversa se ha establecido una relación cuantitativa entre  $k'$  y las propiedades del soluto y el eluyente para una fase estacionaria específica.

Las interacciones no polares en disolventes polares se dan en función de las propiedades del disolvente, tales como la tensión superficial y constante dieléctrica, y propiedades del soluto tales como el área superficial y momento dipolar, factores que se pueden estimar con relativa

facilidad. A este tratamiento teórico se le llama "efecto solvofóbico". Esta teoría del "efecto solvofóbico", dada por Sinanoglu y colaboradores (23), es más empleada para explicar el mecanismo de retención en sistemas que involucran fases estacionarias apolares, que otras teorías que se basan en los "efectos hidrofóbicos", además, es fácilmente aplicable a otros disolventes.

Para aplicar esta teoría a la cromatografía de fase inversa no polar, se debe suponer que el soluto se "pega" a los ligandos no polares para formar un complejo. A fin de evaluar la constante de equilibrio para este complejo, K, se estima el cambio en la energía libre,  $\Delta G$ , en el proceso cromatográfico, dado por la relación:

$$\ln K = - \frac{\Delta G}{RT}$$

De acuerdo con esta teoría, el cambio de energía libre en el proceso está dado por la diferencia entre el "efecto solvofóbico" producido, por un lado, al llevar el complejo a la solución y por otro, en llevar a los componentes individuales en el disolvente.

La interacción entre el disolvente y la especie involucrada en el proceso de asociación es debido a interacciones del tipo Van der Waals y electrostáticas.

El factor de capacidad se expresa mediante la relación (26):

$$\ln K = \frac{1}{RT} \{ \Delta A(N\Gamma + a) + NA_{\infty} \Gamma(X^* - 1) + W - \frac{\Delta Z}{\epsilon} \} + \ln \frac{RT}{P_0 V}$$

donde:

$A$  = área superficial de una molécula de soluto.

$N$  = número de Avogadro.

$\Gamma$  = tensión superficial.

$A_0$  = área superficial de una molécula de disolvente.

$X^*$  = factor que ajusta la tensión superficial macroscópica a las dimensiones moleculares.

$Z$  = depende de la distribución de carga, tamaño molecular y otros factores.

$\epsilon$  = constante dieléctrica del medio.

$P_0$  = 1 atmósfera.

$V$  = volumen molar del disolvente.

$R$  = constante de los gases.

$T$  = temperatura absoluta.

$\bar{V}$  = relación de volúmenes de la fase estacionaria y la fase móvil.

$W$  y  $a$  = parámetros que dependen del disolvente.

Esta ecuación representa una versión simplificada de una expresión compleja en donde todos los términos excepto  $\bar{V}$  son una función de las propiedades físicas del soluto y eluyente, las cuales son medibles. Por lo tanto, se puede usar para explicar o predecir la dependencia del factor de capacidad en función de las propiedades del soluto y eluyente en una columna dada, en donde la retención del soluto solamente involucra efectos de asociación solvofóbica entre el soluto y los ligandos no polares de la fase estacionaria.

El fenómeno expresado cuantitativamente en la ecuación anterior se ilustra esquemáticamente en la figura 3.5, en donde se representa la asociación entre el soluto y ligando no polar en la superficie de la fase estacionaria en cromatografía de fase inversa. La atracción es debida esencialmente a efectos del disolvente. Las flechas negras indican la asociación del soluto en la fase estacionaria, la cual se ve favorecida cuando disminuye el área molecular expuesta al disolvente. Las interacciones con el disolvente, las cuales se simbolizan con las flechas blancas, tienen un efecto contrario. La magnitud de la interacción no polar entre el soluto y el ligando la cual determina la retención, está dada por la diferencia entre los dos efectos (31,32,33,34).

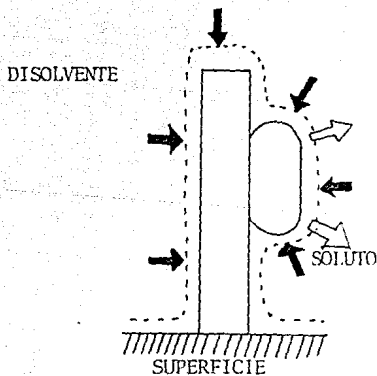


Figura 3.5. Asociación entre el soluto y ligando no polar en la superficie de la fase estacionaria.

## IV. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1. Materiales y reactivos.

Para la preparación de los estándares y las muestras "in vitro" se utilizó agua destilada y desionizada, la cual se pasó a través de un cartucho Sep-pak (Waters Assoc. parte #51910) antes de ser empleada. Los disolventes, metanol y acetonitrilo, y los reactivos, NaCl, HCl y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, que se emplearon fueron grado R.A., y se emplearon directamente sin ninguna purificación.

La adsorción de los compuestos estudiados se llevó a cabo en cartuchos comerciales Sep-pak de fase químicamente unida, la cual consiste de cadenas de octadecilsilano enlazadas a una superficie de sílica.

Las sustancias patrón fueron grado R.A. y también se utilizaron directamente sin ninguna purificación adicional.

La determinación de los porcentajes de recuperación de los compuestos de interés se realizó mediante espectrofotometría de ultravioleta/visible en un instrumento Varian Techtron mod. 635. La cuantificación se hizo por estandarización externa efectuando las lecturas en las longitudes de onda de absorción máxima, características de cada compuesto, utilizando un blanco de reactivos como referencia de cero, el cual se trató de igual manera que las muestras.

El análisis de las mezclas se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard mod. 5890 con

detector de ionización de llama y nitrógeno como gas  
 acarreador. Se utilizó una columna capilar de sílice fundida  
 de 12 metros de longitud, con una fase estacionaria del tipo  
 OV-101. El análisis se realizó con un programa de  
 temperatura: 2 minutos a 70°C, incrementando la temperatura  
 hasta 250°C con una velocidad de calentamiento de 10°/min.  
 Para el registro de la información se utilizó un integrador  
 marca Hewlett Packard mod. 3390-A. En la identificación de  
 cada componente de las mezclas se aplicó el método de  
 comparación de tiempos de retención con los de patrones  
 puros con los tiempos de retención obtenidos en la mezcla y  
 la cuantificación mediante la técnica de estándar externo.

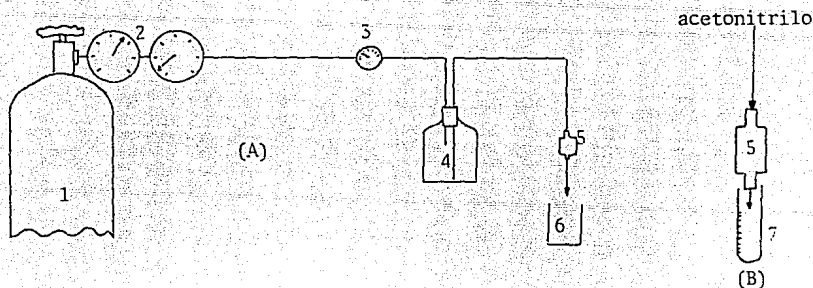


Figura 4.1. Sistema de concentración de compuestos.

- A) Sistema de concentración.  
 B) Sistema de elución.

1. Tanque de nitrógeno.
2. Control de presión general.
3. Control fino de presión.
4. Recipiente para muestra.
5. Cartucho Sep-pak
6. Recipiente para desecho de agua.
7. Recipiente graduado para elución del concentrado.

#### 4.2. Diseño y montaje instrumental.

El diseño y montaje del sistema de concentración utilizado se muestra en la figura 4.1. La técnica de concentración consiste en aplicar una presión controlada con un gas inerte (en este caso se utilizó nitrógeno) al recipiente de la muestra hasta obtener un flujo constante entre 10 y 30 ml/min. La capacidad del recipiente de muestra es variable dependiendo del volumen de muestra que se desee trabajar. Esta muestra pasa a través de la columna de fase inversa químicamente unida (Sep-Pak) en donde se retienen los contaminantes orgánicos. Posteriormente, se lava el cartucho con agua destilada y se seca con una corriente de un gas inerte (nitrógeno) durante unos 10 minutos. Por último, se hace pasar una pequeña cantidad de eluyente (acetónitrilo) a través del cartucho con el fin de realizar la desorción de los compuestos atrapados en él.

#### 4.3. Acondicionamiento de la columna de concentración.

La columna de concentración, cartucho Sep-pak, se debe acondicionar antes de ser empleada, para eliminar cualquier contaminante que pudiera estar presente en el sistema, con aproximadamente 5 ml de metanol, eluyendo a una velocidad tal que se pueda mantener unos 10 minutos en el interior del cartucho. Una vez que todo el metanol haya eluido del cartucho, este se lava con ácido clorhídrico 0.1N, para la fracción ácida, o con agua destilada, para las fracciones neutra y básica, procurando que el cartucho quede lleno de



líquido. En este punto el cartucho queda listo para emplearse en el proceso de concentración de los compuestos estudiados. Una vez hecha la concentración de dichos compuestos, no se recomienda utilizar el mismo cartucho para análisis posteriores, ya que las muestras pudieran estar lo suficientemente sucias como para producir una adsorción irreversible de compuestos desconocidos. Sin embargo, si primero se hace la concentración de un estándar, o blanco de reactivos, si se puede volver a emplear el cartucho para otra concentración.

#### 4.4. Estándares.

Para los estándares se utilizó agua destilada desionizada, preparando concentraciones de 0.2 ppm de cada compuesto a estudiar; fenoles, aromáticos polinucleares y bencidinas.

El parámetro que se evaluó fue la eficiencia de recuperación en función de la presencia de agentes modificadores, metanol y cloruro de sodio, así como en función de la variación de parámetros de operación, tales como flujo, volumen de muestra utilizado y concentración.

#### 4.5. Muestras.

Con el procedimiento descrito se analizaron muestras de la planta de tratamiento de agua de la Universidad Nacional Autónoma de México y se concentraron para cada fracción, analizándose mediante cromatografía de gases.

#### 4.6. Cálculo de la eficiencia de recobro.

El cálculo de la eficiencia de recobro para cada técnica utilizada, se hizo pasando a través del cartucho previamente acondicionado, 200 ml de solución a una concentración de 0.2 ppm del compuesto correspondiente. Antes de pasar esta solución por el cartucho se ajusta el pH y se agrega un agente modificador en los casos en donde sea necesario.

Se hicieron blancos en paralelo con las muestras, los cuales se usaron para hacer las lecturas de absorbancia de las muestras. Para la lectura de los estándares se usó como blanco acetonitrilo.

Para los cálculos de concentración se hicieron lecturas de absorbancia en un espectrofotómetro de ultravioleta.

El cálculo de la concentración teórica final, después de realizado el procedimiento de concentración suponiendo un 100% de recobro, se hizo con la siguiente relación:

$$C = \frac{C' \cdot V'}{V}$$

donde

C = Concentración teórica final.

C' = Concentración inicial de la muestra.

V' = Volumen inicial de la muestra.

V = Volumen final.

Para este estudio se utilizaron las concentraciones y volúmenes siguientes: C' = 0.2 ppm; V' = 200 ml.; V = 4 ml. De esto se obtiene que C debe tener un valor de 10 ppm, concentración que se debería obtener considerando un 100% de recuperación en el proceso.

Para calcular la eficiencia de recuperación se determinó la concentración real de la solución que se concentró, mediante la siguiente ecuación:

$$C_{real} = C_{est} \times \frac{\text{Abs Mtra.}}{\text{Abs est.}}$$

donde

$C_{real}$  = Concentración después de realizado el proceso de concentración.

$C_{est}$  = Concentración de un estandar, considerando el 100 % de recobro.

Abs Mtra. = Absorbancia de la muestra.

Abs est. = Absorbancia del estandar.

El porcentaje de recobro, %R, del proceso se calculó mediante la siguiente relación:

$$\%R = \frac{C_{real}}{C_{est}} \times 100$$

ó

$$\%R = \frac{\text{absorbancia de la muestra}}{\text{absorbancia del estándar}} \times 100$$

## V. PROCEDIMIENTOS DE CONCENTRACION

Como resultado de los estudios realizados, se establecieron los siguientes procedimientos como los más apropiados para llevar a cabo la concentración de cada una de las fracciones consideradas: ácidos, neutros y básicos.

### 5.1. Concentración de ácidos (fenoles).

Se toman 50 ml de la muestra, ajustando el pH entre 1 y 2 con ácido sulfúrico 6N y se adiciona un 25% (w/v) de cloruro de sodio R.A.

Una vez que el cartucho Sep-pak ha sido acondicionado, como se indica en la sección 4.3, se hace pasar la muestra preparada a través de este, a un flujo aproximado de 10 ml/min.

Posteriormente se lava el cartucho con 2 ml de ácido clorhídrico 0.01N y se seca en una corriente de nitrógeno durante 10 min.

Finalmente, los compuestos son eluidos del cartucho con 2 ml de acetonitrilo y el extracto obtenido puede ser concentrado por evaporación del disolvente o aforado a un volumen mayor, según se requiera para el posterior análisis.

### 5.2. Concentración de neutros (aromáticos polinucleares).

Se toman 50 ml de la muestra, ajustando el pH entre 5 y 7 con ácido sulfúrico diluido (aprox. 0.1N), en el caso de

que la muestra tenga un pH básico, o con hidróxido de sodio diluido (aprox. 0.1N), en caso de que la muestra presente un pH inferior a 5, y se adiciona un 30% (v/v) de metanol R.A.

Una vez que el cartucho Sep-pak ha sido acondicionado, como se indica en la sección 4.3, se hace pasar la muestra preparada, a través de este, a un flujo aproximado de 10 ml/min.

Posteriormente se lava el cartucho con 2 ml de agua destilada y se seca en una corriente de nitrógeno durante 10 min.

Finalmente, los compuestos son eluidos del cartucho con 2 ml de acetonitrilo y el extracto obtenido puede ser concentrado por evaporación del disolvente o aforado a un volumen mayor, según se requiera para el posterior análisis.

### 5.3. Concentración de básicos (bencidinas).

Se toman 50 ml de la muestra, ajustando el pH entre 5 y 7 con ácido sulfúrico diluido (aprox. 0.1N), en el caso de que la muestra tenga un pH básico, o con hidróxido de sodio diluido (aprox. 0.1N), en caso de que la muestra presente un pH inferior a 5.0.

Una vez que el cartucho Sep-pak ha sido acondicionado, como se indica en la sección 4.3, se hace pasar la muestra preparada, a través de este, a un flujo aproximado de 10 ml/min.

Posteriormente se lava el cartucho con 2 ml de agua destilada y se seca en una corriente de nitrógeno durante 10 min.

Finalmente, los compuestos son eluidos del cartucho con 2 ml de acetonitrilo y el extracto obtenido puede ser concentrado por evaporación del disolvente o aforado a un volumen mayor, según se requiera para el posterior análisis.

En el siguiente diagrama se representa el procedimiento óptimo para concentrar cada una de las fracciones estudiadas.

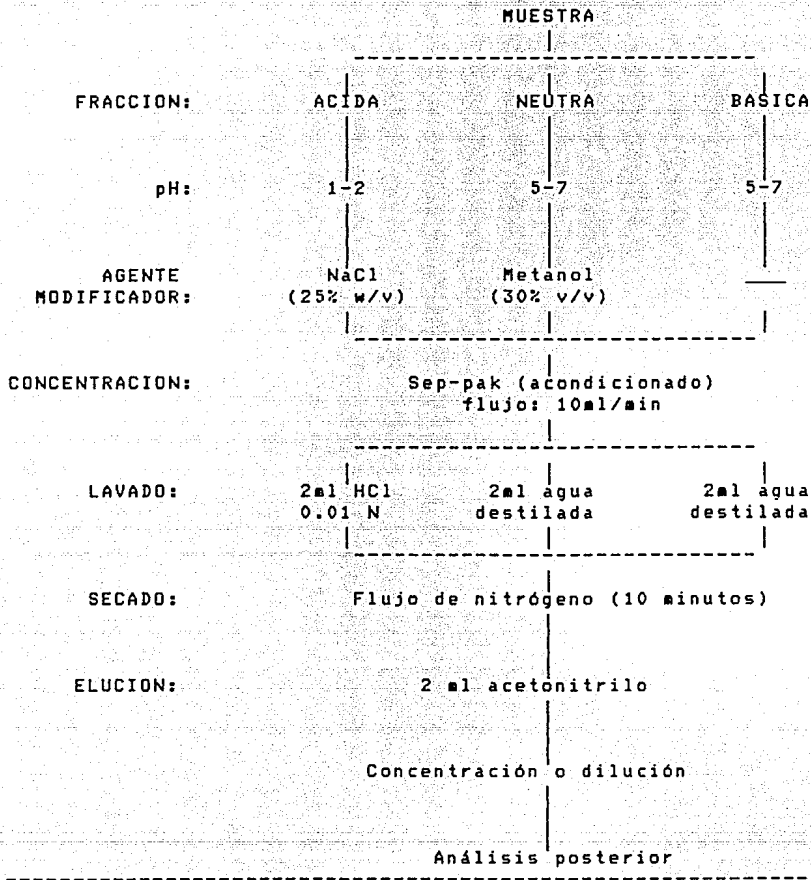


Diagrama de flujo que representa el proceso de concentración para cada una de las fracciones: Acida, Neutra y básica.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSION

Se buscaron y seleccionaron compuestos correspondientes a los tres grupos estudiados. Para cada compuesto se determinó la longitud de onda de máxima absorción, así como el intervalo de concentraciones, en donde se obtuviese una relación lineal para esta longitud de onda, como se observa en las figuras 6.1-A y 6.1-B y en los datos de la tabla 6.1.

Una vez que se logró establecer las longitudes de onda de máxima absorción y los intervalos de trabajo para cada compuesto estudiado se realizó el diseño instrumental (ver: Diseño y montaje instrumental, cap 4.2, pag 37) para llevar a cabo el proceso de concentración de cada fracción. Posteriormente, se realizó el estudio de recuperación para algunos compuesto a pH neutro y ácido, sin la adición de agentes modificadores, obteniéndose los resultados mostrados en la tabla 6.2 en donde se observa que, en general, las recuperaciones son muy bajas debido a lo cual se pensó en utilizar un agente modificador que fuera capaz de cambiar el factor de capacidad,  $k$ , en favor de la fase estacionaria, de tal manera que los solutos se pudiesen retener en una proporción mayor a la encontrada sin la adición de agente. De los datos obtenidos, también se deduce que la retención es afectada por el pH de la solución, ya que a pH ácido, los compuestos ácidos se retienen más, aunque no se logran las



Figura 6.1-A: Rangos lineales para los compuestos estudiados

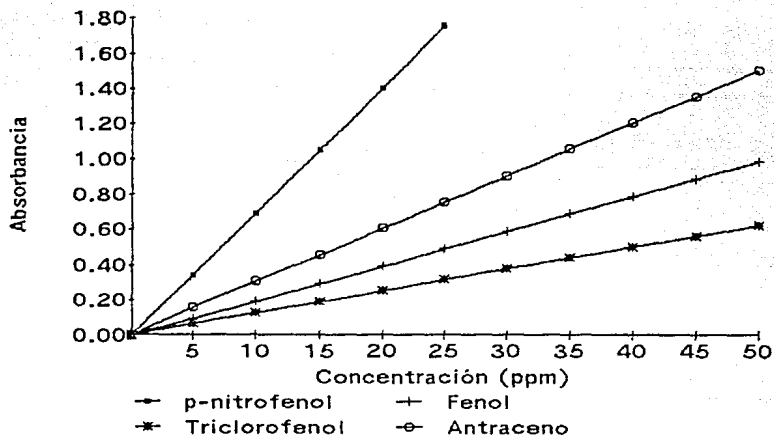
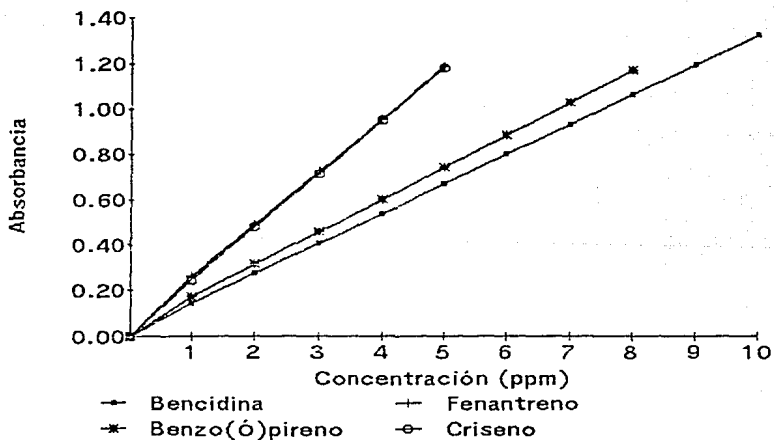


Figura 6.1-B: Intervalos lineales para los compuestos estudiados



| COMPUESTO            | FORMULA           | P.M.   | $\lambda_{max}$ (nm) | INTERVALO ESTUDIADO (ug/l) |
|----------------------|-------------------|--------|----------------------|----------------------------|
| Fenol                | $C_6H_6O$         | 94.11  | 272                  | 0.75-64.00                 |
| p-Nitrofenol         | $C_6H_5NO_2$      | 139.11 | 300                  | 0.79-16.86                 |
| 2-4-6 tri-clorofenol | $C_6H_2Cl_3O$     | 197.46 | 287                  | 0.86-73.67                 |
| Fenantreno           | $C_{14}H_{10}$    | 178.22 | 250                  | 0.30- 4.81                 |
| Naftaleno            | $C_{10}H_8$       | 128.16 | 220                  | 0.15- 1.75                 |
| Criseno              | $C_{18}H_{12}$    | 228.28 | 262                  | 0.37- 3.99                 |
| Antraceno            | $C_{14}H_{10}$    | 178.22 | 359                  | 0.97-41.31                 |
| Benocidina           | $C_{12}H_{10}N_2$ | 184.23 | 287                  | 0.88- 9.39                 |
| Benzo(e)pireno       | $C_{20}H_{12}$    | 252.30 | 298                  | 0.42- 8.95                 |

Tabla 6.1: Longitud de onda de máxima absorción y rango de trabajo para cada uno de los compuestos estudiados

recuperaciones deseadas, mientras que a pH cercano a 7.0 los compuestos neutros y básicos son los que presentan mayor retención.

Se sospechó, que debido a que los compuestos ácidos son muy solubles, las condiciones de extracción de los compuestos en la columna de concentración no eran las adecuada para obtener recuperaciones óptimas, es decir, recuperaciones mayores a las obtenidas con los métodos de concentración tradicionales.

Como la retención depende del factor de capacidad, al modificar este en favor de la fase estacionaria, se obtienen recuperaciones mayores. Esto se logró adicionando una sal (en este caso se agregó cloruro de sodio) la cual tiene como

| COMPUESTO               | pH  | %R    |
|-------------------------|-----|-------|
| o-Aminofenol            | 6-7 | 10.00 |
| Fenol                   | 2.0 | 35.89 |
| Fenol                   | 6-7 | 21.24 |
| p-Nitrofenol            | 2.0 | 33.26 |
| p-Nitrofenol            | 6-7 | 28.70 |
| Antraceno               | 2.0 | 10.07 |
| Antraceno               | 6-7 | 34.87 |
| Criseno                 | 6-7 | 17.13 |
| Fenantreno              | 6-7 | 63.96 |
| Diisodecilftalato       | 6-7 | 2.24  |
| Bencidina               | 2.0 | 15.56 |
| Bencidina               | 6-7 | 79.24 |
| Benzo( $\alpha$ )pireno | 6-7 | 5.53  |

Tabla 6.2: Porcentaje de recobro para algunos compuestos, sin adición de agente modificador.

función producir un "efecto salino", lo que favorece la retención de dichos solutos en la fase estacionaria. Este efecto ha sido tratado en la teoría de Debye-Hückel(34) para soluciones electrolíticas diluidas y concentradas. Además del efecto electrostático, muchas sales inorgánicas incrementan la tensión superficial de la solución acuosa, siendo tal incremento proporcional a la concentración. Por lo tanto, el logaritmo del factor de capacidad aumentará linealmente con la concentración de la sal, debido a un aumento en la tensión superficial de acuerdo a la ecuación de la sección 3.3 (Mecanismo de retención), favoreciendo el transporte de los solutos a la fase estacionaria.

La máxima recuperación se obtuvo con un 25% (w/v) de cloruro de sodio agregado a la solución, como se muestra en los resultados de la tabla 6.3 y 6.4.

| FENOL (pH = 2.0) |       |       |       |       |       |
|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| % NaCl (w/v)     | 0.0   | 10.00 | 20.00 | 30.00 | 40.00 |
| %R               | 35.89 | 45.00 | 77.00 | 79.43 | 70.32 |

Tabla 6.3: Porcentaje de recuperación en función de NaCl adicionado.

Se observa que el rendimiento para el fenol se incrementa de un 35.89%, obtenido sin adición de agente modificador, hasta un 79.43%, cuando se adiciona NaCl al 30% como agente modificador, mientras que para el p-nitrofenol se obtiene un incremento del 33.26% (tabla 6.2) al 84.42% (tabla 6.4) bajo las mismas condiciones. Asimismo, para la mayoría de los compuestos clasificados como ácidos, se obtienen recuperaciones superiores al 65%. Sin embargo, para el o-aminofenol la recuperación es muy baja, del 10.00%, debido quizá a que el mecanismo de retención en este medio es diferente que para los compuestos ácidos, ya que el grupo amino presente en el mismo le confiere características ácido-básicas diferentes a las de los otros compuestos.

| COMPUESTO       | pH  | %R    |
|-----------------|-----|-------|
| p-Nitrofenol    | 2.0 | 84.42 |
| Fenol           | 2.0 | 79.40 |
| p-Terbutilfenol | 2.0 | 92.29 |
| p-Fenilfenol    | 2.0 | 69.28 |
| O-Aminofenol    | 2.0 | 10.00 |

Tabla 6.4: Porcentajes de recuperación con un 25% (w/v) de NaCl, como agente modificador del medio.

Uno de los factores que es muy importante controlar es el pH, ya que la modificación del mismo hace que las recuperaciones se vean afectadas. Para los compuestos ácidos se observó que a pH neutro la recuperación disminuye notablemente, mientras que a un pH de 2, se obtuvieron las máximas recuperaciones.

Posteriormente se realizó una evaluación del comportamiento de los compuestos neutros con el mismo agente modificador utilizado para los compuestos ácidos, NaCl, obteniéndose recuperaciones inferiores a las obtenidas sin adición de agente modificador. Esto es debido a que en estos compuestos el fenómeno de "efecto salino" no produce el mismo efecto que para los compuestos ácidos, ya que su solubilidad en solución acuosa se incrementa cuando se adiciona la sal, provocando una disminución en el factor de capacidad, disminuyendo así su retención en la fase estacionaria del cartucho.

| COMPUESTO         | pH  | %R    |
|-------------------|-----|-------|
| Antraceno         | 6-7 | 20.87 |
| Fenantreno        | 6-7 | 33.96 |
| Diisodecilftalato | 6-7 | 0.98  |
| o-Aminofenol      | 6-7 | 9.78  |

Tabla 6.5: Recuperaciones obtenidas para compuestos neutros con un 25% (w/v) de NaCl como agente modificador.

Se realizó una evaluación de recuperación sin adición de agente modificador. Sin embargo, para todos los compuestos, se obtuvieron recuperaciones bajas, tabla 6.6, al igual que en el caso de la adición de NaCl.

Lo que pudiera estar sucediendo en este caso es probablemente un contacto no adecuado entre la fase móvil y la fase estacionaria del cartucho, ya que al ser esta hidrofóbica tiende a contraerse disminuyendo el área de contacto. Este efecto se puede eliminar al agregar un agente

| COMPUESTO         | pH  | %R    |
|-------------------|-----|-------|
| Antraceno         | 6-7 | 34.87 |
| Fenantreno        | 6-7 | 63.96 |
| Diisodecilftalato | 6-7 | 2.24  |
| o-Aminofenol      | 6-7 | 10.00 |

Tabla 6.6: Recuperaciones obtenidas para compuestos neutros sin agente modificador adicionado

| COMPUESTO         | pH  | % METANOL |       |       |       |       |
|-------------------|-----|-----------|-------|-------|-------|-------|
|                   |     | 0.0       | 10.00 | 20.00 | 30.00 | 40.00 |
| Antraceno         | 6-7 | 34.87     | 47.77 | 72.77 | 88.12 | 68.32 |
| Fenantreno        | 6-7 | 63.96     | 75.52 | 84.11 | 86.04 | 90.82 |
| Diisodecilftalato | 6-7 | 2.24      | 22.39 | 35.82 | 45.52 | 44.78 |
| o-Aminofenol      | 6-7 | 10.00     | ---   | 10.98 | 10.38 | ---   |

Tabla 6.7: Recuperaciones para compuestos neutros en función del % (v/v) de Metanol adicionado, a pH neutro.

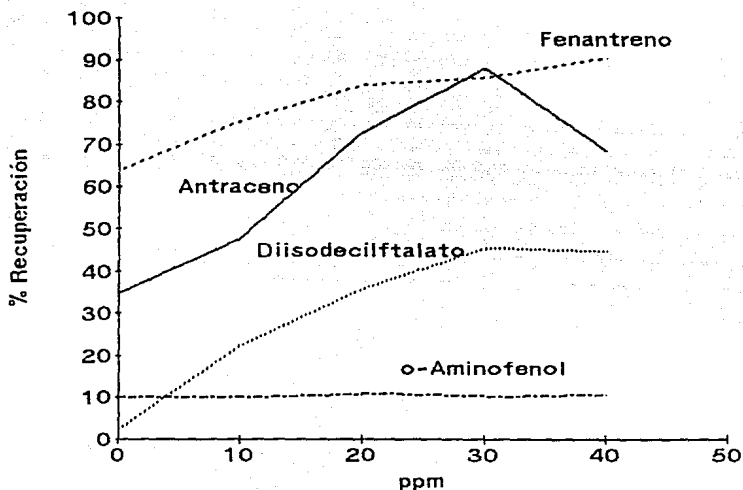


Figura 6.2: Porcentos de recuperaciones de compuestos neutros en función del % de Metanol (v/v) adicionado.

tal que produzca un gradiente de polaridad en la interfase, permitiendo un mejor "mojado" de la fase estacionaria, aumentando así el área de contacto. El agente modificador

que se empleo fue el metanol, obteniéndose las mejores recuperaciones cuando se adiciona entre un 30 y 40% (v/v) como se muestra en la tabla 6.7 y en la figura 6.2.

Para los compuestos básicos se determinó que la máxima recuperación se alcanza cuando no se adiciona ningún agente modificador a la solución y ajustando a un pH neutro, como se observa en la tabla 6.8

En esta tabla se observa que el máximo recobro, 79.24 %, se obtiene cuando no se adiciona ningún agente modificador a la solución acuosa y al un pH entre 6 y 7.

| BENCIDINA CON:            | pH  | %R    |
|---------------------------|-----|-------|
| 25% NaCl (w/v)            | 2.0 | 9.30  |
| Tampón de fosfatos (0.1M) | 2.0 | 0.60  |
| Tampón de fosfatos (0.1M) | 4.0 | 17.60 |
| Tampón de fosfatos (0.1M) | 6.0 | 77.69 |
| Sin modificador           | 2.0 | 15.56 |
| Sin modificador           | 6-7 | 79.24 |

Tabla 6.8: Porcentaje de recuperación de un compuesto básico (bencidina) con diferentes modificadores y sin modificador, a diferentes pHs.

Por otro lado se estudió la influencia del metanol en el estudio de recobro de la bencidina y del p-nitrofenol. De los resultados de las tablas 6.9 y 6.10 se observa que el % de recobro de la bencidina y del p-nitrofenol disminuye respectivamente, cuando se incrementa el porcentaje de metanol adicionado.



BENCIDINA

| %Metanol | 0.0   | 5.0   | 10.00 | 15.00 | 20.00 | 30.00 |
|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| %R       | 79.24 | 29.78 | 12.33 | 9.09  | 4.24  | 1.48  |

Tabla 6.9: Influencia del metanol en la recuperación de la bencidina.

p-NITROFENOL + 25% NaCl, pH=2

| %Metanol | 0.0   | 10.00 | 20.00 | 30.00 | 40.00 |
|----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| %R       | 84.42 | 45.19 | 29.38 | 34.45 | 25.86 |

Tabla 6.10: Influencia del metanol en la recuperación del p-nitrofenol.

También se estudió el efecto de la adición de NaCl en condiciones de máxima recuperación. El resultado, como se aprecia en la tabla 6.11, es una disminución en la recuperación de los compuestos.

| COMPUESTO + 30% Metanol (pH=7) | %R    |       |
|--------------------------------|-------|-------|
| %NaCl (w/v)                    | 0.0   | 25.00 |
| Fenantreno                     | 86.04 | 70.40 |
| Diisododeciltalato             | 45.52 | 0.00  |

Tabla 6.11: Influencia del NaCl en la recuperación de compuestos neutros.

En base a los resultados de las tablas 6.9, 6.10 y 6.11 se concluye que no es posible aplicar las técnicas de concentración para cada fracción de una manera continua a

una sola muestra, ni tampoco es posible hacer la concentración de dos tipos de fracciones mediante un solo procedimiento, por lo que es necesario hacer tres alícuotas de la muestra aplicando cada una de las técnicas a cada alícuota para tener las tres fracciones de compuestos estudiados.

Por otro lado se estudió la dependencia del volumen de muestra, la velocidad de flujo y la concentración del soluto sobre la eficiencia de recuperación para cada fracción. El estudio de estos factores es muy importante, ya que por medio de ellos se puede estimar la capacidad de carga de los cartuchos empleados, así como la rapidéz con que se puede realizar el análisis.

La primera dependencia que se estudió fue la del volumen. En este experimento, el objetivo fue determinar en que punto el cartucho se satura de soluto por efecto del volumen que se pasa a través de él, ya que esto nos permite saber el volumen óptimo de la muestra que se va a analizar. Para esto se consideraron volúmenes de 50, 200 y 400 ml, a una concentración inicial de 0.20 ppm del soluto. Para cada fracción se aplicó la técnica de concentración establecida con anterioridad y se determinó la recuperación de cada una de las muestras mediante espectroscopía de ultravioleta, realizando la cuantificación a las longitudes de onda de máxima absorción características de cada compuesto, utilizando las ecuaciones indicadas en el capítulo 4.6.

| FRACCION | VOLUMEN (ml) | %R     |
|----------|--------------|--------|
| Acidos   | 50.00        | 104.05 |
|          | 200.00       | 79.40  |
|          | 400.00       | 50.40  |
| Neutros  | 50.00        | 63.00  |
|          | 200.00       | 63.44  |
|          | 400.00       | 70.00  |
| Básicos  | 50.00        | 92.86  |
|          | 200.00       | 82.64  |
|          | 400.00       | 59.91  |

Tabla 6.12: Eficiencia de recuperación en función del volumen para las tres fracciones estudiadas.

En la tabla 6.12 y en las figuras 6.3-A, 6.3-B y 6.3-C se muestran las recuperaciones obtenidas cuando se hace variar el volumen de la muestra analizada.

De los resultados obtenidos se puede concluir que el aumento del volumen de muestra disminuye la recuperación de los solutos, lo que en los casos de los compuestos ácidos y básicos ocurre muy rápidamente.

Por otro lado, para los compuestos neutros no se observa ninguna diferencia significativa en la variación de la recuperación, lo que nos permite concluir, que en este único caso se puede eluir un volumen muy grande de muestra.

Se estableció un volumen óptimo de 50 ml ya que el incremento del mismo no mejora la recuperación en ninguno de los casos estudiados.

Figura 6.3-A: Variación del % de recuperación en función del volumen.

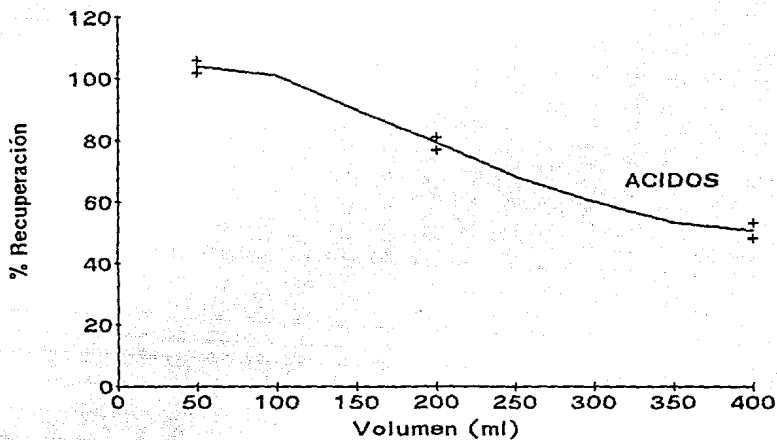


Figura 6.3-B: Variación del % de recuperación en función del volumen

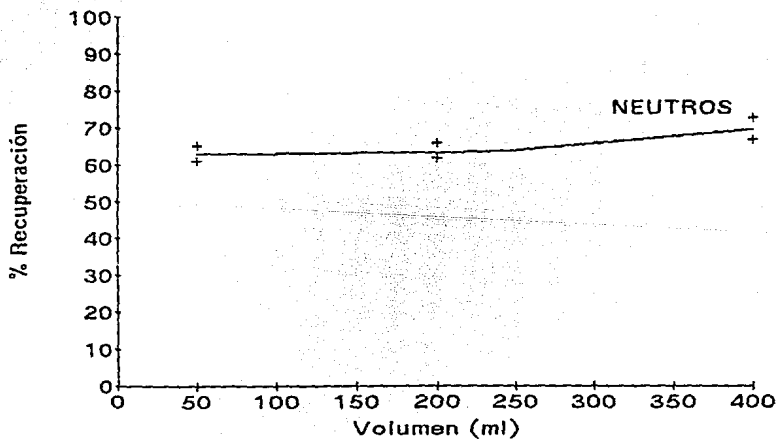
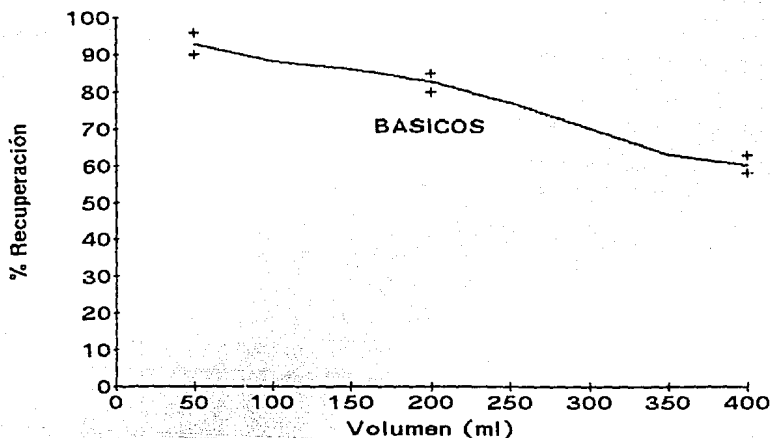


Figura 6.3-C: Variación del % de recuperación en función del volumen.



El siguiente parámetro estudiado fue el flujo que se establece durante el paso de la muestra a través del cartucho. Este flujo óptimo es importante evaluarlo ya que de él depende, en mayor proporción, el tiempo que se lleva a cabo el proceso de concentración de la muestra.

Para este experimento, se seleccionaron flujos de 5, 10 y 20 ml/min., tomándose un volumen base de 50 ml de solución estandar con una concentración de 0.20 ppm del soluto estudiado. Los flujos inferiores a 5 ml/min. provocan un tiempo mayor de 20 min en este paso del análisis, mientras que flujos mayores a 20 ml/min provocan una presión alta en el recipiente de muestra, ya que el flujo se establece en base a la presión del sistema (VER: Diseño y montaje

instrumental, cap 4.2, pag 37), lo que en un momento dado puede ser peligroso.

En la tabla 6.13 y en las figuras 6.4-A, 6.4-B y 6.4-C, se muestran las recuperaciones obtenidas cuando se hace variar la velocidad de flujo.

Al analizar estos datos se observa que el % de recuperación permanece invariable cuando se varía la velocidad de flujo de concentración, lo que indica que existe el suficiente contacto entre las dos fases, móvil y estacionaria, permitiendo así que los solutos se adsorban completamente, además de que no hay arrastre mecánico de los solutos por efecto del flujo de la fase móvil. Esto nos permite realizar el proceso de concentración en un tiempo relativamente corto, lo que favorece el número de análisis por unidad de tiempo. El tiempo que se requiere para concentrar el volumen de muestra óptimo (50 ml), a un flujo de 20 ml/min es de 2.5 minutos. Sin embargo, a un flujo de 20 ml/min, cuando se trabajó con frascos de vidrio, se obtuvo una presión tal que hizo explotar el envase, por lo que se recomienda un flujo menor, para disminuir dicha presión y utilizar envases de teflón o polipropileno para reducir riesgos. Por estas razones, se determinó como flujo de trabajo el de 10 ml/min.

| FRACCION | FLUJO(ml/min) | %R    |
|----------|---------------|-------|
| Acidos   | 5.00          | 24.04 |
|          | 10.00         | 23.56 |
|          | 20.00         | 24.04 |
| Neutros  | 5.00          | 55.63 |
|          | 10.00         | 59.73 |
|          | 20.00         | 59.73 |
| Básicos  | 5.00          | 88.70 |
|          | 10.00         | 88.50 |
|          | 20.00         | 90.50 |

Tabla 6.13: Variación de la recuperación en función del flujo, para las tres fracciones estudiadas.

Figura 6.4-A: Variación del % de rec. relativa en función del flujo.

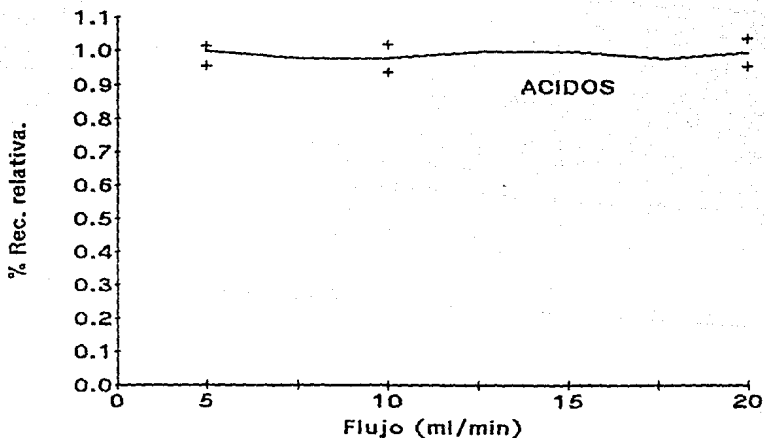


Figura 6.4-B: Variación del % de rec. relativa en función del flujo.

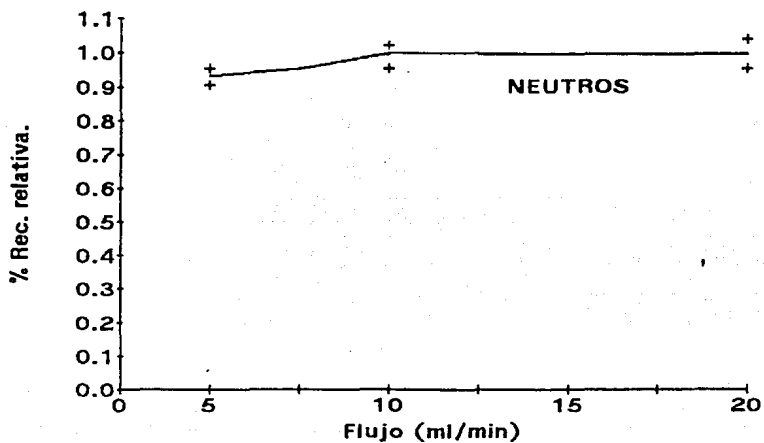
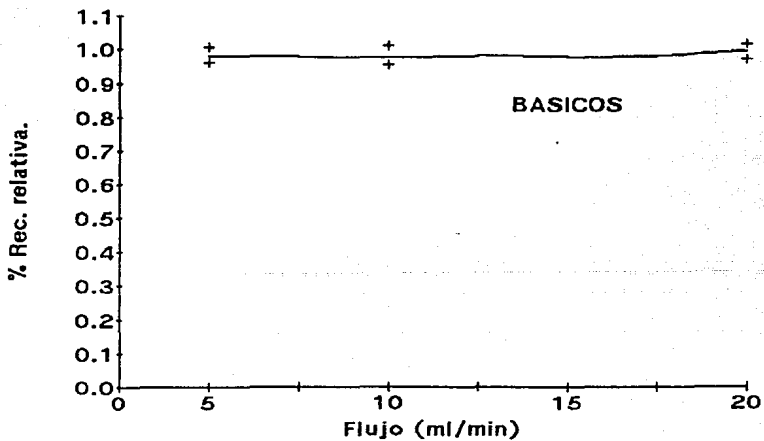


Figura 6.4-C: Variación del % de rec. relativa en función del flujo.





El último parámetro que se evaluó, fué la concentración máxima de soluto en solución para que no se llegue a saturar el cartucho, y que a su vez retenga cuantitativamente todo el compuesto que se pasa a través de él en ciertas condiciones preestablecidas.

Para este estudio, se seleccionaron intervalos de concentración de cada uno de los solutos estudiados, tal que estuvieran dentro del intervalo lineal de trabajo establecido con anterioridad. Se tomaron volúmenes de muestra de 50 ml y se realizó la concentración a un flujo de 10 ml/min.

En la tabla 6.14 y en las figuras 6.5-A, 6.5-B y 6.5-C, se muestran los resultados obtenidos al realizar estas variaciones de concentración.

| FRACCION | CONCENTRACION (ppm) | %R     |
|----------|---------------------|--------|
| Neutros  | 0.25                | 71.58  |
|          | 0.50                | 75.27  |
|          | 1.25                | 79.73  |
|          | 2.50                | 70.94  |
|          | 3.33                | 69.57  |
| Básicos  | 0.50                | 93.98  |
|          | 1.25                | 108.12 |
|          | 2.50                | 103.60 |
|          | 5.00                | 93.82  |
|          | 7.50                | 96.87  |
| Acidos   | 5.00                | 38.24  |
|          | 25.00               | 31.89  |
|          | 50.00               | 31.05  |

Tabla 6.14: Variación de los % de recuperación en función de la concentración del soluto estudiado.

De estos resultados se observa que no existe una diferencia significativa en la variación del % de recuperación al variar la concentración inicial del soluto, lo que significa que no existe una saturación del cartucho para las concentraciones estudiadas. Esto nos permite trabajar con muestras de concentración relativamente alta sin ninguna pérdida de la misma.

Fig 6.5-A: Variación del % de rec relativa en función de la concentración.

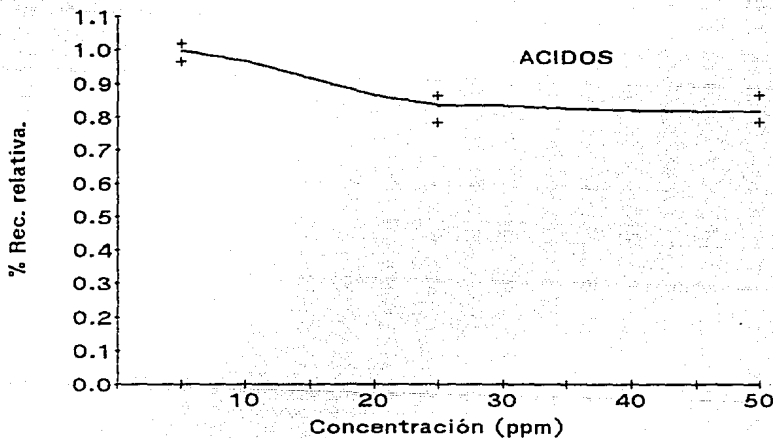


Fig 6.5-B: Variación del % de rec relativa en función de la concentración.

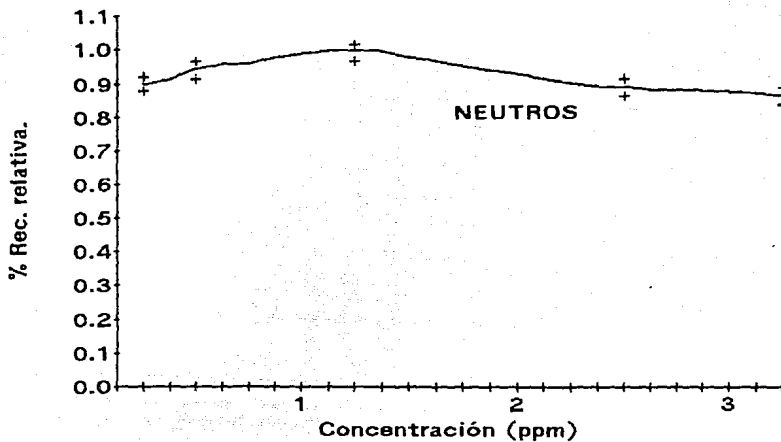
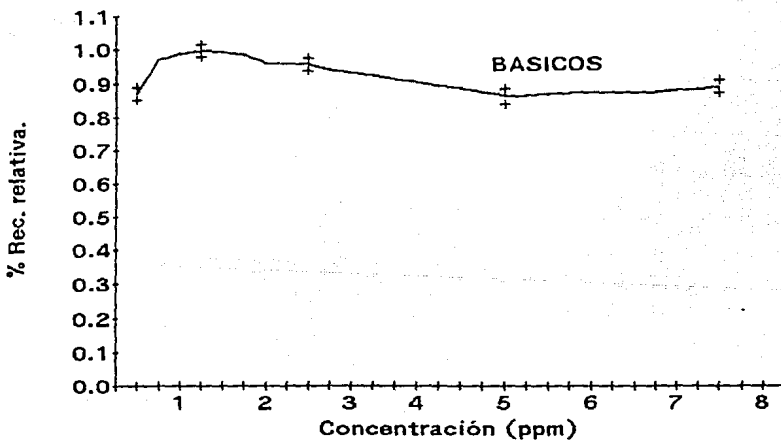


Fig 6.5-C: Variación del % de rec relativa en función de la concentración



Posteriormente se realizó el estudio de recuperación para las mezclas de las fracciones ácida, neutra y básica, mediante cromatografía de gases empleando una columna capilar OV-101 con programación de temperatura y usando detector de ionización de llama. En las tablas 16.15, 16.16 y 16.17 se muestran los porcentajes de recuperación para cada mezcla y en las figuras 6.6, 6.7 y 6.8 se muestran los cromatogramas de cada fracción de la mezcla de estándares. Se utilizó el área bajo la curva de cada señal para realizar el cálculo de la recuperación mediante la técnica de estandarización externa. Ya que se contaba únicamente con las mezclas de estándares, y no estándares individuales, no se hizo la identificación individual de cada compuesto, por lo tanto se realizó la identificación suponiendo la elución como función directa de la presión de vapor.

| COMPUESTO (32)       | t <sub>r</sub> | %R    |
|----------------------|----------------|-------|
| Fenol                | 3.64           | ---   |
| 2-Clorofenol         | 3.84           | 61.50 |
| 2-Nitrofenol         | 5.85           | 61.50 |
| 2,4-Dimetilfenol     | 6.22           | 87.09 |
| 2,4-Diclorofenol     | 6.54           | 78.49 |
| 4-Cloro-3-Metilfenol | 8.30           | 71.37 |
| 2,4,6-Triclorofenol  | 9.24           | 76.83 |
| 2,4-Dinitrofenol     | 11.37          | 51.38 |
| 4-Nitrofenol         | 14.27          | 35.03 |

Tabla 6.15: % de recuperación para la mezcla de compuestos ácidos.

De estos datos se puede observar que se puede realizar una plena cuantificación de los componentes, ya que existe

una separación muy buena en el sistema cromatográfico, además las recuperaciones son buenas.

| COMPUESTO (33)             | $t_r$ | %R    |
|----------------------------|-------|-------|
| Naftaleno                  | 6.38  | 9.06  |
| Acenaftileno               | 10.09 | 29.24 |
| Acenafteno                 | 10.56 | 43.09 |
| Fluoreno                   | 11.81 | 48.54 |
| Fenantreno                 | 14.05 | 48.06 |
| Antraceno                  | 14.17 | 39.89 |
| Fluoranteno                | 16.95 | 37.38 |
| Pireno                     | 17.44 | 40.97 |
| Criseno                    | 20.24 | 39.38 |
| Benzo( $\alpha$ )antraceno | 20.52 | 39.33 |

Tabla 6.16: % de recuperación para la mezcla de compuestos neutros.

| COMPUESTO(32)            | $t_r$ | %R     |
|--------------------------|-------|--------|
| Dimetil Ftalato          | 5.56  | 99.95  |
| Diethyl Ftalato          | 7.29  | 101.73 |
| Di-n-Butil Ftalato       | 11.40 | 59.40  |
| Butil Bencil Ftalato     | 14.96 | 45.47  |
| Bis(2-Etilhexil) Ftalato | 17.21 | 39.55  |

Tabla 6.17: % de recuperación para la mezcla de compuestos básicos.

Analizando estos resultados se observa que el recobro de estos compuestos en mezclas no es tan alto como los que se obtuvieron para los compuestos individuales. Esto

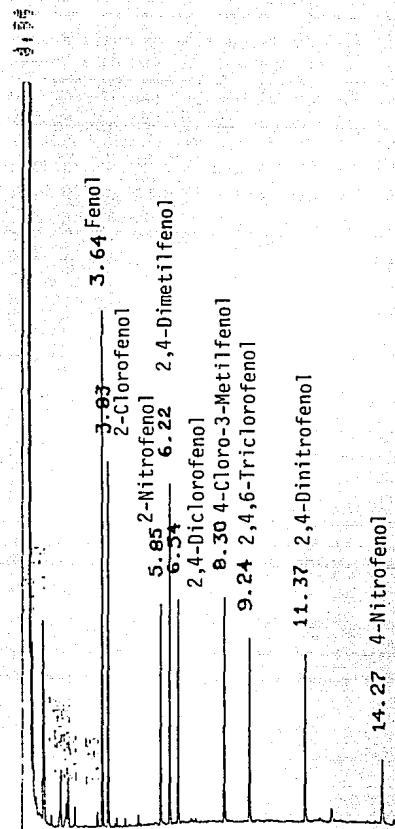
probablemente sea debido al cartucho, ya que se obtuvieron resultados diferentes cuando se cambio de lote, lo que implica que cuando se utilice un nuevo lote de cartuchos se tiene que realizar una evaluación de la eficiencia de recobro en base a un compuesto considerado como estándar. Por otro lado también se puede emplear columnas con una cantidad mayor de fase estacionaria, o probar con columnas de marcas diferentes, para determinar cuales son las más eficientes.

Finalmente se analizó una muestra real de la planta de tratamiento de aguas residuales de la UNAM. En el cromatograma de la figura 6.9, se muestra el influente de la planta de tratamiento antes de ser concentrada, mientras que los cromatogramas de las figuras 6.10, 6.11 y 6.12 muestran los influentes concentrados para las fracciones básica, neutra y ácida respectivamente, en donde se observa una gran cantidad de compuestos que no están presentes en los cromatogramas de los estándares, debido a que en el análisis de muestras reales también son extraídos toda una gran gama de compuestos no considerados en la lista de contaminantes prioritarios.

Las fracciones obtenidas fueron empleadas para la realización de pruebas de mutagenicidad en el Instituto de Biomédicas, comparando los resultados con los obtenidos mediante una extracción líquido-líquido, seguido de una evaporación del disolvente y redisolución en otro disolvente. La prueba de mutagenicidad empleada fue la

desarrollada por el Doctor Bruce N. Ames, que utiliza diversas cepas de *Salmonella typhimurium* deficientes en histidina. Esta prueba ha sido usada para detectar actividad mutagénica en agua de origen muy diverso.

De los resultados obtenidos de las pruebas de mutagenicidad, mediante las dos técnicas de concentración, se determinó que la técnica de concentración con los cartuchos Sep-pak se obtiene una precisión mayor que la de extracción líquido-líquido.

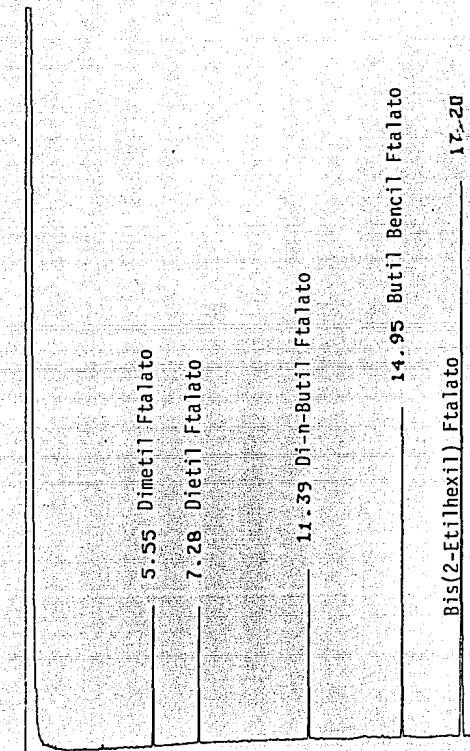


ESTANDAR: ACIDOS  
 COLUMNA CAPILAR OV 101 (12M)  
 PPROGRAMA: 2 MIN A 70°C, 10°/MIN A 250°C.  
 DETECTOR: DIF

Figura 6.6. Cromatograma de estándares de compuestos ácidos.

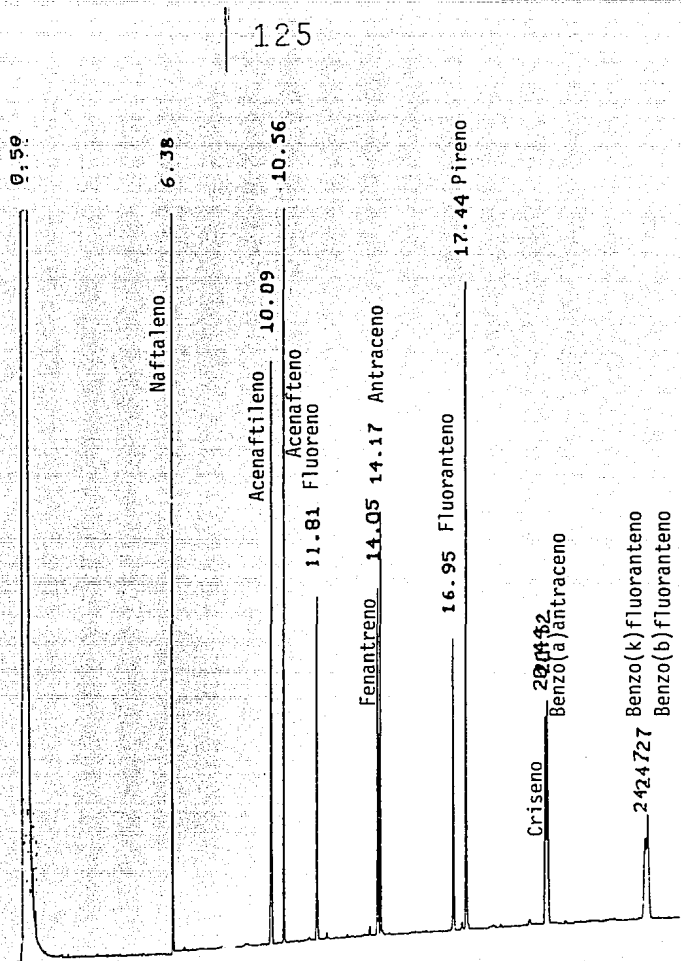


0.10



ESTANDAR: BASICOS  
COLUMNA CAPILAR OV 101 (12M)  
PROGRAMA: 2 MIN A 70°, 10°/MIN A 250°C.  
DETECTOR: DIF.

Figura 6.7. Cromatograma de estándares de compuestos básicos.



ESTANDAR: NEUTROS  
 COLUMNA CAPILAR OV-101 (12M)  
 PROGRAMA: 2 MIN A 70°C, 10°/MIN A 250°C.  
 DETECTOR: PIF

Figura 6.8. Cromatograma de estándares de compuestos neutros.

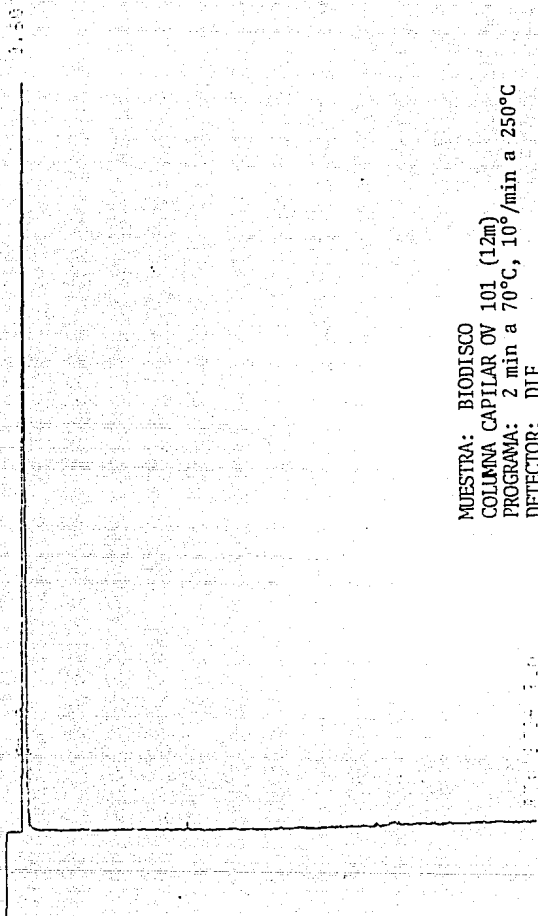


Figura 6.9. Cromatograma de una muestra de influente de la planta de tratamiento de agua de la UNAM.

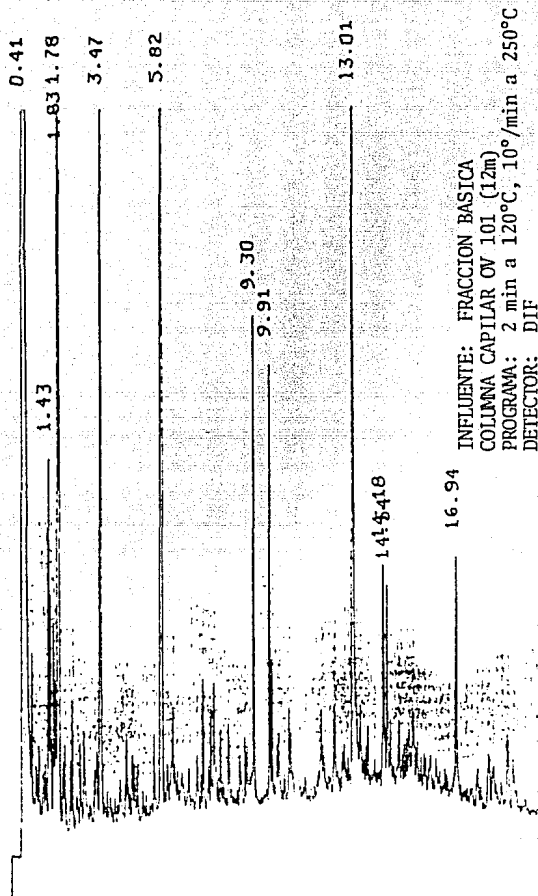


Figura 6.10. Cromatograma de la fracción básica después de la concentración de una muestra de influente de la planta de tratamiento de agua de la UNAM.

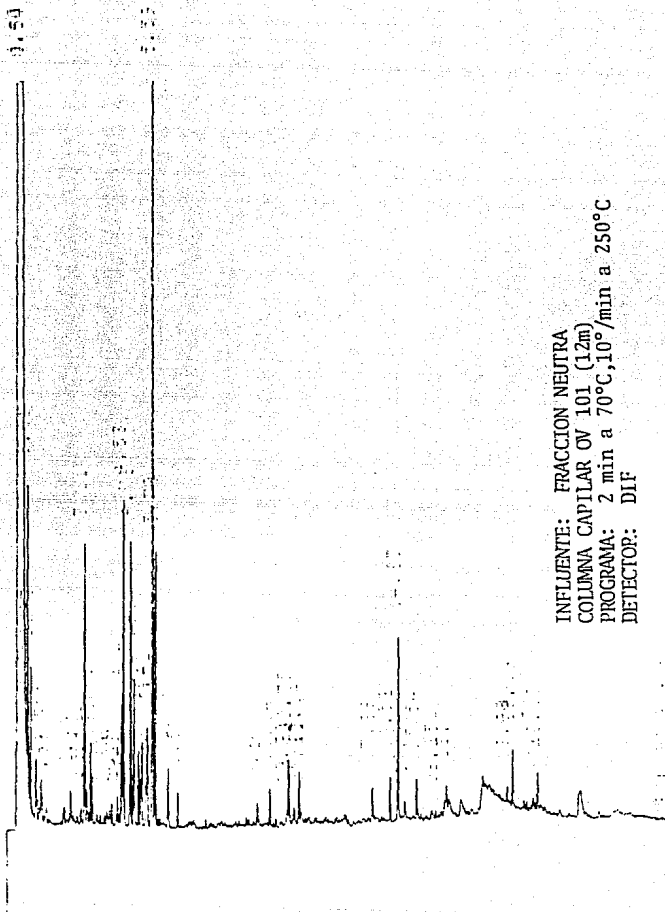


Figura 6.11. Cromatograma de la fracción neutra después de la concentración de una muestra de influente de la planta de tratamiento de agua de la UNAM.

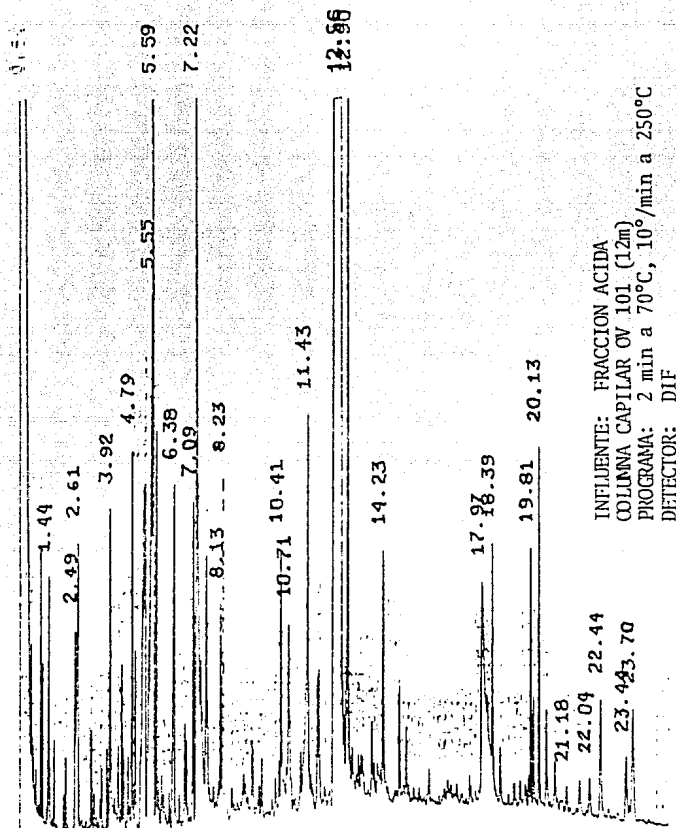


Figura 6.12. Cromatograma de la fracción ácida después de la concentración de una muestra de influente de la planta de tratamiento de agua de la UNAM.

## VII. CONCLUSIONES.

Mediante este trabajo se logró establecer técnicas de extracción de compuestos orgánicos presentes en muestras de agua para las fracciones ácida, neutra y básica, haciendo uso de cartuchos comerciales Sep-pak de bajo costo. Estas técnicas, en un momento dado, se pueden utilizar como técnicas alternas en el proceso de concentrado en otro tipo de muestras o fracciones diferentes a las estudiadas.

En condiciones óptimas, estas técnicas de concentración tienen una eficiencia de recuperación mayor a las técnicas tradicionales, las cuales son de aproximadamente del 70%, además de que la concentración de la muestra se lleva a cabo solamente en unos cuantos minutos, lo que hace que el proceso de extracción no determine de una manera crítica el tiempo total del análisis y la instrumentación para llevar a cabo dicha concentración es simple y fácil de operar.

Otra probable ventaja que ofrece este sistema, no demostrado en este trabajo, es que se pueden colocar dos o más cartuchos en serie, lo que nos permite trabajar con volúmenes de muestras y/o concentraciones mayores a las estudiadas, evitando que llegara a saturarse el sistema. Otra forma de solucionar este problema, sería empacando en el propio laboratorio columnas de mayor capacidad tal que

nos permitiera tener una mayor cantidad de fase estacionaria que la que se tiene en los cartuchos comerciales.

Una desventaja de este sistema es que no se pueden concentrar las tres fracciones a partir de una sola alícuota, es decir no se tiene la posibilidad de hacer las concentraciones en serie debido a que la adición de un agente modificador para llevar a cabo la concentración de una de las fracciones, contrarresta el efecto del otro modificador, abatiendo la eficiencia de recuperación de las otras fracciones en estudio. Sin embargo, esta desventaja no es crítica, ya que es posible obtener las fracciones tomando tres alícuotas de muestra y concentrar por separado cada una de ellas, inclusive ni el tiempo de análisis se prolongaría demasiado, ya que como se ha mencionado antes el tiempo de concentrado es solo de unos cuantos minutos.

De los análisis de las muestras reales que se hicieron se puede concluir que la técnica funciona satisfactoriamente ya que este procedimiento puede sustituir otros procesos de extracción más costosos y con un tiempo de operación mayor.

Respecto a los cartuchos utilizados, cabe mencionar que el número promedio de muestras concentradas sin que la eficiencia se viera alterada fue de seis veces por cartucho. Sin embargo, se observó en algunos casos que este número promedio fue menor y que, entre diferentes lotes de cartuchos las recuperaciones para algunos compuestos no eran reproducibles. De esta manera se recomienda llevar a cabo una evaluación de la capacidad de concentración del lote por



utilizar mediante un estándar establecido en el laboratorio de trabajo.

Como conclusión final se establece que se lograron cubrir los objetivos establecidos al inicio de este trabajo, ya que se tiene una metodología alterna para la concentración de contaminantes en agua, clasificados según la U.S.E.P.A. como ácidos, neutros y básicos. También se tiene desarrollada la técnica cromatográfica para realizar el análisis cualitativo y cuantitativo de dichos contaminantes, además de que se cuenta con una técnica espectrofotométrica que pudiera utilizarse para muestras sencillas. Finalmente la técnica propuesta se aplicó al análisis de muestras reales de agua obteniéndose resultados de análisis similares a los obtenidos empleando distintas técnicas de concentración. Sin embargo para hacer una extrapolación más confiable, se deben realizar más pruebas.

VIII. BIBLIOGRAFIA.

1. M. Dressler, *J Chromatogr* **165**, 167-206, 1974.
2. R. Ronsen, *Comunications Gas Chromatography*.
3. C.C. Smith, Strategy for collection of drinking water concentrates, University of Cincinnati, Cincinnati, Ohio.
4. M.W. Dong, J.L. DiCesare, *J. Chromatogr Sci.*, **20**, 1982.
5. J.C. Loper, *Mut. Research* **76**, 241-268, 1980.
6. W.G. Honer, M.J. Ashwood-Smith, C. Warby, *Mut. Research* **78**, 137-144, 1980.
7. V. Leoni, G. Puccetti, A. Grella, *J. Chromatogr.* **106**, 199-224, 1975.
8. M.E. McNally, R.L. Grob, *J. Chromatogr.* **284**, 105-116, 1984.
9. W.E. Coleman, R.G. Melton, F.C. Kopfler, K. A. Barone, T. A. Aurand, M. G. Jellison, *Environ. Sci. Technol.* May, 1980, 576-588
10. R.H. Perry, C.H. Chilton, *Biblioteca del ingeniero químico*, Mc Graw-Hill, Quinta edición, 1984.
11. *Federal Register*, **44**, No 233, 1979, Proposed Rules.
12. R.C. Chang, J.S. Fritz, *Talanta*, **25**, 659-663.
13. W.A. Hoffman, Jr., *Anal. Chem.* **50**, No 14, 1978.
14. M.C. Goldberg, E.R. Weiner, *Anal. Chim. Acta* **115**, 373-378, 1980.
15. R. Otson, D.T. Williams, *J. Chromatogr.* **212**, 187-197, 1981.
16. P.V. Rossum, R.G. Webb, *J. Chromatogr.* **150**, 381-392, 1978.
17. A. Lagana, G. Goretti, E.M. Petronio, M. Rotatori, *J. Chromatogr.*, **219**, 263-271, 1981.
18. R.L. Petty, *Anal. Chem.*, **53**, 1548-1551, 1981.
19. B. Olufsen, *Anal. Chim. Acta*, **113**, 393-394, 1980.
20. J.P. Ryan, J.S. Fritz, *J. Chromatogr. Sci.*, **16**, 1978.
21. M.R. Rice, H.S. Gold, *Anal. Chem.*, **56**, 1436-1440, 1984.
22. J.M. Warner, R.K. Reasley, *Anal. Chem.*, **56**, 1953-1956, 1984.
23. J.M. Rosenfeld, M. Mureika-Russell, A. Phatak, *J. Chromatogr.*, **283**, 127-135, 1984.
24. M.F. Mehran, R.A. Slikfer, W.J. Cooper, *J. Chromatogr. Sci.*, **22**, 241-243, 1984.
25. H. Peterson, G.A. Eiceman, L.R. Field, R.E. Sievers, *Anal. Chem.*, **50**, 2152-2154, 1978.
26. C.M. Josefson, J.B. Johnston, R. Trubey, *Anal. Chem.*, **56**, 764-768, 1984.
27. P.G. Desideri, L. Lepri, D. Hemler, S. Giannessi, L. Checchini, *J. Chromatogr.* **284**, 179-185, 1984.
28. D.A. Skoog, D.M. West, *Análisis Instrumental, Interamericana*, 1975.
29. T. Johns, *Gas chromatography applications manual*, Beckman, 1965.
30. Snyder L.K., Kirland J.J., *Introduction to modern liquid chromatography*, Wiley-Interscience, Nueva York, 1979.
31. K. Snyder, *An Introduction to Separation Science*.
32. H.M. McNair, B. Esquivel, *Cromatografía líquida de alta resolución*, Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos, 1980.
33. L.E. VERA, *Métodos de Separación I, Cromatografía de Líquidos*, apuntes U.N.A.M., 1986.
34. C. Horvath, W. Melander, *J. Chromatogr. Sci.* **15**, 393-404, 1977.

Otras Referencias.

- P.G. Simmonds, *J. Chromatogr.* **289**, 117-127, 1984
- R. Otson, D.T. Williams, *Anal. Chem.*, **54**, 942-946, 1982.
- W.V. Ligon, Jr., H. Grade, *Anal. Chem.*, **53**, 920-921, 1981.
- L. Renberg, *Anal. Chem.* **50**, 1836-1838, 1978.

- C.E. Werkhoven-Goewie, U.A. Th. Brinkman, R.W. Frel, Anal. Chem., 53, 2072-2080, 1981.
- J.J. Richard, C.D. Chriswell, J.S. Fritz, J. Chromatogr., 199, 143-148, 1980.
- D.A.J. Murray, W.L. Lockhart, J. Chromatogr., 212, 305-311, 1981.
- A. Lagana, B.M. Petronio, M. Rotatori, J. Chromatogr., 198, 143-149, 1980.
- D.A.J. Murray, J. Chromatogr., 177, 135-140, 1979.
- A. Tateda, J.S. Fritz, J. Chromatogr., 152, 329-340, 1978.
- J.A. Glaser, D.L. Foerst, G.D. McKee, S.A. Quave, W.L. Rudde, Environ. Sci. Technol., 15, 1426-1435, 1981.
- A.J. Burgasser, J.F. Colaruotolo, Anal. Chem., 51, 1588-1589, 1979.
- R. Aiken, E.M. Thurman, R.L. Malcolm, H.F. Walton, Anal. Chem., 51, 1799-1803, 1979.
- J. Buffle, P. Deladoey, W. Haerdi, Anal. Chem. Acta, 101, 339-357, 1978.
- G.A. Junk, J.J. Richard, M.D. Grieser, D. Witiak, J.L. Witiak, M.D. Arguello, R. Vick, H.J. Svec, J.S. Fritz, G.V. Calder, J. Chromatogr., 99, 745-762, 1974.
- H.J. Kool, C.F. van Kreijl, H.J. van Kranen, E. de Greef, Chemosfere, 10, 85-98, 1981.