

00550



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
QUÍMICAS**

**INFLUENCIA DE LA MATERIA ORGÁNICA EN LOS PARÁMETROS DE LA  
EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (EFS) DE COMPUESTOS  
ORGÁNICOS EN MUESTRAS ACUOSAS**

TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q. A. ADRIANA RODRÍGUEZ CASTILLO



TUTOR: Dra. Martha Patricia García Camacho AÑO: 2005

m346719



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.

---

## AGRADECIMIENTOS

A la Dirección General de Estudios de Posgrado (**DGEP**) por la beca otorgada, sin su apoyo económico no hubieran sido posibles mis estudios de Posgrado.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (**DGAPA**) por el presupuesto otorgado mediante el Proyecto **PAPIIT – IN249204** para la realización de este trabajo.

Un agradecimiento muy especial a la Dra. Martha Patricia García Camacho por su asesoría, gran paciencia e incansable apoyo, que hicieron posible la culminación de esta meta.

Al M. en C. Francisco Rojo por su inestimable colaboración y sus conocimientos de cómputo.

A la Dra. Luz Elena Vera por las facilidades otorgadas dentro de su laboratorio y sus valiosas observaciones.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Adriana Rodríguez  
Castillo

FECHA: 10 de Agosto de 2005

FIRMA: 

---

---

## JURADO ASIGNADO

**Presidente:** Dr. Rafael Villalobos Pietrini

**Vocal:** Dr. Alfonso Vázquez Botello

**Secretario:** Dra. Luz Elena Vera Ávila

**Primer suplente:** Dra. María Guadalupe Albarrán Sánchez

**Segundo suplente:** Dra. Araceli Patricia Peña Álvarez

Este trabajo se realizó en el laboratorio B-201 del Edificio "B" de la Facultad de Química, UNAM.

**Asesora del tema:**

---

Dra. Martha Patricia García Camacho

**Sustentante:**



---

Q.A. Adriana Rodríguez Castillo



LISTA DE ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA .....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVO Y METAS .....</b>	<b>3</b>
<b>3. ANTECEDENTES .....</b>	<b>4</b>
3.1. DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS EN AGUA .....	4
3.1.1 Análisis de pesticidas por cromatografía de gases (CG) .....	5
3.1.2 Análisis de pesticidas por cromatografía de líquidos (CL) .....	6
3.1.3 Extracción en fase sólida (EFS) .....	8
3.2. LA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (EFS) .....	9
3.2.1 Generalidades .....	9
3.2.1.1 Usos y aplicaciones .....	10
3.2.1.2 Procedimiento .....	10
3.2.1.3 Modalidades .....	12
3.2.1.3.1 Métodos en diferido .....	12
3.2.1.3.2 Métodos en línea .....	13
3.2.1.4 Automatización .....	15
3.2.1.5 Adsorbentes .....	17
3.2.1.5.1 Sílice n-alkil enlazada .....	19
3.2.1.5.2 Fases poliméricas .....	20
3.2.1.5.3 Otros adsorbentes .....	22
3.2.2 Similitud entre la EFS y la CLAR y desarrollo del método .....	25
3.2.3 Parámetros .....	27
3.2.3.1 Volumen de fuga (Vf) .....	27
3.2.3.1.1 Medición experimental .....	28
3.2.3.1.1.1 Método del frente de elución .....	28
3.2.3.1.1.2 Método de preconcentración en línea con la CLAR .....	28
3.2.3.1.2 Predicción .....	29
3.2.3.1.2.1 Uso del factor de retención $k'$ .....	29
3.2.3.1.2.2 Modelos de estimación de $k'w$ .....	31
3.2.3.1.2.2.1 Extrapolación gráfica .....	33
3.2.3.1.2.2.2 Método de adsorción .....	34
3.2.3.1.2.2.3 Uso del coeficiente de reparto octanol-agua (P) .....	35
3.2.3.1.2.2.4 Uso del modelo del parámetro de solvatación .....	36
3.2.3.2 Rendimiento de extracción (R%) .....	37
3.3 INTERFERENCIAS .....	37
3.3.1 Materia orgánica .....	37
3.3.1.1 Definición y composición .....	37
3.3.1.2 Efectos sobre la EFS .....	41
3.3.1.3 Revisión de casos donde se reduce el efecto de la materia orgánica en los R%.....	43
3.3.2 Materia inorgánica .....	45

<b>4</b>	<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>47</b>
4.1	REACTIVOS Y EQUIPOS .....	47
4.1.1	Reactivos .....	47
4.1.2	Sistema cromatográfico .....	47
4.1.3	Sistema de preconcentración .....	49
4.1.4	Descripción del montaje de acoplamiento en línea del sistema de preconcentración con el sistema cromatográfico .....	49
4.2	SEPARACIÓN ANALÍTICA .....	51
4.3	EVALUACIÓN DE LA REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DEL SISTEMA CROMATOGRÁFICO .....	51
4.4	ESTIMACIÓN DEL FACTOR DE RETENCIÓN EN AGUA PURA ( $k'w$ ) PARA EL CÁLCULO DE LOS VOLÚMENES DE RETENCIÓN ( $V_r$ ) Y LOS VOLÚMENES DE FUGA TEÓRICOS ( $V_{fT}$ ) EN PRECOLUMNAS .....	52
4.4.1	Estimación del $k'w$ .....	52
4.4.2	Cálculo de $V_r$ .....	52
4.4.3	Cálculo de $V_{fT}$ . Simulación de curvas .....	53
4.5	DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN (R%) Y VOLUMEN DE FUGA EXPERIMENTAL ( $V_{fE}$ ) .....	53
4.5.1	Agua pura .....	53
4.5.2	Muestras sintéticas fortificadas con ácidos húmicos .....	54
4.5.2.1	Preparación de muestras sintéticas .....	54
4.5.2.2	Determinación de R% y $V_{fE}$ .....	55
4.5.3	Muestras acuosas naturales .....	55
<b>5</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>57</b>
5.1	SEPARACIÓN ANALÍTICA Y EVALUACIÓN DE LA REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DEL SISTEMA CROMATOGRÁFICO .....	57
5.2	ESTIMACIÓN DEL FACTOR DE RETENCIÓN EN AGUA PURA ( $k'w$ ) PARA EL CÁLCULO DE LOS VOLÚMENES DE RETENCIÓN ( $V_r$ ) Y LOS VOLÚMENES DE FUGA TEÓRICOS ( $V_{fT}$ ) EN PRECOLUMNAS .....	59
5.2.1	Estimación del $k'w$ .....	59
5.2.2	Cálculo de $V_r$ y de $V_{fT}$ . Simulación de curvas .....	67
5.3	DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN (R%) Y VOLUMEN DE FUGA EXPERIMENTAL ( $V_{fE}$ ) .....	69
5.3.1	Agua pura .....	69
5.3.2	Muestras sintéticas fortificadas con ácidos húmicos .....	81
5.3.3	Muestras acuosas naturales .....	96
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>108</b>
<b>7</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>109</b>
<b>8</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>116</b>
1.	Estructuras y solubilidad de los compuestos estudiados .....	116
2.	Determinación de carbono orgánico total (COT) .....	120
3.	Cuadro de valores de $\log k'w$ extrapolados por regresión lineal y cuadrática para cada plaguicida sobre fase C18 .....	121
4.	Cuadro de valores de $\log k'w$ extrapolados por regresión lineal y cuadrática para cada plaguicida sobre fase PLRP-S .....	122
5.	Cuadro de valores de $R^2$ para las regresiones lineales y cuadráticas de las curvas $\log k'w = f$ (% de MeOH en fase móvil) de cada compuesto sobre C18 y PLRP-S.....	123
6.	Valores promedio de Log P de los compuestos estudiados .....	124
7.	Gráficas experimentales y teóricas de $R\% = f$ (volumen aplicado) .....	125
8.	Gráficas experimentales de $R\% = f$ (volumen aplicado) en agua pura y muestras sintéticas ...	130

## LISTA DE ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

2-OH	2-hidroxi
3-OH	3-hidroxi
AD	Arreglo de diodos
AF	Ácidos fúlvicos
AH	Ácidos húmicos
A <sub>o</sub>	Absorbancia inicial
C18	Octadecil enlazada
C8	Octil enlazada
CE	Captura de electrones
CG	Cromatografía de gases
CGP	Carbón grafitizado poroso
CL	Cromatografía de líquidos
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución
COT	Carbono orgánico total
CV	Coefficiente de variación
d.i.	Diámetro interno
d.p.	Diámetro de partícula
Da	Daltones
DE	Desviación estándar
DEA	Desetilatrazina
DIA	Deisopropilatrazina
EFS	Extracción en fase sólida
ELL	Extracción líquido-líquido
EM	Espectrometría de masas
F	Fluorescencia
FI	Fuerza iónica
FF	Fotométrico de flama
k'	Factor de retención
k' <sub>w</sub>	Factor de retención en agua pura
LD	Límite de detección
MAR	Medio de acceso restringido
MeOH	Metanol
MOD	Materia orgánica disuelta
N	Número de platos teóricos
NP	Nitrógeno-fósforo
P	Coefficiente de reparto octanol-agua
PE-DVB	Poliestireno divinilbenceno
PLRP-S	Fase de poliestireno divinilbenceno de Polymer Labs.
PSFE	Programa de Simulación del Frente de Elución
R%	Rendimiento de extracción
R <sup>2</sup>	Coefficiente de correlación lineal
SAMOS	Sistema para el monitoreo automatizado de contaminantes orgánicos en agua superficial, por sus siglas en inglés
US EPA	Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos, por sus siglas en inglés
UV	Ultravioleta
V <sub>c</sub>	Volumen geométrico de la precolumna
V <sub>f</sub>	Volumen de fuga
V <sub>fE</sub>	Volumen de fuga experimental
V <sub>fT</sub>	Volumen de fuga teórico
V <sub>m</sub>	Volumen máximo de preconcentración
V <sub>o</sub>	Volumen muerto
V <sub>r</sub>	Volumen de retención
ε	Porosidad del adsorbente
σ <sub>v</sub>	Desviación estándar dependiente de la dispersión axial en el adsorbente

---

## RESUMEN

La Extracción en Fase Sólida (EFS) acoplada en línea con la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) permite de manera simultánea la extracción, la preconcentración y la determinación de analitos en muestras acuosas a niveles traza. Los parámetros de la EFS son el volumen de fuga ( $V_f$ ) y el rendimiento de extracción (R%). El conocimiento de los valores de estos parámetros conduce a establecer las mejores condiciones de recuperación de los analitos en el sistema de extracción utilizado. Un modelo basado en el análisis frontal provee los elementos necesarios para realizar la estimación del  $V_f$  de los compuestos orgánicos presentes en muestras de agua purificada y desmineralizada ("pura"). Sin embargo, el modelo presenta desviaciones cuando se aplica a las aguas naturales cargadas de otros componentes orgánicos e inorgánicos. Por esta razón, como contribución al perfeccionamiento del modelo antes mencionado, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la materia orgánica disuelta (MOD) presente en muestras acuosas sobre los valores de los parámetros de la EFS de compuestos orgánicos pertenecientes a 3 familias de pesticidas: fenilureas (3), triazinas(12) y carbamatos (10), utilizando los adsorbentes C18 y PLRP-S. Un estudio con diferentes niveles de concentración de MOD y un grupo de pesticidas con polaridades muy variadas no se había realizado antes. Sobre la base de la similitud entre la EFS y la CLAR, se estimaron gráficamente los valores de  $k'_w$  de cada compuesto mediante la extrapolación de las curvas  $\log k'_w = f(\%$  de metanol en la fase móvil) sobre cada adsorbente. Con los valores de  $k'_w$  se realizaron los cálculos del volumen de fuga teórico ( $V_{fT}$ ) en ambas fases para cada compuesto. Las curvas de rendimiento de extracción  $R\% = f(\text{volumen aplicado})$  proporcionaron los valores de volumen de fuga experimental ( $V_{fE}$ ) y el R% para los compuestos con valores de  $V_{fT} < 500$  mL. Se utilizaron muestras fortificadas de agua purificada y agua purificada adicionada con ácidos húmicos (AH) a 4 niveles de concentración (0.4, 1.5, 3.7 y 5.6 mg/L). También se estudiaron los R% con muestras de aguas naturales (grifo, manantial, pozo, río, presa, lago) en la fase PLRP-S. De manera general, se observó que conforme aumenta la concentración de MOD, el R% disminuye para los compuestos más polares siguiendo tendencias negativas lineales o logarítmicas en ambas fases. Se encontraron diferencias en la afectación por MOD del R% entre los 3 grupos de pesticidas estudiados sobre C18 y sobre PLRP-S, diferencias posiblemente de naturaleza estructural que radican en la polaridad y en las interacciones electrónicas con el adsorbente. La presencia de MOD por sí sola no explica las afectaciones negativas en el R% de la EFS con matrices acuosas naturales, es necesario contar con datos sobre la influencia de la materia inorgánica. También se dedujo que existe la posibilidad de que se formen complejos pesticida-AH que interfieren en el desempeño de la EFS.

---

## ABSTRACT

The on-line coupling of Solid-Phase Extraction (SPE) to Liquid Chromatography (LC) in the case of water analysis, allows the trace-level extraction, preconcentration and determination of analytes. SPE parameters: the breakthrough volume ( $V_b$ ) and the recovery (R%) are very useful for the method development. Model based on frontal analysis is used to predict  $V_b$  and R% with purified water as the sample solvent. Nevertheless, the values obtained with natural waters are, in some cases, very different. For this reason, the aim of this study was to evaluate the effect of dissolved organic matter (DOM) in water samples on the values of the SPE parameters of pesticides: phenylurea (3), triazines (12) and carbamates (10), using C18 and PLRP-S sorbents. A study with different levels of DOM and analytes with a wide range of polarities had not been carried out before. The similarity between SPE and LC allows the graphical estimation of  $k'_w$  (retention factor in water) values with the  $\log k'_w = f$  (% of methanol in the mobile phase) curves on both sorbents. These  $k'_w$  values were used for the calculations of the theoretical breakthrough volume ( $V_{bT}$ ) for each compound in both phases. By means of the construction of the  $R\% = f(\text{percolated volume})$  curves, the values of experimental breakthrough volume ( $V_{bE}$ ) and R% were determined for compounds having  $V_{bT} < 500$  mL. This determination was carried out on both phases with purified and fortified samples with humic acids (HA) at four concentration levels (0.4, 1.5, 3.7 and 5.6 mg/L). Also, recovery studies were carried out with tap, spring, ground, river, dam and lake waters in PLRP-S sorbent. In a general way, it was observed that R% diminishes for the most polar compounds when DOM concentration increases, following negative linear or logarithmic tendencies in both phases. Differences in the effect of DOM on R% were observed between the families of pesticides studied on C18 and PLRP-S sorbents, maybe caused by the molecular structural nature, the polarity and the electronic interactions with the sorbent. The presence of DOM does not completely explain the negative affectation on R% in the SPE of environmental waters; it is thus necessary to include data on the inorganic matter influence. In addition, possible evidences of the HA-pesticide complexes existence were found, as well as their interfering role in the SPE performance.



## CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

La determinación analítica de los contaminantes orgánicos presentes en sistemas acuosos, cuyo origen puede ser doméstico, industrial o agrícola, se realiza comúnmente por cromatografía de gases (CG) o por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR). Usualmente estos contaminantes se encuentran al nivel de trazas en una matriz relativamente compleja, lo que requiere de la preconcentración y limpieza de interferentes previos a la separación y detección analítica del compuesto de interés, cuya naturaleza es frecuentemente de carácter polar.

La extracción líquido-líquido (ELL) ha sido la técnica más utilizada para la limpieza y enriquecimiento de trazas de compuestos orgánicos en agua, sin embargo conduce a recobros bajos para analitos polares, además presenta inconvenientes como es el uso de grandes volúmenes de muestra y disolventes tóxicos. Por esta razón, actualmente tienen mayor popularidad los procesos de separación basados en la extracción en fase sólida (EFS), la cual permite de manera simultánea la extracción relativamente selectiva y la preconcentración de la muestra. Para este fin se han empleado cartuchos empacados con adsorbentes sólidos y más recientemente precolumnas, lo que permite la automatización en el proceso de determinación de trazas mediante acoplamientos en línea a la CLAR fáciles de realizar, gracias a la compatibilidad de la fase móvil, que a la vez actúa como el disolvente de elución de las precolumnas.

La EFS en línea con CLAR no sólo permite un ahorro de tiempo sino que también provee de resultados más reproducibles, incrementada sensibilidad, facilidad en el manejo del adsorbente, columna analítica y fase móvil, lo que hace este arreglo adecuado para el análisis multicomponente de trazas, de gran utilidad en el ámbito ambiental.

Contrariamente a la ELL, que presenta una teoría bien fundamentada y extrapolable a la experimentación, la EFS se ha realizado principalmente sobre bases empíricas de prueba y error que demandan tiempo y gasto de materiales y reactivos. Esto se debe a la gran variedad de adsorbentes existentes y a la dependencia del rendimiento de extracción de parámetros como la cantidad de adsorbente, el volumen de muestra y su naturaleza, entre otros. Asimismo, normalmente los sistemas acuosos contienen en proporciones mayoritarias materiales orgánicos como los ácidos húmicos y fulvicos, los cuales pueden interferir en la determinación o disminuir el rendimiento de extracción al ser co-extraídos con los analitos de interés.

Por lo anterior, el considerar a la EFS como un fenómeno de cromatografía de líquidos simple, resulta de gran utilidad para el establecimiento de una teoría que permita hacer predicciones rápidas de parámetros como el volumen de fuga ( $V_f$ ) y el rendimiento de extracción (R%), con el fin de establecer "a priori" teóricamente las mejores condiciones de recuperación de analitos. En la actualidad se han logrado hacer predicciones de los parámetros mencionados para analitos que se encuentran en el agua pura desmineralizada y libre de materia orgánica. Sin embargo, con ciertos compuestos se han observado desviaciones entre estos parámetros teóricos y los experimentales obtenidos con muestras reales. Por esta razón, en el presente trabajo se pretende contribuir al conocimiento de los fenómenos que ocurren en la EFS con los adsorbentes más utilizados para la extracción y preconcentración de moléculas orgánicas en sistemas acuosos, mediante un estudio sobre las variaciones existentes entre los valores de parámetros como el  $V_f$  y el R% de contaminantes orgánicos pertenecientes al grupo de plaguicidas y la concentración de los ácidos húmicos, componentes naturales del agua y cuya concentración caracteriza a cada tipo de muestra.

## CAPÍTULO 2. OBJETIVO Y METAS

### OBJETIVO

Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de materia orgánica (ácidos húmicos) presente en las muestras acuosas sobre los valores de los parámetros de la extracción en fase sólida ( $V_f$ , R%) de compuestos orgánicos de polaridad variada utilizando dos diferentes adsorbentes: sílice C18 y el copolímero de estireno divinilbenceno (PLRP-S).

### METAS

1. Aplicar el modelo de predicción cromatográfica (basado en la estimación del  $k'_w$ ) de los valores de parámetros como el volumen de fuga y el rendimiento de extracción de los compuestos estudiados presentes en el agua pura, usando precolumnas empacadas.
2. Comparar los valores teóricos del  $V_f$  y el R% con los valores experimentales de los compuestos estudiados.
3. Relacionar diferentes niveles de concentración de la materia orgánica (ácidos húmicos) presente en una matriz acuosa sintética, con los valores de los parámetros de extracción de los compuestos estudiados.
4. Comparar los valores obtenidos con las muestras sintéticas y los valores obtenidos con muestras reales con contenido de materia orgánica equivalente.



## CAPÍTULO 3. ANTECEDENTES

### 3.1 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS EN AGUA

El problema de la contaminación causada por las actividades industriales, agrícolas y humanas, derrames accidentales y descargas de agua, ha resultado en la necesidad de implementar normas para controlar las fuentes de contaminación con el afán de proteger la calidad del agua, contribuir a la protección de la salud humana y garantizar la utilidad de recursos naturales. La legislación de la Unión Europea y de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (US EPA, por sus siglas en inglés) listan los contaminantes más tóxicos y persistentes, incluyendo algunos de sus productos de degradación y los niveles máximos permisibles en aguas superficiales (Barceló, 1993; Lacorte y Barceló, 2001).

La creciente necesidad de monitoreo de contaminación del agua ha conducido al desarrollo de un gran número de procedimientos analíticos para el tratamiento de muestra y la determinación cromatográfica. Debido a que contaminantes con diferentes propiedades fisicoquímicas están presentes en las complejas muestras acuosas ambientales a concentraciones extremadamente bajas, el procedimiento de análisis debe incluir una detección sensible y selectiva además de generar datos exactos y precisos, lo que se ha logrado con estrategias de preconcentración y limpieza basadas en la extracción en fase sólida (EFS) y la extracción líquido-líquido (ELL), cuyo objetivo es proveer una fracción enriquecida de los analitos de interés en la muestra, tan libre como sea posible de otros componentes matriciales (Hennion y Scribe, 1993).

Tradicionalmente, la cromatografía de gases (CG) fue el procedimiento preferido para el análisis de contaminantes orgánicos en agua, debido a la alta sensibilidad y selectividad logradas gracias al uso de detectores selectivos. Sin embargo, la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR o CL) es el procedimiento más poderoso para la determinación multiresiduo de compuestos termolábiles, polares o de polaridad media y no volátiles, esto es, aquellos que no son adecuados para su análisis por CG. En el cuadro 3.1 se listan algunas familias de pesticidas y su principal método de análisis.

A continuación se hará una breve revisión de las características y principios generales, así como la aplicación de las diferentes técnicas mencionadas en la determinación de compuestos orgánicos presentes en matrices acuosas a niveles traza.

**Cuadro 3.1** Algunas familias de pesticidas y principal método de análisis (Lacorte et al., 2000)

Clase de compuesto	Extracción	Análisis
Herbicidas misceláneos	EFS, ELL	CL-AD, CL-EM
Organoclorados	ELL, EFS	CG-CE, CG-EM
Organofosforados	ELL, EFS	CL-EM, CG-EM
Fenoxiácidos	EFS, ELL	CL-AD, CL-EM
Fenilureas	EFS, ELL	CL-AD, CL-EM
Triazinas	EFS, ELL	CL-AD, CG/EM

ELL = extracción líquido-líquido; EFS = extracción en fase sólida; CG = cromatografía de gases; CL = cromatografía de líquidos; AD = detector de arreglo de diodos; CE = captura de electrones; EM = espectrometría de masas

### 3.1.1 ANÁLISIS DE PESTICIDAS POR CROMATOGRFÍA DE GASES (CG)

La cromatografía de gas en capilar en combinación con detectores selectivos, principalmente nitrógeno fósforo (NP), captura de electrones (CE), fotométrico flama (FF) y espectrómetro de masas (EM), es aún la técnica más común para la determinación de residuos ambientales de pesticidas es agua (Barceló, 1993).

La elección de CG como método de análisis se hace en el caso de estudiar a compuestos suficientemente volátiles, tales como la mayoría de los pesticidas organoclorados y algunos organonitrogenados como la atrazina, o pesticidas organofosforados como fenitrotión. La determinación de plaguicidas clorados se ha hecho por CG-CE. Para la determinación de pesticidas organofosforados y organonitrogenados en agua se ha usado la CG-NP. La técnica de confirmación más usada es la CG-EM. Estas técnicas acopladas se han usado en combinación con la extracción líquido-líquido (ELL) y más recientemente con la EFS. McLaughlin y Johnson (1997) informaron una optimización de un método por EFS para enriquecimiento de trazas de metabolitos como desetilatrazina (DEA) y deisopropilatrazina (DIA) a partir de agua superficial y detección por CG-EM. Weigel et al. (2001) informaron sobre un método de EFS con poliestireno divinilbenceno (PE-DVB), filtros de fibra de vidrio y detección por CG-EM, para una diversidad de contaminantes presentes en el Mar del Norte como pesticidas, químicos industriales y farmacéuticos. Lacorte et al. (2000) informaron acerca de un método de EFS y CG-EM para determinar 109 compuestos orgánicos en agua. En otro estudio, Pihlstrom et al. (1997) hicieron un análisis por CG-NP y CG-EM para varios pesticidas (triazinas, organoclorados, piretroides, organofosforados, entre otros) en agua con EFS con PE-DVB en diferido, obteniendo recobros del 85 % y límites de cuantificación de 0.05-0.1 µg/L.

El análisis de pesticidas por CG presenta problemas cuando el compuesto a analizar es termolábil y/o polar. En estos casos es necesaria la derivatización y el posterior análisis por CG permite

buenos límites de detección. Sin embargo, se prefiere la CL por no requerir de derivatización previa, lo que simplifica el método (Barceló, 1993; Jiménez et al., 1997; Slobodnik et al., 1997). Por otra parte, hay casos específicos de pesticidas que, cuando se analizan por CG, necesitan de gran cuidado ya que, aunque los picos pueden detectarse al nivel de trazas, tales picos no corresponden al pico en sí, sino a productos de degradación que generalmente se forman en el puerto de inyección; un ejemplo de éstos son los carbamatos. Se ha informado que estos pueden determinarse por CG bajo una cuidadosa selección de condiciones instrumentales de análisis (Mattern, 1991), pero se ha observado que algunos compuestos de esta familia (como el adicarb sulfona) se descomponen en el inyector. Para el caso de las fenilureas, aunque linurón puede determinarse por CG mediante una inyección fría en columna, monurón y diurón son demasiado termolábiles, en estos casos se usa la derivatización (Mattern, 1989; Stan y Klaffenbach, 1991).

### 3.1.2 ANÁLISIS DE PESTICIDAS POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS (CL)

La mayoría de los pesticidas polares se pueden separar eficientemente por CL de fase inversa y detección ultravioleta (UV) aunque requiere de análisis confirmatorios posteriores con detección por la EM o con detectores selectivos como los de fluorescencia; además, el desarrollo de la tecnología de nuevos materiales de columna mejorará la relación costo-beneficio en los análisis de residuos de pesticidas (Chiron et al., 1994; Kiso et al., 1996; Hogendoorn, 2000).

Las técnicas de CLAR usadas para la determinación de compuestos orgánicos contaminantes son variadas, pero se puede decir que incluyen principalmente el enriquecimiento de trazas por ELL y por EFS, tal como se observa en el cuadro 3.1. Estas técnicas están siendo aceptadas por la US EPA y alcanzan límites de detección al nivel de  $\mu\text{g/L}$  y reproducibilidades abajo del 10 % (Pinto y Jardim, 2000).

Como puede verse en el cuadro 3.2, gran parte de los contaminantes prioritarios son pesticidas (sustancias o mezcla de sustancias destinadas a controlar cualquier plaga), debido a su toxicidad, al incremento reciente en el número de pesticidas detectados y a las severas normas impuestas. Desde un punto de vista analítico, los pesticidas no pueden tratarse como un solo grupo debido al gran número de diferentes estructuras químicas y propiedades fisicoquímicas que los caracterizan. Muchos grupos de pesticidas, incluyendo sus productos de degradación, son solubles en agua, no volátiles y polares, lo que los hace apropiados para su análisis por CL. Entre estos grupos se incluyen las familias de organofosforados, fenoxiácidos, triazinas, fenilureas, carbamatos y herbicidas quat (Lacorte y Barceló, 2001).

**Cuadro 3.2** Determinación por CLAR de familias de contaminantes prioritarios; método de extracción, detección y fuentes principales (Lacorte y Barceló, 2001)

Clase de Compuesto	Extracción	Detección	Fuente principal
Alcohol etoxilatos	EFS	EM	Industria textil y de la piel
Anilinas y cloroanilinas	EFS, ELL	CE, AD, EM	Industria de tintes
Benzidinas	EFS, ELL	CE, AD, EM	Industria
Carbamatos	EFS, ELL	F, EM	Agrícola
Clorofenoles	EFS, ELL	AD, CE, EM	Industria del papel, pulpa y plástico
Glifosato	EFS	F, EM	Agrícola
Alquilbenzensulfonatos lineales	EFS	EM	Industria química, doméstica
Nonilfenoletoxilatos	EFS	EM	Industria textil y de la piel
Pesticidas organofosforados	EFS, ELL	AD, EM	Agrícola, doméstica
Pesticidas fenoxiácidos	EFS, ELL	AD, EM	Agrícola
Fenilureas	EFS, ELL	AD, EM	Agrícola
Hidrocarburos poliaromáticos	EFS, ELL	F, AD, EM	Fuentes naturales antropogénicas
Quats	EFS	AD, EM	Agrícola
Triazinas	EFS, ELL	DAD, EM	Agrícola, no agrícola

EFS = extracción en fase sólida; ELL = extracción líquido-líquido; EM = espectrometría de masas; CE = captura de electrones; AD = arreglo de diodos; F = fluorescencia

El uso de los métodos de CL se ha incrementado debido principalmente a su conveniencia para pesticidas polares y termolábiles, incluyendo a sus metabolitos, los cuales requieren derivatización previa a su análisis por CG. Otra ventaja de la CL sobre CG es que los sistemas de reacción pre- y postcolumna en línea son compatibles con la CL. Es por esto que la CL se ha vuelto una herramienta importante en el análisis moderno de pesticidas, además del desarrollo en los últimos años de detectores UV de arreglo de diodos con incrementada sensibilidad (Barceló, 1993).

La CL-AD (detector de arreglo de diodos) por su robustez, facilidad de uso y el hecho de que ofrece un espectro de absorbancias que puede usarse para identificar pesticidas a través de la comparación de espectros, se ha usado especialmente para el análisis de pesticidas organofosforados, fenoxiácidos, triazinas, quat y fenilureas. El detector de fluorescencia, más selectivo, se ha empleado en el análisis de compuestos tales como glifosato o carbamatos, los cuales se someten a derivatización pre- o poscolumna para convertirse en compuestos fluorescentes y tener una mejor sensibilidad. Los compuestos que puedan ser oxidados fácilmente pueden detectarse electroquímicamente, siempre y cuando se lleven a cabo previamente preconcentraciones y limpieza de muestra para evitar interferencias. El efecto de matriz puede evitarse usando espectrometría de masas, la cual es altamente selectiva y sensible y permite la identificación inequívoca de analito (Barceló, 1993; Lacorte y Barceló, 2001).

---

El uso de la CL<sub>2</sub> con detección UV en conjunción con la ELL o la EFS en línea o en diferido, es la elección más común para el análisis ambiental de pesticidas en muestras de agua (Barceló, 1993).

Finalmente, es importante remarcar que en el análisis de trazas, ya sea por CL o CG se requiere de una preconcentración con el fin de mejorar la detección. En el apartado 3.2 se describirá en detalle la EFS y sus principios, ya que fue la técnica utilizada en este trabajo.

### 3.1.3 EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (EFS)

La ELL está siendo reemplazada por la EFS cuyo principio se basa en la distribución de los solutos entre una fase sólida y una fase acuosa. La EFS, a veces llamada extracción líquido-sólido, es la técnica más importante para el pre-tratamiento de muestras acuosas para su análisis por CL. Algunos ejemplos de aplicaciones para pesticidas se muestran en el cuadro 3.3.

La EFS consiste en poner en contacto una muestra gaseosa o líquida con una fase sólida o adsorbente mientras el analito es adsorbido sobre la superficie de la fase sólida. Eventualmente un disolvente eluyente se pone en contacto con el adsorbente para desorber selectivamente el analito.

Mientras que los procesos de ELL comúnmente requieren de varias extracciones sucesivas para un buen recobro del analito, los métodos de EFS pueden obtener recobros semejantes en un solo paso. Con la EFS también es posible obtener una remoción más completa de interferencias a partir de la muestra. La EFS emplea sólo pequeñas cantidades de disolventes orgánicos para la elución, manteniendo una alta concentración del analito y la fracción total del analito se colecta fácilmente, eliminando errores asociados con la extracción de volúmenes variables o medidos inexactamente haciendo esta técnica adecuada para el análisis de trazas (Hennion, 1991).

Algunas desventajas de la EFS sobre la ELL incluyen:

- ✓ Variabilidad de los empaques de los cartuchos de EFS
- ✓ Adsorción irreversible de algunos analitos sobre los cartuchos de EFS

En el estudio de Pihlstrom et al. (1997), se comparó el desempeño de la ELL con la EFS y se encontró que el segundo método parecía ser más sensible para detectar un mayor número de componentes que con la ELL, principalmente para los pesticidas más polares, además de que la EFS es un método más rápido y simple. De un total de 106 muestras, se encontraron 63 resultados positivos con EFS y 52 con ELL.

**Cuadro 3.3.** Técnicas de EFS para el análisis multiresiduo de pesticidas  
(Hogendoorn y van Zoonen, 2000; Lacorte et al., 2000; Sabik et al., 2000)

PESTICIDA	EFS
Atrazina, DEA, DIA, DEHA, HA	Cartuchos con 500 mg de CGP
12 pesticidas incluyendo atrazina, DIA, DEA, cianazina y simazina	Discos Empore C18
14 pesticidas incluyendo atrazina y terbutrina, más 41 sustancias desconocidas	EFS automatizada con la CL-AD, CL-EM y CG-EM
14 pesticidas incluyendo atrazina, simazina, propazina, Terbutilazina, DIA, DEA e irgarol	EFS en línea con CL-EM. Precolumnas de sílice e inmunoabsorbentes
30 pesticidas incluyendo atrazina, DEA, DIA y simazina	EFS en línea con CL-UV o CL-F usando discos Empore C18 o PE-DVB
Atrazina, cianazina, DEA, DIA, HA, hexazinona, prometón, propazina, simazina, simetrina, terbutilazina	Sistema automatizado Prospekt. Precolumnas PLRP-S y detección UV
Atrazina, cianazina, DEA, DIA, HA, simazina, terbutilazina y terbutrina	EFS con adsorbente C18 en línea con CL-UV
11 pesticidas incluyendo atrazina y DEA	EFS en línea con CG-EM y cartuchos PLRP-S
12 pesticidas incluyendo ametrina, atrazina, cianazina, prometrina, simazina y terbutrina	EFS en línea y en diferido en combinación con CL-AD usando discos de membrana de PE-DVB
32 pesticidas incluyendo atrazina, metribuzina, prometrina, simazina y terbutilazina	Cartuchos C18, CG-CE, CG-NP y CG-EM
17 pesticidas incluyendo atrazina, DEA y simazina	Adsorbentes C18 y PE-DVB, CG-EM, CG-NP y CG-CE
Atrazina, propazina, simazina y terbutilazina	EFS en línea con CL-UV usando una combinación de precolumnas de C18 y polímero molecularmente impreso
Atrazina, cianazina, DEA, DIA, HA, prometón, propazina, simazina, simetrina, terbutilazina	Inmunoabsorbente anti-atrazina en línea con la CL-AD
7 triazinas: atrazina, dipropetrina, prometrina, terbutilazina, terbutrina, sebutilazina y simetrina	EFS en línea con la CG-NP usando un adsorbente de inmunofinidad

DEA = desetilatraxina, DIA = deisopropilatrazina, DEHA = desetil hidroxiatrazina, HA = hidroxiatrazina, CGP = carbón grafitado poroso, EFS = extracción en fase sólida, CL-AD = cromatografía de líquidos-detector de arreglo de diodos, CL-EM = CL-espectrometría de masas, CG = cromatografía de gases, UV = detector ultravioleta, F = detector de fluorescencia, PLRP-S y PE-DVB = fase de poliestireno divinilbenceno, CE = detector de captura de electrones, NP = detector de nitrógeno fósforo.

El proceso básico de EFS es muy versátil y se ha acoplado a sistemas semi-automatizados, automatizados y diversas variantes de extracción. Se ahondará en este tema en el siguiente apartado.

## 3.2 LA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (EFS)

### 3.2.1 GENERALIDADES

En los últimos años se ha incrementado el interés por esta técnica de enriquecimiento como alternativa a la ELL. La EFS se ha desarrollado durante los últimos 20 años con innovaciones y grandes mejoras en los formatos, automatizaciones, acoplamientos y la introducción de adsorbentes nuevos capaces de atrapar los analitos más polares (los más difíciles de extraer) y de lograr extractos libres en lo más posible de interferencias matriciales. Igualmente se ha trabajado en desarrollar una teoría de

retención que posibilite la predicción del desempeño de un adsorbente en particular frente a una muestra dada.

### 3.2.1.1 Usos y aplicaciones

La EFS es un método de preparación de muestra que se adapta bien para el manejo de muestras grandes de agua. Los compuestos trazas orgánicos se retienen sobre el adsorbente mientras que el agua pasa a través de él, y son posteriormente recuperados por elución con un pequeño volumen de disolvente orgánico (Hennion, 1991).

La EFS se usa para 6 propósitos principales en la preparación de muestras (Hennion, 1991; Snyder et al., 1997):

- Remoción de interferencias
- Concentración, enriquecimiento de trazas de analito
- Eliminación de sales
- Intercambio de disolvente
- Derivatización "in situ"
- Almacenamiento de muestra y transporte

La EFS es un proceso cromatográfico que presenta ventajas sobre la ELL como son:

- ✓ Extracción más completa del analito
- ✓ Área superficial mucho mayor
- ✓ Separación de interferencias más eficiente
- ✓ Consumo reducido de disolventes orgánicos
- ✓ Recolecta facilitada de la fracción total del analito
- ✓ Procesos manuales más convenientes
- ✓ Remoción de particulados
- ✓ Fácil automatización

### 3.2.1.2 Procedimiento

Esta técnica se efectúa aplicando un volumen dado de muestra a través de un cartucho o precolumna empacado con un adsorbente capaz de fijar los compuestos de interés. Las interferencias se eluyen lavando el adsorbente con el fin de minimizar su presencia en la fracción del analito final. La recuperación del analito se lleva a cabo por la adición de un volumen pequeño de un disolvente de elución fuerte, ya sea un disolvente orgánico o una mezcla hidrorgánica; esta fracción se colecta y puede inyectarse directamente, o puede evaporarse a sequedad para reconstituirse en un disolvente adecuado para la CL. Puede ocurrir que el analito se retenga débilmente y por el contrario las interferencias se

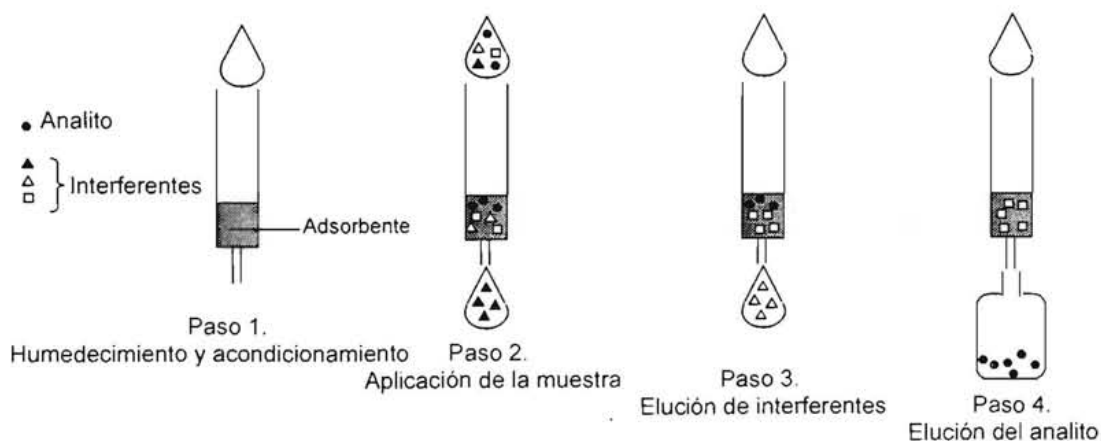
retengan fuertemente en el cartucho. Por tanto, en la EFS la extracción y la concentración se llevan a cabo al mismo tiempo (Hennion y Scribe, 1993; Snyder et al., 1997).

El principio básico de la EFS es la transferencia de analitos a partir de la fase acuosa a los sitios activos de la fase sólida adyacente. Esta transferencia se estimula por la selección de condiciones apropiadas de operación en el sistema de 3 principales componentes: agua-adsorbente-analito (Liska, 1993; Hennion y Pichon, 1994).

El procedimiento típico de preconcentración, representado en la figura 3.1, comprende entonces las siguientes etapas:

1. Humedecimiento y acondicionamiento del adsorbente
2. Aplicación de la muestra
3. Enjuague y en lo posible, elución de los compuestos interferentes (limpieza o simplificación de la matriz)
4. Elución de los analitos de interés en un pequeño volumen de disolvente.

Durante la primera etapa de este proceso, se acondiciona el adsorbente con un disolvente adecuado y posteriormente con agua, con el objeto de prepararlo para recibir la muestra. Durante la aplicación de la muestra, los analitos y algunas interferencias son retenidas por el adsorbente, estas últimas pueden eliminarse haciendo un lavado con una mezcla de agua y disolvente orgánico (cuando se utilizan adsorbentes apolares). Finalmente, se lleva a cabo la elución de los compuestos de interés aplicando un pequeño volumen de disolvente orgánico, tal como se muestra en la figura 3.1 (Driss et al., 1993; Hennion y Pichon, 1994).



**Figura 3.1** Método básico de operación de la extracción en fase sólida



Para desorber los analitos atrapados, se usan varios disolventes orgánicos o sus mezclas (esto es: metanol, acetonitrilo, acetato de etilo, dietileter). Para mejorar la eficiencia de la desorción, los solventes orgánicos pueden ser modificados con la adición de un ácido, una base o un amortiguador.

### 3.2.1.3 Modalidades

La extracción en fase sólida puede aplicarse en diferido (fuera de línea), donde la preparación de muestra se realiza completamente aparte del análisis cromatográfico o puede realizarse en línea por conexión directa al sistema cromatográfico.

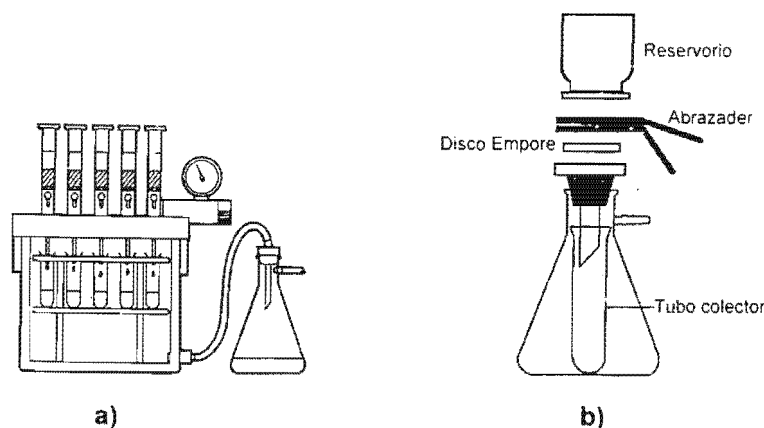
#### 3.2.1.3.1 Métodos en diferido

En la EFS fuera de línea, las muestras se aplican a través del adsorbente empacado en columnas desechables, en cartuchos, o incluido en la matriz inerte de un disco de extracción a modo de membrana (figura 3.2). El volumen de muestra que se puede aplicar a estos cartuchos o precolumnas es muy variable y pueden adaptarse reservorios de mayor capacidad. Los contenedores y reservorios están hechos generalmente de polipropileno. La cama de adsorbente varía de 50 a 2000 mg, tiene tamaño de partícula entre 30 y 50  $\mu\text{m}$  y se retiene entre dos discos fritados porosos. (Hennion y Scribe, 1993; Dean, 1998).



**Figura 3.2** Dispositivos para la EFS en diferido. a) Cartucho desechable (formato de barril de jeringa) b) Disco con soporte

La muestra se aplica a través del empacado mediante una jeringa o se aspira vía vacío o inclusive puede usarse la fuerza centrífuga. Existen dispositivos que mediante el uso de vacío permiten preparar varias muestras simultáneamente (figura 3.3 a). También pueden hacerse uso de discos o membranas de extracción de 0.5 mm de grosor y diámetros entre 47 a 70 mm, las cuales se colocan en un sistema de filtración y se aplica la muestra con ayuda de vacío (figura 3.3 b), lo que permite una rapidez de filtrado alta (1 litro en 10 minutos, lo que podría tomar 100 minutos en cartucho), aunque se tienen bajos recobros debido al corto tiempo de interacción analito adsorbente (Hennion, 1991; Hennion y Scribe, 1993; Dean, 1998; Pichon, 2000).



**Figura 3.3** Dispositivos para la EFS en diferido. a) Equipo de vacío para EFS de múltiples cartuchos; b) Uso de disco Empore y matraz para vacío

La mayor ventaja de los métodos de EFS en diferido es su flexibilidad operacional y la simplicidad del equipo requerido (Liska, 2003), mientras que su desventaja estriba en que implican un trabajo laborioso así como la pérdida de sensibilidad debido a la inyección de una sola alícuota del extracto, o pérdidas durante la evaporación del eluyente y algunos riesgos de contaminación por la manipulación constante de la muestra, por lo que se requiere el uso de estándares internos (Hennion y Scribe, 1993). Sin embargo, las alícuotas del eluato pueden destinarse a más de una técnica de separación: CL, CG, isotacoforesis, etc.

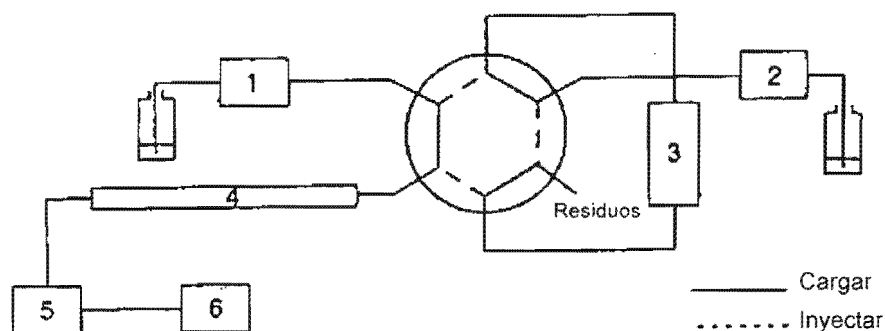
Estas desventajas son superadas por las metodologías en línea.

### 3.2.1.3.2 Métodos en línea

En la EFS en línea, los solutos son primero retenidos en un soporte sólido conveniente empacado en una precolumna de 1 a 2 cm de largo a partir de la aplicación de una muestra de entre 10 y 200 mL. Después son eluidos directamente hacia una columna analítica para su separación y análisis. Un montaje simple de la metodología en línea se muestra en la figura 3.4 (Liska, 1993).

El acoplamiento de la EFS a la CLAR se realiza mediante una válvula de conmutación de 6 puertos, similar a la que se emplea como inyector manual en el cromatógrafo de líquidos. La precolumna de extracción se coloca en el lugar del rizo de muestra de esta válvula. La aplicación de la muestra por la precolumna se realiza mediante una bomba de preconcentración, durante este paso la válvula se encuentra en la posición de "cargar", mientras que la bomba del cromatógrafo envía la fase móvil de los reservorios a la columna analítica para mantenerla en condiciones de equilibrio. Posteriormente, la

precolumna se acopla a la columna analítica cambiando la válvula a la posición de "inyectar", con el fin de que los compuestos adsorbidos se transfieran directamente a la columna por la misma fase móvil. Finalmente, el sistema cromatográfico realiza la separación y la elución de los compuestos atrapados inicialmente en la precolumna (Hennion, 1991; Driss et al., 1993; Hennion y Pichon, 1994). Mientras tiene lugar la separación analítica, la válvula de conmutación se regresa a la posición de "cargar" para reacondicionar la precolumna y se encuentre lista para la preconcentración de la siguiente muestra (Dean, 1998).



**Figura 3.4** Montaje básico de EFS en línea con la CL. 1 = bomba de fase móvil; 2 = bomba de preconcentración; 3 = precolumna; 4 = columna analítica; 5 = detector; 6 = registrador/computadora

Los procedimientos en línea de EFS – CL se montan fácilmente en cualquier laboratorio, son rápidos y la manipulación de la muestra es mínima por lo cual no existe riesgo de contaminación o pérdida de la muestra. Estos acoplamientos se conocen como tecnología de precolumnas, recambio de columna o cromatografía multidimensional en línea (Hennion, 1991; Driss et al., 1993; Hennion y Scribe, 1993; Sabik, 2000).

El tamaño de la precolumna es importante dado el ensanchamiento de banda y depende del tamaño de la columna analítica, esto es, la precolumna debe ser lo más pequeña posible, pero no más de 1-2 cm de largo para columnas típicas de 15-20 cm de longitud, y los adsorbentes de empaque deben ser de calidad CL y de 5-10  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula. La retención del analito en la precolumna debería ser idealmente similar o más baja que en la columna analítica, para evitar un ensanchamiento de banda adicional. Dos o tres precolumnas pueden acoplarse en serie para la aplicación de una muestra, con la ventaja de una pre-fraccionación o simplificación de una mezcla compleja durante la preconcentración. (Hennion, 1991, 1998).

Mediante este método se esperan resultados cuantitativos más exactos además de una mayor sensibilidad, ya que la totalidad de la muestra se transfiere y analiza, lo que también permite el manejo de

volúmenes de muestra más pequeños, y mayor rapidez, simplicidad y seguridad. (Hennion y Scribe, 1993; Liska, 1993). De hecho, se han informado límites de detección del orden de 0.1 µg/L para pesticidas organofosforados, triazinas y fenilureas extraídos por EFS en línea mientras que en diferido, los límites de detección resultaron más altos (Aguilar et al., 1996). Sabik et al. (2000) reportaron valores de desviación estándar relativa (DER) en los tiempos de retención de 0.2 a 1.5 % (n= 20); la repetibilidad del método usando 100 mL de agua superficial adicionada con 1 µg/L estuvo en el rango de 3.8-8.9 % para simazina y desetilatrizona, la reproducibilidad del método estuvo en el intervalo de 2.3-3.5 % y los límites de detección fueron de 15 ng/L para triazinas.

Una desventaja de las pequeñas precolumnas usadas en la EFS en línea es que es imposible incrementar el volumen de fuga del analito incrementando la cantidad de adsorbente debido a que se presentarían problemas en el acoplamiento precolumna-columna analítica (Hennion y Scribe, 1993). Por otra parte, aunque en el análisis de trazas el analito de interés no puede saturar el adsorbente, los contaminantes presentes en la muestra, los cuales compiten con los analitos de interés, si pueden saturar el adsorbente o bloquear los poros de éste, de ahí la importancia de realizar un filtrado y una limpieza (clean-up) previos.

Una gran ventaja de los métodos de EFS en línea es que están disponibles comercialmente precolumnas vacías de acero inoxidable que puede empacarse con adsorbentes grado CL, aún los más caros pueden emplearse, ya que las precolumnas generalmente se re-usan después de regenerarlas (Chiron y Barceló, 1993). Otra ventaja es que los métodos en línea tienen gran potencial para aplicarse en forma automatizada.

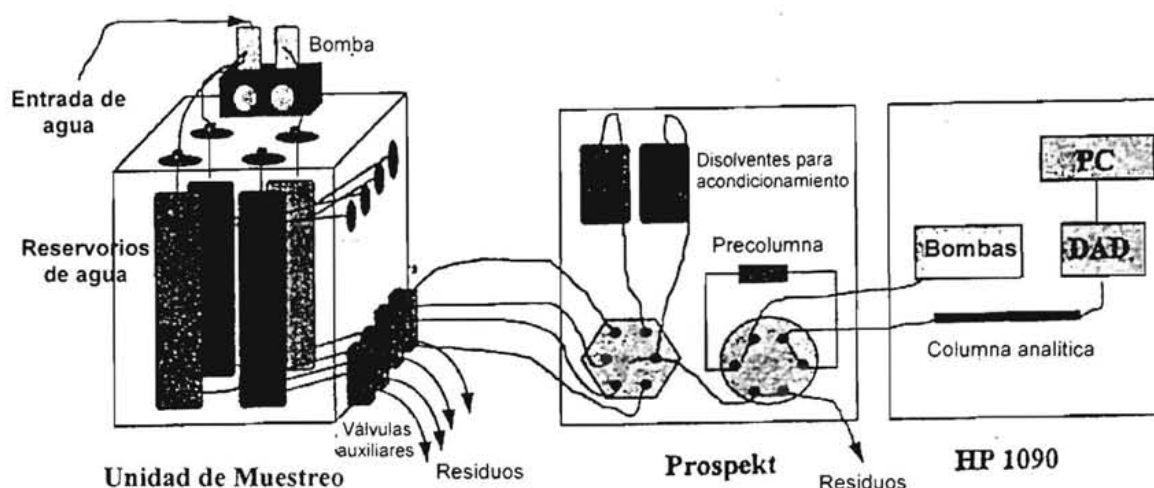
#### **3.2.1.4 Automatización**

El proceso completo de extracción en fase sólida puede automatizarse gracias al uso de microprocesadores para el control de las válvulas de conmutación. El uso de EFS automatizado permite que un gran número de muestras se extraigan de manera rutinaria, sin necesidad de atención completa al sistema y con mejor precisión, permitiendo al analista realizar otras tareas. Se distinguen dos categorías: instrumentos que imitan el procedimiento manual en diferido mediante un brazo robótico o un automuestreador, e instrumentos que utilizan procesos en línea y tecnología de columnas. Es posible en estos dispositivos programar los pasos de la EFS, esto es, acondicionado, carga de muestra, lavado y elución, por ello el método debe estar bien establecido previamente. (Hennion y Coquart, 1993; Pichon, 2000; Rossi y Zhang, 2000).

El sistema básico de EFS en línea puede convertirse en un sofisticado dispositivo mediante la adición de válvulas adicionales, precolumnas y/o bombas para CL. Tales sistemas emplean 2 ó más

precolumnas con diferentes adsorbentes conectadas en serie (Liska, 1993). Un sistema automatizado debería usarse en casos de gran cantidad de muestras de rutina y procesos de monitoreo. (Slobodnik et al., 1997; Hennion, 1998). El monitoreo continuo de pesticidas a bajo niveles en el río Rhin ha sido el foco de desarrollo de sistemas de monitoreo en línea automatizados para el rastreo de pesticidas polares, ester ftalatos, agentes fluorescentes, organofosforados, ácidos organosulfónicos, entre otros.

Los sistemas comerciales disponibles para el proceso en línea automatizado incluyen por ejemplo el sistema Prospekt de Spark Holanda. Algunos métodos analíticos han sido incorporados en sistemas completamente automatizados llamados SAMOS (sistema para el monitoreo automatizado de contaminantes orgánicos en agua superficial, por sus siglas en inglés), tal como se muestra en la figura 3.5 (Dean, 1998). Empleando el sistema SAMOS, Lacorte et al. (1998) realizaron el monitoreo de pesticidas en agua de río, que incluyó desde el sistema de filtración, el almacenamiento de muestra y la EFS hasta el análisis por CL-DAD por al menos 5 días.



**Figura 3.5** Esquema de una unidad de muestreo adaptada con el SAMOS convencional.

Contiene 4 frascos y el llenado y vaciado es controlado por un grupo de válvulas y bombas, controladas ya sea manualmente o por computadora personal (PC). Incluye una unidad de preparación de muestra (Prospekt, Holanda) y un detector de arreglo de diodos (DAD).

En Europa, los niveles de alarma para pesticidas varían entre 1 y 3  $\mu\text{g/L}$ , sensibilidad que se ha alcanzado con sistemas automatizados a pesar de la presencia de grandes picos de interferencia al inicio del cromatograma causados por los ácidos húmicos y fúlvicos. Se ha informado en la literatura el uso de estos sistemas para determinar glifosato, y pesticidas como triazinas y fenilureas (Dean, 1998).

El acoplamiento en línea de la EFS con la CG para el caso del análisis de agua es más complicado porque es necesario eliminar aún las últimas trazas de agua antes de la desorción de los compuestos en la columna de CG, para lo que se ha empleado el secado con nitrógeno o sulfato de sodio en un pequeño cartucho (Pichon, 2000).

### 3.2.1.5 Adsorbentes

Los adsorbentes utilizados en la EFS son los mismos que se usan en la CL, sólo que el intervalo del tamaño de partícula (granulometría) es más amplio. Clásicamente el adsorbente de la fase sólida se empaca en pequeños tubos o cartuchos. Los adsorbentes también están disponibles en forma de disco-filtro o sólidos particulados para empacar, aunque su tamaño de partícula es mayor que las fases usadas en CL (Hennion y Pichon, 1994; Dean, 1998).

Los adsorbentes de fase normal tienen grupos funcionales polares, por ejemplo: ciano, amino y diol (en esta categoría también se incluye la sílice sin modificar). La naturaleza polar de estos adsorbentes indica que son más afines por los compuestos polares, como el fenol y los productos de degradación que contienen grupos funcionales muy polares tales como hidroxilo, carbonilos y aminas. Por el contrario, los adsorbentes de fase reversa tienen grupos funcionales no polares como el octadecilo, octilo y metilo, y por tanto son más afines a retener compuestos no polares y medianamente polares, así que suelen ser los de elección para extraer triazinas en agua, o hidrocarburos aromáticos policíclicos (Sabik et al., 2000).

El adsorbente más usado en las aplicaciones informadas para muestras acuosas es la sílice C18, donde los solutos apolares se retienen bastante bien y se han alcanzado recobros arriba de 85-90 %. Sin embargo, la retención de solutos medianamente o débilmente polares es baja como es el caso de la DIA, la DEA, el fenurón y la hidroxiatrazina (HA), donde los recobros han ido de 26 a 65 % (Pichon, 1998), por lo que ahora se encuentran adsorbentes específicos y aquellos especialmente diseñados para ampliar el intervalo de polaridad. Estos incluyen las sílices no recubiertas y monofuncionales con la intención de incrementar el número de grupos silanol libres sobre la superficie de la sílice con el fin de proveer interacciones secundarias polares con los solutos.

El problema de la extracción de analitos polares en agua ambiental ha sido parcialmente resuelto con la introducción de adsorbentes carbonáceos y copoliméricos, donde los recobros se han mejorado mucho para compuestos polares y productos de degradación altamente polares tales como fenol y DIA (Pichon, 1998; Hennion, 1991, 1999).

En el cuadro 3.4 se resumen los adsorbentes comercialmente disponibles usados para la EFS de compuestos orgánicos en agua (Hennion, 1991; Dean, 1998), los mecanismos de separación involucrados, la naturaleza de los analitos preconcentrados y la naturaleza del disolvente de desorción.

**Cuadro 3.4** Algunos adsorbentes comúnmente usados para EFS, mecanismo cromatográfico de separación, características de los analitos, y algunas aplicaciones ambientales

Adsorbente	Sustituyente enlazado	Mecanismo de separación	Disolvente de elución	Naturaleza del analito	Aplicaciones ambientales
<b>FASES NO POLARES</b>					
Sílice octil, C8	Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -CH <sub>3</sub>	Fase inversa	Disolvente orgánico	No polares y débilmente polares	HPAs, BPCs, pesticidas organofosforados y organoclorados, alquilbencenos, policlorofenoles, ftalato esteres, policloroanilinas, herbicidas apolares, ácidos grasos, aminoantraquinona
Sílice octadecil C18	Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> -CH <sub>3</sub>				
Copolimeros porosos de estireno divinilbenceno	-	Fase inversa	Disolvente orgánico	No polares a aromáticos de polaridad media	Fenol, monoclorofenol, anilina, cloroanilina, herbicidas moderadamente polares (fenoxiácidos, triazinas, fenilureas)
Carbón grafitizado	-	Fase inversa	Disolvente orgánico	No polares a relativamente polares	Alcoholes, nitrofenoles, herbicidas relativamente polares
<b>FASES POLARES</b>					
Sílice, Si	Si-OH	Fase normal	Agua	Polares	Fenol, ácido nitrilotriacético, fenoxiácidos, fenilendiaminas, anilina y derivados polares, ácidos sulfónicos, ácidos ftálicos, aminofenoles
Sílice cianopropil, CN	Si-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CN				
<b>FASES DE INTERCAMBIO IÓNICO</b>					
Ácido bencensulfónico, SCX	Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Intercambio iónico	Agua (pH ajustado)	Cationes y aniones orgánicos	Mismos que en fases polares
Amina terciaria dietilaminopropil, DEA	Si-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -NH <sup>+</sup> -(CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>				

HPAs = Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos, BPCs = bifenilos policlorinados

Es siempre un reto extraer tantos analitos como sea posible en una corrida con el fin de disminuir costos y tiempo en los análisis de campo ambiental. Sin embargo, hay una probabilidad alta de encontrar una mezcla de analitos con diferentes polaridades, solubilidad en agua, propiedades de ionización y volatilidad, especialmente cuando se toman en cuenta metabolitos y productos de degradación (Hennion, 1999). La elección del adsorbente se guía primero por la naturaleza de las muestras y después por la afinidad del analito por el adsorbente.

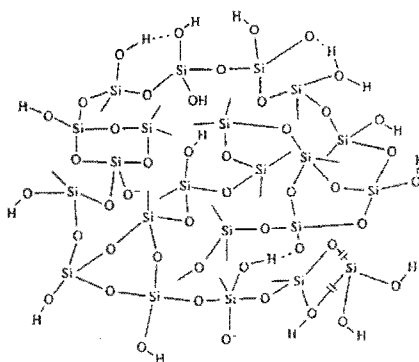
Dado que los adsorbentes empleados en este trabajo fueron precisamente los de sílice enlazada C18 y de PE-DVB, se profundizará en ellos en los apartados 3.2.1.5.1 y 3.2.1.5.2

### 3.2.1.5.1 Silice n-alkil enlazada

Los adsorbentes más comunes se basan en partículas de sílice (partículas de forma irregular con un diámetro de partícula entre 30 y 60  $\mu\text{m}$ ) a la que se enlazan grupos funcionales en los grupos silanol superficiales para alterar sus propiedades retentivas (figura 3.6) (Dean, 1998; Sabik et al., 2000).

Las sílices octadecil (C18) y octil (C8) enlazadas han sido los adsorbentes de extracción universal por muchos años para el manejo de muestras biológicas y ambientales. Un primer requisito de la sílice C18 para EFS es que provea altos recobros, no sólo para analitos no polares sino también para la extracción de analitos de polaridad media. El modelo del mecanismo de retención incluye principalmente las interacciones hidrofóbicas. Se considera a la fase estacionaria saturada del componente orgánico (activación) y la retención se origina por repulsión de las regiones hidrofóbicas de la molécula del analito por las moléculas de agua, lo que conduce a la interacción con los sustituyentes carbonáceos de la fase estacionaria o con la capa orgánica adsorbida en la superficie de la misma.

El enlace de los grupos funcionales no siempre es completo, así que permanecen grupos silanol sin reaccionar. Estos grupos silanol son sitios ácidos polares activos y pueden interactuar con los analitos. Para reducir estas interacciones, algunos adsorbentes EFS son "recubiertos", que implica una reacción posterior para cubrir los grupos silanol libres con grupos alquilo de cadena corta. Las fases de sílice para EFS fueron primero recubiertas, pero con el fin de incrementar el número de interacciones secundarias, ha sido interesante incrementar el número de grupos silanol residuales (Pichon, 2000).



**Figura 3.6** Diagrama de la superficie de una partícula de gel de sílice

Con el fin de tener una cantidad máxima de cadenas octadecilo en la superficie de la sílice, un primer requerimiento es la porosidad. Casi todas las sílices para EFS se hacen de sílice con altas áreas superficiales específicas en el intervalo de 500 a 600  $\text{m}^2/\text{g}$ , que no es el caso de las fases estacionarias de CL. Partiendo de tales sílices porosas, cada proveedor suministra varios tipos de sílice modificada.



Algunos están disponibles con un alto porcentaje de carbón correspondiendo a una máxima cobertura de la superficie con grupos alquilo. También hay alquilo sílices ligeras con bajos porcentajes de carbón y que en general contienen altas cantidades de grupos silanol sin modificar, con los cuales ocurren fuertes interacciones iónicas con analitos cargados positivamente. Por ello se considera que el uso de sílice C18 con un alto recubrimiento superficial de cadenas alquilo y silanoles residuales incrementa la retención de algunos analitos polares por la adición de interacciones secundarias, principalmente puentes de H entre los grupos silanol y los grupos polares; sin embargo, no son aún convenientes para extraer compuestos polares a partir de grandes volúmenes de muestra y en las técnicas en línea, los volúmenes de fuga son bajos debido a las pequeñas dimensiones de las precolumnas (Hennion, 1999; Sabik et al., 2000).

En general, se puede decir que a nivel práctico el uso de sílices C18 es apropiado para el enriquecimiento de trazas de compuestos caracterizados por valores de  $\log k'_w$  mayores que 2 (Hennion, 1999; Pichon, 2000).

### 3.2.1.5.2 Fases poliméricas

Las resinas de poliestireno divinilbenceno (PE-DVB, figura 3.7) se presentan como una alternativa a los adsorbentes de sílice enlazada para atrapar compuestos polares. El primer copolímero comercialmente disponible en precolumnas desechables fueron los PRP-1(Hamilton) y PLRP-S (Polymer Lab.) de grado CL en cartuchos para empleo en línea. Una de las ventajas de este adsorbente sobre la sílice C18 es su estabilidad cuando se aplican muestras en el rango de pH de 1 a 14. La buena cualidad de acoplar este adsorbente polimérico con una columna analítica C18 ha permitido su aplicación a la extracción multiresiduo incluyendo compuestos polares que no se extraen sobre sílice C18. Se ha encontrado que para un grupo de compuestos orgánicos, los solutos son alrededor de 10 a 40 veces más retenidos por PRP-1 que por sílice C18. Para usos en diferido, el adsorbente de PE-DVB está también disponible en discos (Hennion, 1999; Pichon, 2000).

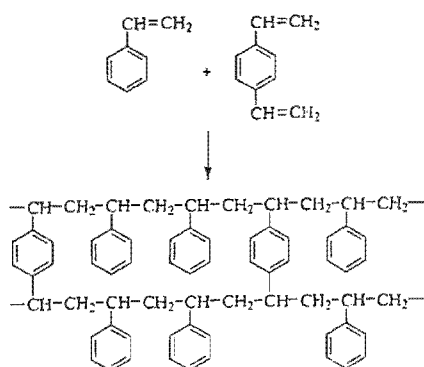


Figura 3.7 Preparación de PE-DVB a partir de los vinil monómeros estireno y divinilbenceno

---

El mecanismo de retención está gobernado por interacciones hidrofóbicas similares a las discutidas en el caso de las sílices enlazadas, pero debido a los anillos aromáticos en la red de la matriz polimérica, se pueden esperar fuertes interacciones electrón-donadoras ( $\pi$ - $\pi$ ) con los anillos aromáticos de los solutos, además de que se esperarían cambios en la densidad electrónica del analito causada por los sustituyentes presentes (delocalización de electrones). Esto se aprecia en el hecho de que el benceno es 20-30 veces más retenido por PRP-1 que por C8.

Sin embargo, con estos adsorbentes poliméricos, los recobros son aún bajos para metabolitos polares cuando se aplican volúmenes de muestra de 50-150 mL. Los compuestos polares sólo pueden ser extraídos cuando se manejan volúmenes de muestra pequeños, de ahí la necesidad de detectores tan sensibles o específicos como aquellos usados con la CG.

En los últimos años, las resinas o polímeros con áreas superficiales específicas altas (en el intervalo de 700-1200 m<sup>2</sup>/g en vez de 350-500 m<sup>2</sup>/g) se han puesto disponibles comercialmente en cartuchos desechables. Algunos estudios han mostrado el alto potencial de estos adsorbentes poliméricos de alto entrecruzamiento para la extracción de compuestos polares en agua, se ha informado un gran incremento en la retención, indicando así que estos polímeros tienen 20-60 veces más poder de retención para analitos polares que en los anteriores PRP-1 o PLRP-S lo que se debe a fuertes interacciones tipo  $\pi$ - $\pi$  entre los analitos y la matriz polimérica (Hennion, 1999; Pichon, 2000; Sabik et al., 2000).

Se han introducido también resinas funcionalizadas para incrementar la retención de compuestos polares tales como fenoles, alcoholes, aldehídos, ésteres y cetonas mediante la introducción de un grupo carboxílico o usando resinas sulfonadas. En tales casos, los adsorbentes pueden desarrollar puentes de hidrógeno con los analitos y también pueden actuar como intercambiadores catiónicos. Sin embargo, para compuestos muy polares, los recobros son aún muy bajos para un volumen aplicado mayor o igual que 100 mL (Huck y Bonn, 2000; Pichon, 2000).

Aunque en teoría la extracción de los analitos hidrofóbicos con este tipo de adsorbentes no son un problema, también pueden presentarse dificultades prácticas en los recobros cuando los analitos tienen muy baja solubilidad en agua, a menos que se adicione cierta cantidad de disolvente orgánico en la muestra. Desafortunadamente, esto también disminuye los volúmenes de fuga de los analitos polares en un análisis multiresiduo.

Pichon et al. (1998) realizaron el análisis multiresiduo de pesticidas en agua superficial por CL y EFS mediante discos de PE-DVB que permitieron una velocidad de aplicación alta con una filtración previa; los recobros obtenidos fueron de 77 a 92 %. Por otra parte, Masqué et al. (1998) usaron con éxito una resina de PE-DVB modificada con un sustituyente de o-carboxibenzoil para extraer compuestos

---

fenólicos a partir de agua por EFS en línea con la CL, con el fin de incrementar la polaridad de la superficie del adsorbente y mejorar la superficie de contacto.

### 3.2.1.5.3 Otros adsorbentes

Otros adsorbentes empleados en la EFS y que no fueron manejados en el presente trabajo, son el carbón grafitizado poroso (CGP), las fases de intercambio iónico, los inmunoabsorbentes, los polímeros impresos y las fases de medio de acceso restringido. A continuación se hace una breve revisión de estos.

#### *Carbón Grafitizado Poroso*

Los adsorbentes con base de carbón más ampliamente usados para EFS son los de carbón grafitizado, obtenidos por calentamiento de carbón a 2700-3000 °C. Este material se caracteriza por una estructura homogénea y altamente ordenada y por un área superficial específica de alrededor de 120 m<sup>2</sup>/g. Un adsorbente con base de carbón caracterizado por una estructura cristalina hecha de largas agujas de grafito unidas juntas por enlaces de Van der Waals, el CGP (figura 3.8), ha sido usado para la extracción de contaminantes polares de agua. El CGP tiene una estructura bidimensional y una superficie interna plana consistente de capas entrelazadas cercanas de cintas (hexágonos) sostenidas juntas por fuertes enlaces covalentes. El CGP está disponible en cartuchos para EFS (Hyperseb, CGP). La fuerza mecánica de CGP es similar a la del gel de sílice y es inerte a ácidos y bases. Es particularmente adecuado para compuestos ionizables, ionizados o compuestos que contienen numerosos grupos polares tales como -OH, -COOH, -NH<sub>2</sub>, etc. (Hennion, 1999, 2000; Pichon, 2000).

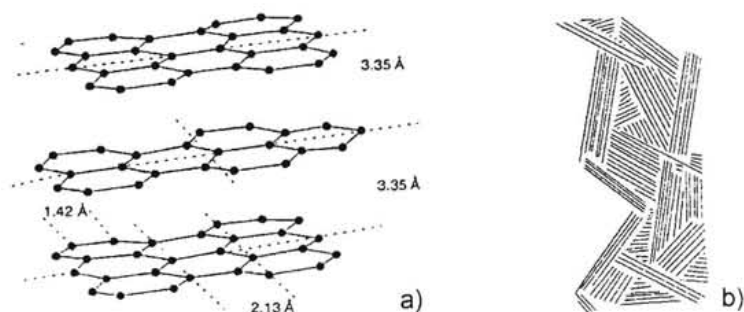


Figura 3.8 Estructura (a) y superficie transversal (b) de la fase estacionaria de CGP

En principio, CGP se comporta como una fase reversa dado que presenta un comportamiento lineal de la relación  $\log k' = f(\% \text{ metanol})$ , por tanto, si se incrementa la hidrofobicidad de una estructura añadiendo  $-\text{CH}_2-$  u otros grupos no polares, se incrementa la retención, aunque la retención es más fuerte que en las sílices C18. Sin embargo, también exhibe propiedades de retención que no se explican totalmente para moléculas que contienen grupos polares: la adición de un grupo polar a una molécula disminuiría la retención sobre C18, mientras que con CGP la retención se reduce en mucha menor extensión o puede incrementarse, lo que se ha llamado "efecto de retención polar sobre grafito" (Lim, 1992).

La mayoría de las aplicaciones de los adsorbentes carbonáceos se han llevado a cabo empleando el procedimiento en diferido. El acoplamiento en línea con una columna analítica C18 es difícil debido a que los analitos polares pueden ser tan fuertemente retenidos sobre CGP que el alto contenido de agua de la fase móvil requerida para la separación de estos compuestos polares es incompatible con la elución de los analitos de la fase CGP, y por tanto aparece un gran ensanchamiento de banda. Estos problemas pueden arreglarse aplicando "backflush" (elución en contrasentido a la adsorción) o acoplando estos adsorbentes con una columna analítica CGP porque en este caso, se puede usar una elevada cantidad de disolvente orgánico en la fase móvil para la separación de compuestos polares (Hennion, 1999; Pichon, 2000).

En cuanto a problemas de desorción, se ha encontrado que se minimizan con disolventes tales como tetrahidrofurano y cloruro de metileno, que son los más fuertes, mientras que se necesitan grandes volúmenes de metanol o acetonitrilo para la total desorción (Hennion, 1999; Vial 2001).

### ***Fases de Intercambio iónico***

Los analitos iónicos o ionizables se pueden extraer con adsorbentes de intercambio iónico, los cuales tienen ya sea grupos funcionales catiónicos o aniónicos que cuando se ionizan, atraen compuestos de carga opuesta. Los analitos que son capaces de formar cationes incluyen las aminas, mientras que los que tienden a formar aniones incluyen fosfatos y ácidos carboxílicos y sulfónicos

Se pueden encontrar cartuchos desechables, precolumnas y discos con estos adsorbentes. El desarrollo del método es fácil para analitos ionizables porque la retención se da a un cierto pH que permita al analito estar en su forma iónica, mientras que ocurre la desorción en su forma neutra. También se puede realizar la desorción empleando una solución de fuerza iónica apropiada, de acuerdo con los principios de la cromatografía de intercambio iónico (Sabik et al., 2000).

### ***Inmunoadsorbentes***

La tecnología de materiales inmunoadsorbentes se basa en las reacciones específicas entre antígenos y anticuerpos y se ha usado por largo tiempo para el análisis y pretratamiento de muestras en el campo del análisis biomédico.

A principios de los 90's las primeras aplicaciones de inmunoadsorbentes involucraron el análisis de trazas selectivo de pesticidas tales como carbofurano en suelos y fenilureas y triazinas en aguas ambientales (Sabik, 2000). La tecnología ha involucrado la producción y purificación de anticuerpos policlonales contra el analito y la selección de adsorbentes con base de sílice para el enlace covalente de los anticuerpos. También se ha aplicado esta tecnología en precolumnas de EFS en línea e inclusive automatizados para extraer herbicidas polares en aguas ambientales (Hogendoorn, 2000).

### ***Polímeros impresos***

La técnica de materiales poliméricos molecularmente impresos tiene gran potencial para el análisis de residuos de pesticidas. La técnica se basa en la preparación de receptores poliméricos que enlazan pequeñas moléculas con afinidades y selectividades a un grado comparable al de una interacción de tipo inmunológica. Los materiales se obtienen creando redes tridimensionales de polímeros que tienen una memoria de la forma y posición de un grupo funcional de la molécula plantilla (analito de interés). Los polímeros molecularmente impresos pueden reconocer con muy alta selectividad y, consecuentemente, retener el analito usado en el proceso de impresión. Las ventajas potenciales de éstos anticuerpos plásticos sobre los anticuerpos biológicos son su estabilidad, capacidad, costo y facilidad de preparación (Hogendoorn, 2000). La desventaja de estos materiales es que aún se encuentran en desarrollo y no están disponibles comercialmente.

### ***Fases de medio de acceso restringido***

Las columnas de medio de acceso restringido (MAR) se han aplicado con éxito en el campo de análisis biomédico para la determinación de analitos de bajo peso molecular en fluidos biológicos conteniendo compuestos de alto peso molecular, como las proteínas. El concepto básico es la retención de analitos y exclusión de moléculas de gran tamaño por los dos materiales comercialmente disponibles que son los de superficie interna de fase inversa y los de superficie semipermeable (Hogendoorn, 2000).

La ventaja de las columnas analíticas empacadas con partículas MAR, es que combinan en la misma columna una poderosa limpieza mediante la exclusión de compuestos de alto peso molecular, con una eficiente separación en fase inversa de analitos. De hecho, estos adsorbentes se han aplicado en línea con la CL para el análisis de pesticidas en aguas naturales, donde la gran diferencia entre los

---

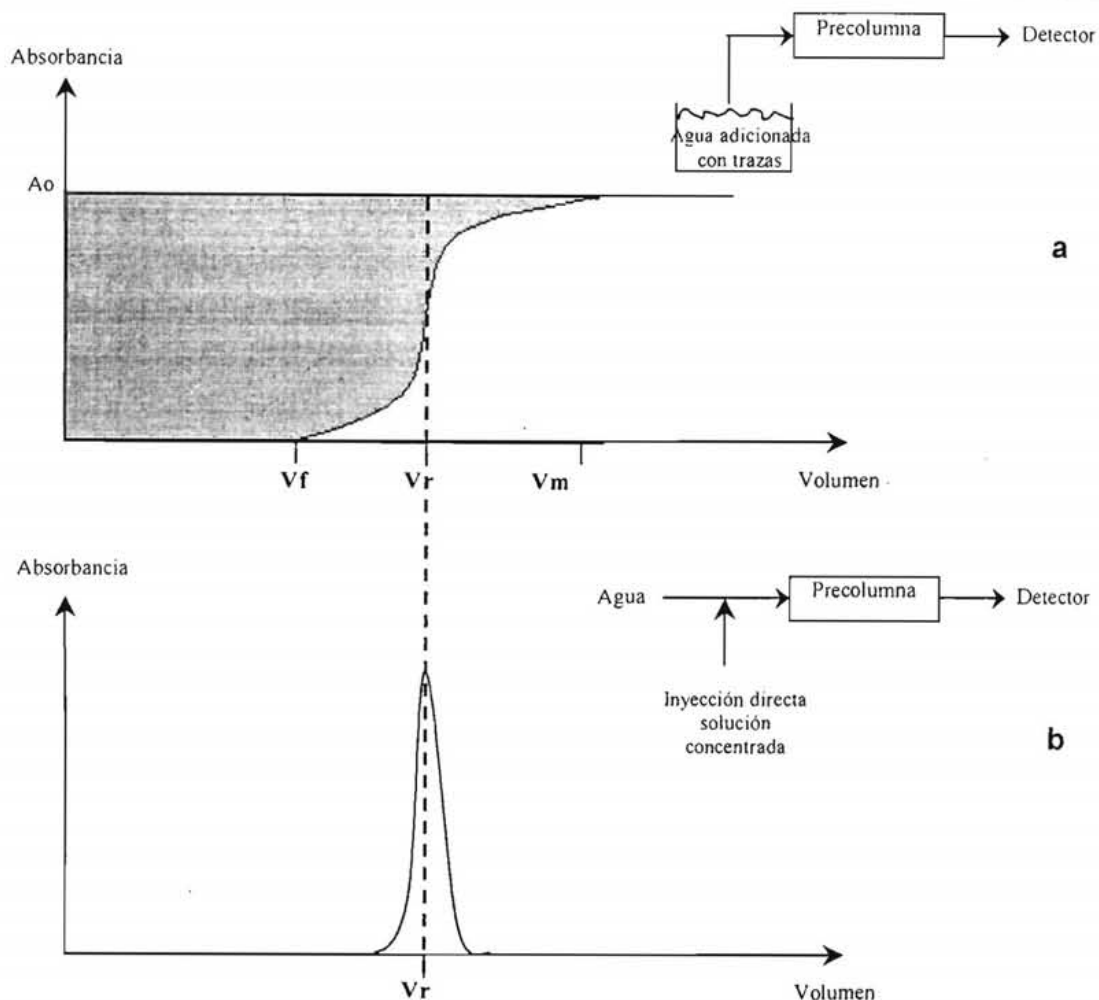
analitos de interés (moléculas pequeñas) y las sustancias húmicas (moléculas grandes), hace el uso de columnas MAR muy atractivo (Hogendoorn, 2000).

### 3.2.2 SIMILITUD ENTRE LA EFS Y LA CLAR Y DESARROLLO DEL MÉTODO

Hasta hace una década aproximadamente, los métodos EFS se habían estado desarrollando con poca consideración de los fenómenos físico-químicos involucrados en el proceso, sobre bases empíricas de prueba y error que consumían tiempo y esfuerzo. En la actualidad, la literatura es aún pobre para proveer el conocimiento necesario y las pautas para la selección de los adsorbentes de extracción adecuados para los solutos particulares de interés así como otros parámetros relevantes de la EFS. Lo importante a considerar en el desarrollo de un método para EFS son las propiedades de los analitos de interés, el límite de detección requerido de análisis, la naturaleza de la matriz y el tipo de cromatografía involucrada en el paso de separación y el modo de detección. Así, para entender el proceso de extracción, es necesario entender las interacciones entre el analito, la matriz y el adsorbente (Pichon, 2000). Un primer acercamiento, es comprender la similitud entre la EFS y la CL, la cual está representada gráficamente en la figura 3.9.

De esta manera, la EFS se puede considerar como un proceso de cromatografía de líquidos simple: una cromatografía frontal durante el paso de extracción y una cromatografía de elución o desplazamiento durante el proceso de desorción. Ambos modos de CL son bien conocidos y en una primera aproximación, la EFS puede analogarse a la CL siendo el adsorbente del cartucho equivalente a la fase estacionaria de la columna analítica, mientras que el disolvente de la muestra durante el paso de extracción (máxima retención) y el disolvente (o mezcla de disolventes) durante el paso de desorción (mínima retención), serían los equivalentes a la fase móvil (Hennion, 1991; Pichon, 2000).

En la figura 3.9 a se observa la curva del frente de elución obtenida cuando una muestra de agua adicionada con trazas de un analito, se pasa a través de una precolumna y se registra la señal UV del efluente. En este caso, la absorbancia inicial de la muestra adicionada ( $A_0$ ) se mide directamente (sin pasar por la precolumna) por el detector UV. En la curva, mientras el soluto está siendo retenido en la precolumna, la absorbancia es cero. Después, el soluto comienza a eluir y la absorbancia a aumentar cuando se sobrepasa el volumen de fuga ( $V_f$ ). El volumen máximo de preconcentración ( $V_m$ ) se obtiene cuando la absorbancia de la solución efluente es la misma que  $A_0$ . Bajo condiciones ideales, esta curva tiene una forma bilogarítmica, donde el punto de inflexión corresponde al volumen de retención ( $V_r$ ) del analito, el mismo valor que se tendría en un pico de elución obtenido por la inyección directa de 10-20  $\mu\text{L}$  de una solución concentrada del mismo analito sobre la misma precolumna, con agua como fase móvil y al mismo flujo (figura. 3.9 b).



**Figura 3.9** Similitud entre la extracción en fase sólida y la cromatografía de elución.

$V_f$  = volumen de fuga,  $V_r$  = volumen de retención,  $V_m$  = volumen máximo,  $A_0$  = absorbancia inicial

a. Frente de elución de un soluto aplicado a la precolumna en una solución acuosa a niveles traza

b. Pico de elución de un soluto aplicado a la precolumna por medio de una inyección directa de una solución acuosa concentrada

Durante la extracción, los analitos de interés no eluyen con el agua porque son retenidos por el adsorbente, por lo que la absorbancia es nula. Por esta razón, se obtienen altos factores de enriquecimiento cuando los analitos se retienen fuertemente en el adsorbente en presencia de agua y además presentan una baja retención con el solvente orgánico eluyente (Hennion y Pichon, 1994). De aquí la importancia de la selección del adsorbente y las fases móviles. En las muestras acuosas, los solutos más polares no pueden ser retenidos adecuadamente por el adsorbente durante el paso de preconcentración de la muestra, debido a que son más solubles en agua y por tanto su retención (valor de  $k'$ ) en el sistema de extracción es muy pequeña.

### 3.2.3 PARÁMETROS

La secuencia a seguir en los procedimientos de la EFS demanda varias decisiones a tomar con respecto a la selección del tipo y de la cantidad de adsorbente, la composición y volumen de la solución de lavado que se puede aplicar sin pérdida de los analitos y la composición y volumen de la solución de desorción o elución. Los parámetros que determinan la selección de las condiciones anteriores son el rendimiento de extracción (R%) y el volumen de muestra que se puede aplicar sin pérdida del analito o compuesto de interés, conocido como el volumen de fuga  $V_f$ . Estos parámetros son dependientes entre sí y a continuación se describirán con detalle, así como su forma de determinación y estimación o predicción.

#### 3.2.3.1 Volumen de fuga ( $V_f$ )

El volumen de fuga se define usualmente como el volumen de muestra que corresponde al 1 % de la  $A_0$  (ver figura 3.14). A partir de este volumen, el frente de elución comienza a aparecer (el detector comienza a dar señal) y por lo tanto se deduce que el analito está fugando de la precolumna. En la misma figura se observa el volumen máximo ( $V_m$ ) que es el volumen de muestra correspondiente a la máxima cantidad preconcentrada en la precolumna, éste se define como el 99 % de la absorbancia inicial y es justo el punto a partir del cual el efluente tiene la misma composición que la muestra adicionada. Por lo tanto, se deduce que a partir de este volumen el analito ya no puede ser retenido.

Como se explicó en el apartado anterior, el volumen de fuga, también llamado volumen de muestra seguro, representa entonces el volumen más grande de muestra y la cantidad de analito que puede ser preconcentrado sin que exista pérdida del analito de interés.

La fuga de los analitos puede ocurrir ya sea cuando los solutos no son suficientemente retenidos por el adsorbente o cuando la capacidad del adsorbente se ha sobrepasado (saturación de los sitios activos). El último caso es poco probable en el análisis ambiental donde las concentraciones de los compuestos orgánicos que nos ocupan son del orden de  $\mu\text{g/L}$  o menores. Por tanto, en el análisis de trazas la fuga ocurre principalmente por retención insuficiente de los analitos sobre el adsorbente (Hennion, 1991).

El valor de volumen de fuga ( $V_f$ ) es un parámetro clave para la preconcentración del analito y se puede *estimar* en una primera aproximación a partir del  $V_r$  (ver sección 3.3.3.1.2). La similitud entre la EFS y la CL indica que los datos generados por CL para la medición o estimación de  $V_r$  son útiles y el conocimiento del comportamiento de la retención de los solutos por fases estacionarias hidrofóbicas se podría aplicar.



En la práctica, solamente se necesita contar con un valor aproximado del  $V_f$  para seleccionar el tipo y la cantidad de adsorbente adecuados para la preconcentración requerida. Por otra parte, se puede determinar el  $V_f$  experimentalmente o con algún método de estimación o predicción.

### **3.2.3.1.1 Medición experimental**

#### **3.2.3.1.1.1 Método del frente de elución**

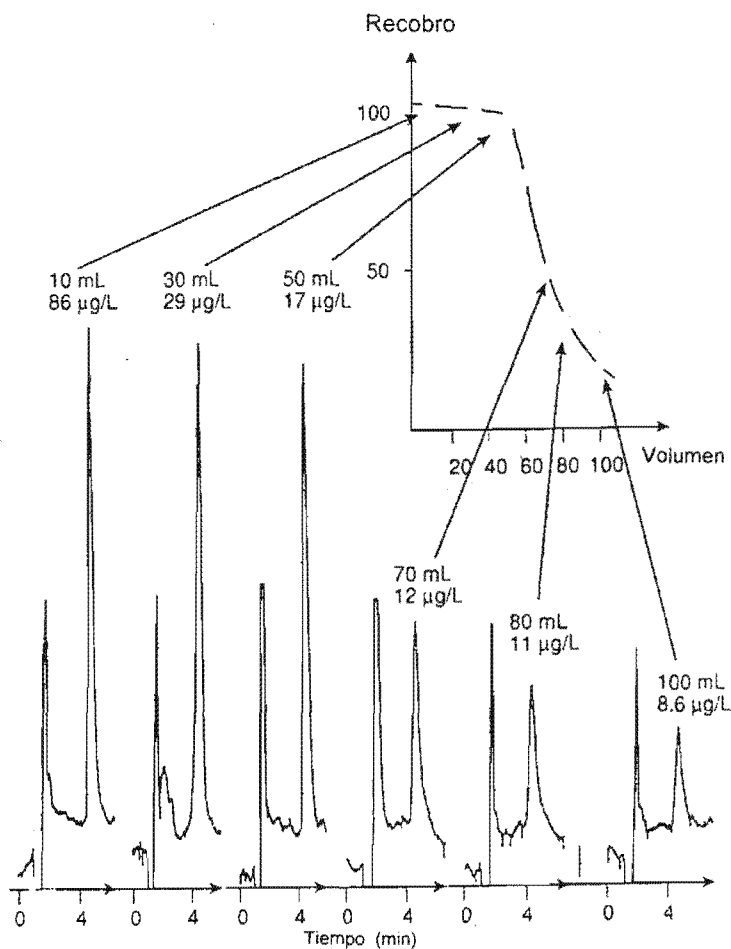
La medición directa del volumen de fuga para cada analito de interés podría realizarse como se indica en la figura. 3.9 a, monitoreando continua o discretamente la señal UV de salida de una precolumna o un cartucho. Sin embargo, este método consume tiempo y la lectura de  $V_f$  al nivel de 1 % de  $A_0$  no es fácil ni exacta. Además, el hecho de que la muestra debe adicionarse con el analito a niveles traza ( $\mu\text{g/L}$ ) con el fin de no superar la capacidad del adsorbente, y la señal del efluente debe monitorearse a muy bajas absorbancias, conduce a problemas con la estabilidad de la línea base o el ruido con los analitos de baja absortividad UV. También, conforme el analito sea más retenido, la diferencia en el valor de los volúmenes de  $V_f$ ,  $V_r$  y  $V_m$  se hace mayor, ya que el frente de elución es más extendido debido al bajo número de platos teóricos de los cartuchos o las precolumnas (Hennion et al., 1998; Subra et al., 1988; Hennion, 1999).

#### **3.2.3.1.1.2 Método de preconcentración en línea con la CLAR**

Un método alternativo, más rápido, el cual fue empleado en este trabajo, consiste en la medición del  $V_f$  mediante la preconcentración sucesiva de volúmenes ascendentes de muestras de agua pura adicionadas con una cantidad constante de analito. Con cada volumen, se miden las áreas o las alturas de los picos obtenidos de la elución del analito retenido en el adsorbente directamente en la columna analítica (Subra et al., 1988; Hennion y Pichon, 1994; Hennion, 1999). De esta manera, conforme el volumen de muestra se incrementa, la concentración del analito disminuye, como se muestra en la figura 3.10, la cantidad extraída permanece constante mientras la fuga no ocurre y las áreas o alturas de pico permanecen constantes. En el momento en que la fuga ocurre, la cantidad extraída disminuye al igual que las áreas o alturas de los picos. Los recobros correspondientes se pueden calcular dividiendo las áreas de pico obtenidas después de la fuga entre aquellas obtenidas antes.

Así, se traza una curva del Recobro en función del volumen de muestra y el  $V_f$  puede considerarse en el punto donde comienza a disminuir el recobro.

Otra ventaja de éste método es que los valores de  $V_f$  de varios compuestos se pueden estimar simultáneamente mediante la preconcentración y el análisis por CL en línea (Hennion y Pichon, 1994).



**Figura 3.10** Determinación experimental del volumen de fuga y el rendimiento de extracción correspondiente (Hennion y Pichon, 1994)

### 3.2.3.1.2 Predicción

#### 3.2.3.1.2.1 Uso del factor de retención $k'$

Dado que la determinación experimental del volumen de fuga es difícil y requiere invertir mucho tiempo, se ha buscado desarrollar modelos para su predicción, para lo cual se ha hecho uso de los factores de retención.

De acuerdo con la analogía presentada entre la EFS y la CL que considera los principios básicos de la teoría de la cromatografía de líquidos,  $V_f$  se puede relacionar matemáticamente con el  $V_r$  de los analitos por la relación (1), de acuerdo con la curva de análisis frontal (figura. 3.9 a):

$$V_f = V_r - 2.3\sigma_v \quad (1)$$

donde  $\sigma_v$  = desviación estándar dependiente de la dispersión axial a través de la cama de partículas en la precolumna o cartucho

Por tanto,  $V_f$  es controlado por parámetros de retención y cinéticos (Goewie et al., 1981).

El volumen de retención se puede calcular fácilmente a partir del factor de retención en agua ( $k'w$ ) y del volumen muerto ( $V_o$ ) de la precolumna por la relación fundamental:

$$V_r = V_o (1 + k'w) \quad (2)$$

Si el número de platos teóricos ( $N$ ) de la precolumna o cartucho se conoce, el término  $\sigma_v$  se puede calcular por la relación:

$$\sigma_v = \left( \frac{V_o}{N} \right) (1 + k's) \quad (3)$$

donde:  $k's$  = factor de retención del soluto eluido por el disolvente de la matriz

El disolvente de la matriz en este caso, es agua (muestras acuosas), por lo que  $k's$  es finalmente el mismo factor de retención en agua  $k'w$ .  $V_o$  se puede calcular a partir de la porosidad ( $\epsilon$ ) del adsorbente y el volumen geométrico ( $V_c$ ) de la precolumna o cama de adsorbente en el cartucho o disco por la relación:

$$V_o = \epsilon V_c \quad (4)$$

La porosidad  $\epsilon$  tiene un valor promedio en las sílices *n*-alquil enlazadas entre 0.65 - 0.7, y el valor de  $V_o$  para las mismas en caso de cartuchos convencionales se ha estimado en 0.12 mL por 100 mg de adsorbente (Hennion y Scribe, 1993).

$N$  se puede medir directamente en precolumnas debido a que el arreglo en línea permite el registro de la curva de fuga o de los picos de elución por inyección directa (Subra et al., 1988); aunque para el caso de cartuchos o discos de extracción, donde es más difícil medir la eficiencia, el valor de  $N$  ha sido estimado (Miller y Poole, 1994; Poole et al., 2000), a través de las propiedades cinéticas y de retención de cartuchos, a un promedio de 20 platos teóricos para un flujo de 5 mL/min con 500 mg de sílice C18 de diámetro de partícula de 40-55  $\mu$ m.

Por otra parte, se ha propuesto un modelo más general y de acercamiento metodológico: el modelo para la extracción basado en el análisis frontal de Lovkvist y Jonsson (citados por Poole et al., 1997). El volumen de fuga se relaciona con las propiedades de los cartuchos por:

$$\log V_f = \log(1 + k'w) + \log QV_o \quad (5)$$

donde:  $Q$  = contribución de las propiedades cinéticas de la cama de adsorbente a la retención

Esta definición matemática es similar a la derivada de la figura 3.9a, dado que combinando las ecuaciones 1-3 se tiene:

$$V_f = (1 + k'w) \left( 1 - \frac{2.3}{N} \right) V_o \quad (6)$$

Por otra parte, a partir de las curvas de fuga obtenidas por esta ecuación se pueden derivar las curvas del recobro o rendimiento de extracción (Subra et al., 1988; Hennion et al., 1998). Así, con diferentes valores de  $k'w$ , se han construido las curvas teóricas de fuga considerando un adsorbente de  $V_o = 0.54$  mL, que corresponde a 450 mg de adsorbente con 20 platos y porosidad de 0.7 (figura 3.11).

En estas curvas simuladas se puede observar claramente que los analitos más polares (con  $\log k'w$  más bajos) tienen las curvas de fuga más escarpadas y volúmenes de fuga menores. Así, para volúmenes de muestra de 500 mL, los compuestos con  $\log k'w$  más bajos que 2.5 se extraerán con recobros menores del 50 %. Por el contrario, se demuestra que para analitos con valores altos de  $\log k'w$ , puede darse la fuga con volúmenes grandes.

En la figura 3.12 se representan las curvas de rendimiento de extracción teóricas, donde se observa que los compuestos con  $\log k'w > 3$  presentan rendimientos del 100 % para volúmenes de 500 mL.

Por tanto, el  $k'w$  es el valor guía de elección del adsorbente y predicción de los recobros.

### 3.2.3.1.2.2. Modelos de estimación de $k'w$

La obtención de valores apropiados de  $k'w$  requiere de un buen conocimiento de las interacciones entre analito, matriz y adsorbente. Existen varios métodos de extrapolación o predicción de los valores de  $k'w$ .

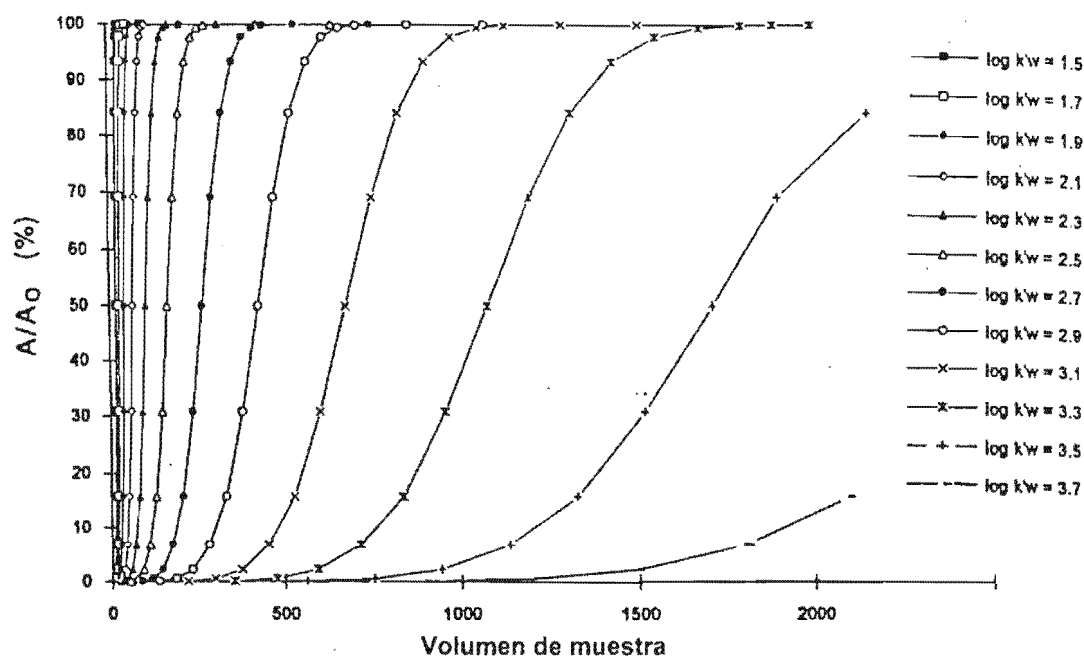


Figura 3.11. Efecto del valor de  $\log k'w$  del analito sobre las curvas teóricas de fuga vs. volumen de muestra (predicción asumiendo 20 platos y 450 mg de adsorbente).

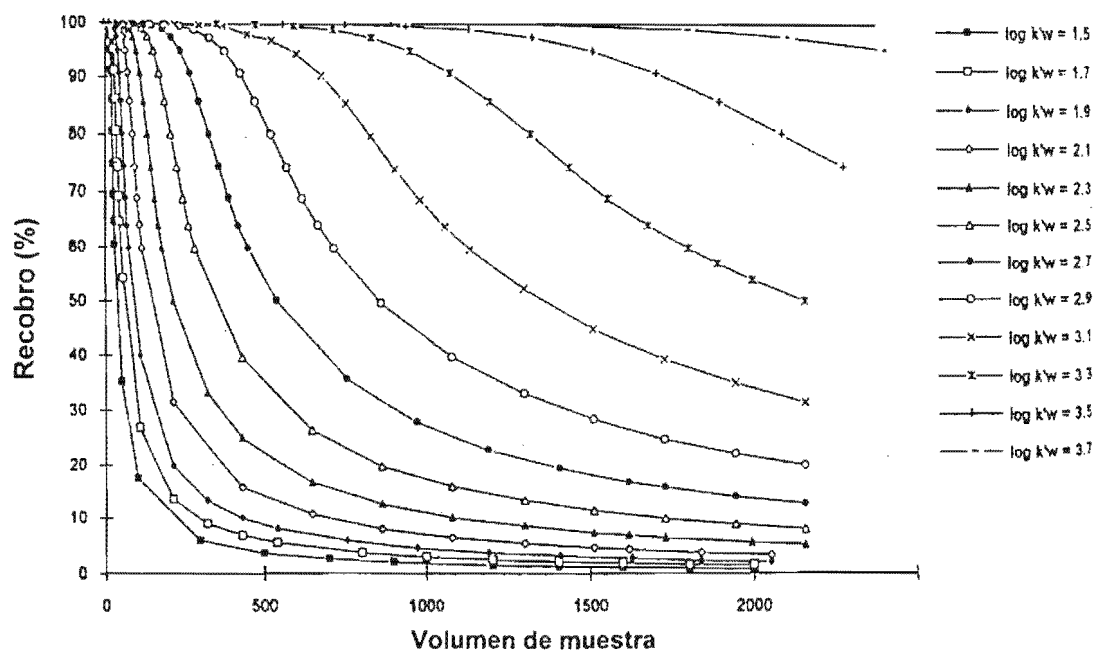
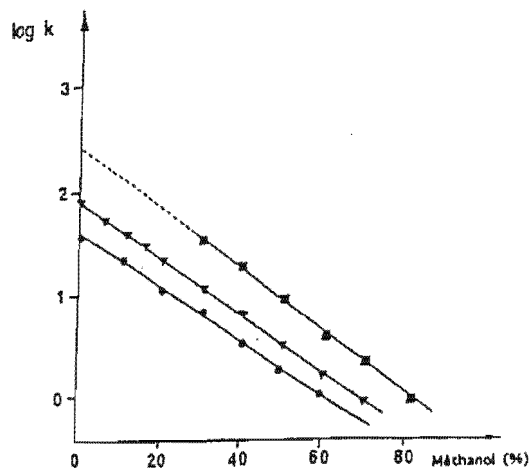


Figura 3.12. Efecto del valor de  $\log k'w$  del analito sobre las curvas teóricas de recobro vs. volumen de muestra (predicción asumiendo 20 platos y 450 mg de adsorbente).

## 3.2.3.1.2.2.1 Extrapolación gráfica

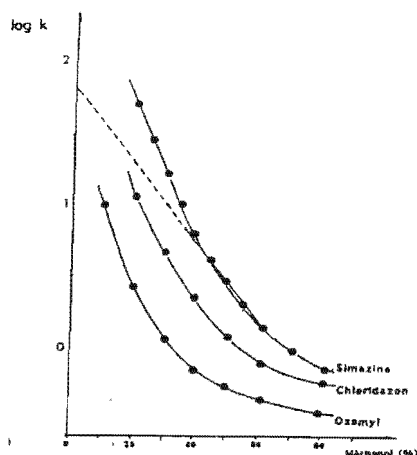
Los valores de  $k'w$  se pueden estimar rápidamente a partir de datos cromatográficos experimentales. Se hace uso de columnas analíticas con adsorbentes de fase inversa tales como *n*-alquil silices, polímeros de PE-DVB o CGP, y se eluyen los solutos para efectuar la medición del factor de retención  $k'$  del analito en fases de diferente composición metanol-agua. Sobre un intervalo de contenido de metanol entre 30 y 90 %, la relación  $\log k'w = f(\% \text{ metanol})$  se considera lineal para la mayoría de los compuestos medianamente polares y apolares (Jandera y Kubat, 1990; Hennion y Coquart, 1993), tal como se ilustra en la figura 3.13. Se ha mostrado que, al igual que con la fase C18, el  $\log k'w$  en PRP-1 y en CGP puede ser también extrapolado a partir de la relación  $\log k'$  vs. contenido de metanol en la fase móvil (Hennion, 1999).



**Figura 3.13.** Variación del factor de retención de fenol con el porcentaje de metanol en la fase móvil medida en (●) Silice C18, (■) PRP-1, (▼) CGP Hypercarb

Goewie et al. (1981) informaron que para clorofenoles, los valores de  $V_r$  calculados a partir del  $k'w$  extrapolado y los valores experimentales difirieron sólo en un 10-20 %. Así, con mediciones rápidas con 3 ó 4 fases móviles con diferente contenido de metanol puede estimarse  $k'w$  extrapolando la recta a 0 % de metanol. Sin embargo, para mejor exactitud en la estimación, es importante considerar que esta relación no parece ser completamente lineal en las mezclas ricas en agua y se ha encontrado un mejor ajuste a una relación cuadrática para algunos compuestos contaminantes (Schoenmakers et al., 1983).

Para los compuestos más polares, el desarrollo de la curva en un amplio intervalo de composición de fase móvil no lleva a variaciones lineales. Se han hecho extrapolaciones a partir de intervalos usuales de 40-60 % de metanol y a partir de relaciones cuadráticas con fases móviles ricas en agua y se observó que los últimos valores son siempre más altos que los primeros (Hennion et al., 1998). Esto se ejemplifica en la figura 3.14 con la simazina.



**Figura 3.14** Variación del factor de retención de simazina, cloridazon y oxamilo con el porcentaje de metanol medida en sílice C18 usando una columna de 5 cm de longitud para obtener datos en fases móviles enriquecidas en agua

Igualmente, se han encontrado relaciones cuadráticas con alquil sílices para la variación de factor de retención con la fracción de solvente orgánico ( $\phi$ ) en fases móviles binarias de acuerdo con las teorías basadas en el concepto del parámetro de solubilidad o en índices de interacción (Braumann, 1986, Liska, et al., 1992):

$$\log k' = \log k'w - b\phi + d\phi^2 \quad (7)$$

Sin embargo, se ha mostrado que para algunos solutos esta ecuación no da una descripción exacta de la retención del soluto en fases móviles ricas en agua (Hennion y Coquart, 1993).

### 3.2.3.1.2.2.2 Método de adsorción

Jandera y Kubat (1990) propusieron el uso del  $k'w$  determinado rápidamente por el método de adsorción. El  $k'w$  se definió como el cociente de la cantidad de soluto en la fase estacionaria entre la cantidad de soluto en la fase móvil. Una muestra de volumen conocido adicionada con soluto se bombeó a través de una microcolumna hasta alcanzar el equilibrio de distribución indicado por la estabilización de la señal del detector. La cantidad de soluto adsorbida en la fase estacionaria se midió por posterior desorción del analito con un disolvente fuerte y transferencia a una columna analítica vía una válvula de conmutación por medio de un arreglo en línea. Los autores encontraron que los valores experimentales determinados por el método de adsorción son más altos que los determinados por los métodos de elución descritos arriba.

### 3.2.3.1.2.2. Uso del coeficiente de reparto octanol-agua ( $P$ )

Este otro método se basa en el uso del coeficiente de reparto octanol-agua ( $K_{ow}$  o  $P$ ), parámetro que caracteriza la hidrofobicidad de un compuesto y juega un papel importante en algunos de los fenómenos fisicoquímicos, biológicos y ambientales de interés. Este coeficiente de hidrofobicidad  $P$  es un parámetro que se deriva de estudios de distribución del soluto en particular entre agua y un solvente no polar inmiscible como el octanol.  $P$  define la tendencia relativa del compuesto a ser fácilmente solubilizado en la mayoría de los disolventes no polares y sólo moderadamente en agua. (Braumann, 1983; Braumann, 1986; Hennion, 1999). Actualmente se acepta que este parámetro es adecuado para caracterizar las relaciones cuantitativas entre la estructura de las sustancias y la actividad biológica (Braumann y Grimme, 1981; Govers et al., 1984; Jinno, 1984).

Los valores de  $\log P$  se determinan por el método de equilibrio después de agitación en embudo de separación (shake flask, en inglés), o también se pueden obtener por medio de cálculos sistemáticos, los cuales en general se basan en la suma de factores de contribución de los fragmentos y propiedades moleculares del analito en cuestión (Rekker, 1977; Bodor, 1992). Para el mismo fin existen programas de cómputo como "KowWin" o "Molinspiration" en páginas especializadas de Internet ([www.svrres.com/esc/](http://www.svrres.com/esc/) y [www.molinspiration.com/services/properties.html](http://www.molinspiration.com/services/properties.html)). Noble (1993), a partir de una revisión bibliográfica muy amplia, publicó una lista de valores de  $\log P$  para diversos pesticidas, informando para algunos de ellos valores muy variables para el mismo compuesto, siendo estas más marcadas para los analitos más polares. El uso del parámetro  $P$  para la predicción de los recobros en la EFS es muy rápido y simple, sin embargo su utilidad es limitada, especialmente con valores de  $\log P$  inferiores de 1 (Hennion, 1993).

Se ha encontrado una relación lineal muy buena entre el promedio de los valores de  $k'w$  (obtenidos con diferentes sílices C18 y usando como fases móviles mezclas de agua-metanol), con los valores de  $\log P$  para compuestos relacionados estrechamente y también para compuestos variados que tienen diferentes polaridades y propiedades químicas. Utilizando compuestos de polaridad muy variada, Harnisch (1983) y Braumann (1986) encontraron valores de pendiente muy cercanos a 1 y ordenadas al origen cercanas a 0. Por tanto, por medio de estas relaciones los valores de  $k'w$  se pueden aproximar a los valores de  $\log P$  sin mediciones adicionales, con la precaución de que el valor de  $k'w$  así predicho puede ser subestimado por un factor de 10 a 50. En casos como estos, resultaría más útil tener en el laboratorio una columna C18 de 5 ó 10 cm de longitud y aplicar el método de extrapolación gráfica con mezclas agua-metanol como fase móvil alcanzando el mayor contenido de agua posible.

Finalmente, cabe mencionar que  $P$  se ha correlacionado con otros parámetros fisicoquímicos; por ejemplo, para analitos homólogos, también se ha encontrado una correlación entre la solubilidad en agua y el valor de  $k'w$ , pero debe tenerse cuidado con este acercamiento porque sólo es válido para analitos muy relacionados en su estructura (Thurman, 1978; Sicbaldi, 1993).



3.2.3.1.2.2.4 *Uso del modelo del parámetro de solvatación*

Poole y su grupo han desarrollado un modelo general para la predicción de las condiciones experimentales de la EFS para muestras acuosas (Mayer et al., 1995; Poole et al., 1997, 2000). Los autores parten de la definición del volumen de fuga dado por la ecuación 5, mencionada anteriormente. Los valores de  $Q$  y  $V_0$  se estimaron a partir de valores de columna usando el adsorbente C18 de EFS como fase estacionaria. El factor de retención ( $k's$ ) se calculó mediante el modelo del parámetro de solvatación de Abrahams (1993), que es función de la composición del disolvente y de descriptores del soluto característicos:

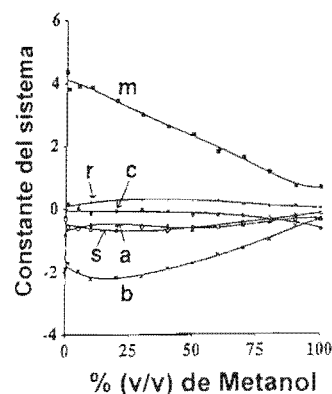
$$\log k's = C + mV_x + rR_2 + s\pi_2^H + a\sum a_2^H + b\sum b_2^H \quad (8)$$

donde  $k's$  es el factor de retención del soluto sobre un sistema cromatográfico definido. Los descriptores de soluto son: el volumen molecular  $V_x$ , y la refracción molar de exceso  $R_2$ .  $\pi_2^H$  es la dipolaridad/dipolarizabilidad del soluto y  $\sum a_2^H$  y  $b_2^H$  la acidez y la basicidad efectiva del puente de hidrógeno del soluto, respectivamente. De acuerdo con los autores, estos descriptores están disponibles en la literatura para más de 2000 compuestos o se pueden hacer estimaciones por programas de computo. También es posible medir los descriptores con sistemas cromatográficos usando métodos estandarizados.

Las constantes del sistema se definen por sus interacciones complementarias con los descriptores del soluto: la constante  $m$  refleja las diferencias de las interacciones de dispersión en el adsorbente solvatado y en la fase móvil; la constante  $r$  se refiere a la capacidad del adsorbente solvatado a interactuar con un electrón  $n$  o  $\pi$  del soluto. La constante  $s$  representa las interacciones dipolo-dipolo y dipolo inducido entre el adsorbente solvatado y la fase móvil. Las constantes  $a$  y  $b$  son una medida de la diferencia en la basicidad y en la acidez del enlace de hidrógeno del adsorbente solvatado y la fase móvil (Lepont et al., 2001). Las constantes del sistema se pueden obtener usando análisis de regresión lineal múltiple de valores de  $k's$  experimentales adquiridos para un grupo de solutos variados con descriptores conocidos.

Un mapa de sistema es el trazo de las constantes del sistema como función de la composición del solvente. Están disponibles mapas de sistemas para varios adsorbentes de sílice enlazada (Poole et al., 1997; Seibert y Poole, 1998). La ventaja de estos mapas es que son permanentes una vez generados (figura. 3.15).

**Figura 3.15** Mapa del sistema para sílice C18 con metanol-agua como disolvente de muestra



### 3.2.3.2 Rendimiento de Extracción (R%)

El rendimiento de extracción o recobro se define como el cociente entre la cantidad extraída y la cantidad aplicada. Teóricamente se alcanza el 100 % sólo para un volumen de muestra menor que  $V_f$ , porque la cantidad extraída es igual a la aplicada (figura. 3.9 a). Esto explica porque el  $V_f$  recibe mucha atención en el desarrollo de métodos por EFS y por lo tanto resultan importantes su medición y predicción.

La máxima cantidad que puede ser extraída, como ya se mencionó, corresponde a la aplicación de un volumen igual a  $V_m$ , pero con un rendimiento de extracción inferior al 100 % (figura. 3.9 a). Preconcentrar un volumen mayor a  $V_m$  es inútil, ya que no se consigue retener y extraer una mayor cantidad de soluto. Así, el recobro en la EFS depende del volumen de muestra y del volumen de fuga, este último siendo función del tipo y cantidad de adsorbente.

Los recobros obtenidos con el mismo adsorbente se pueden comparar entre experimentos diferentes sólo si se conoce la cantidad de adsorbente y el volumen de muestra aplicado. Es posible obtener un recobro del 100 % si se disminuye el volumen de muestra por debajo del  $V_f$ . Un simple cálculo indicará si este volumen es suficiente para alcanzar el nivel de detección requerido según las condiciones instrumentales particulares. Por ejemplo, para una muestra cuyo compuesto de interés se encuentra a una concentración traza de  $3 \mu\text{g/L}$ , y el volumen de fuga del compuesto es de 100 mL, al preconcentrar 70 mL y aplicar la masa preconcentrada directamente en una columna analítica mediante un arreglo en línea, se inyectarán en realidad  $0.21 \mu\text{g}$  de compuesto de manera directa. De esta manera es más factible alcanzar el límite de detección que con la inyección directa de –por ejemplo–  $50 \mu\text{l}$  de la muestra, con lo cual sólo se lograría inyectar  $1.5 \times 10^{-4} \mu\text{g}$ , cantidad inferior a los límites de detección convencionales en CL.

## 3.3 INTERFERENCIAS

### 3.3.1 MATERIA ORGÁNICA

#### 3.3.1.1 Definición y Composición

Con respecto a la materia orgánica disuelta (MOD), se ha encontrado que las concentraciones promedio en aguas naturales varían como sigue:  $0.7 \text{ mg/L}$  en agua subterránea,  $1.0 \text{ mg/L}$  en agua de lluvia,  $2.0 \text{ mg/L}$  en lagos oligotrópicos,  $5.0 \text{ mg/L}$  en ríos,  $10.0 \text{ mg/L}$  en lagos eutrópicos, y entre  $15 \text{ mg/L}$

y 30 mg/L en agua de pantano. Las fuentes varias y la abundancia relativa se muestran en la figura 3.16 (Leenheer, 1994; Li y Lee, 2001).

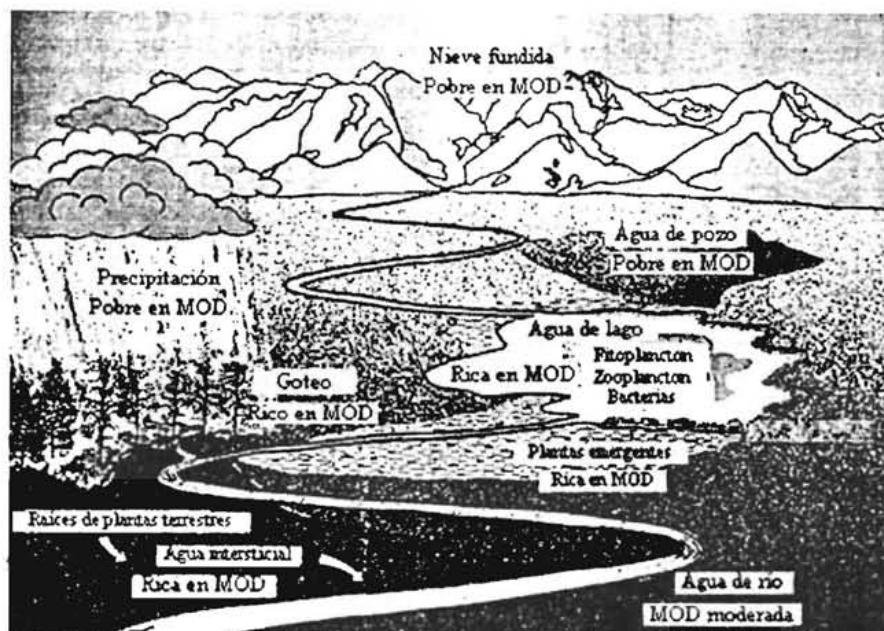


Figura 3.16 Fuentes de MOD en aguas naturales

La MOD en agua es una mezcla compleja de biomoléculas de tamaño regular degradadas. Sólo alrededor del 20 % de la MOD en aguas naturales consiste de compuestos identificables que incluyen carbohidratos, ácidos carboxílicos, aminoácidos e hidrocarburos (Leenheer, 1994). El 80 % restante se define generalmente como sustancias húmicas, las cuales consisten de residuos complejos de plantas, bacterias y hongos ambientalmente alterados de peso molecular moderado (500-5000 Da) (Legube, 1991). La parte más importante de la MOD en aguas naturales consiste de solutos húmicos, ácidos orgánicos heterogéneos y macromoleculares, que se forman durante la degradación de la materia orgánica derivada de plantas y animales como resultado de varios procesos de transformación abiótica y microbiana.

La parte húmica de la MOD, que usualmente se define como aquellas sustancias que pasan a través de un filtro de 0.45  $\mu\text{m}$  y que son predominantemente ácidas, se ha clasificado en fracciones hidrofóbicas e hidrofílicas. Los ácidos hidrofóbicos de aguas naturales se han definido operacionalmente como sustancias húmicas disueltas. La acidificación de la fracción ácida hidrofóbica de la MOD precipita ácidos húmicos (AH), con los ácidos fúlvicos (AF) remanentes en la solución. Los ácidos fúlvicos son solubles en soluciones acuosas alcalinas y ácidas, y los ácidos húmicos son solubles en soluciones

alcalinas pero insolubles en soluciones ácidas o neutras. (Leenheer, 1994; Hogendoorn et al., 1999). A pH 7 los ácidos húmicos tienen la máxima estabilidad (Hoop et al., 1990). En el cuadro 3.5 aparecen las definiciones de Malcolm R. (1990).

Los ácidos hidrófilicos de la parte húmica de la MOD, son una mezcla de biopolímeros no degradados y sustancias húmicas muy degradadas (Hogendoorn et al., 1999).

**Cuadro 3.5** Definición de términos

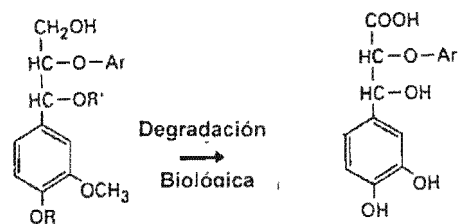
TÉRMINO	DEFINICIÓN
Sustancias húmicas de corrientes	Los ácidos húmicos y fúlvicos que se encuentran disueltos en corrientes de agua fresca. El término corriente comprende todos los tamaños de vías de agua, desde pequeños arroyos hasta grandes ríos.
Ácidos húmicos de corrientes	Las sustancias orgánicas coloridas, de alto peso molecular y de composición no específica que se encuentran disueltos en el agua de corrientes. Estas sustancias son insolubles a pH < 1. El peso molecular varía en un intervalo de 1500 a 5000 Da.
Ácidos fúlvicos de corrientes	Las sustancias orgánicas coloridas, de peso molecular medio y de composición no específica que se encuentran disueltos en el agua de corrientes. Estas sustancias son solubles a de pH 1 o mayor. Su peso molecular varía en un intervalo de 600 a 1000 Da.
Ácidos húmicos de suelo	Las sustancias orgánicas coloridas, de peso molecular alto que se encuentran en el ambiente del suelo. Estas sustancias son solubles en NaOH 0.1 M e insolubles a pH < 1. El intervalo de peso molecular es extremadamente variable: entre 50000 y 500000 Da.
Ácidos fúlvicos de suelo	Sustancias orgánicas coloridas de peso molecular medio y de composición no específica que se encuentran en el ambiente del suelo. Estas sustancias son solubles en NaOH 0.1 M y también a pH 1. El intervalo de peso molecular varía entre 1000 y 5000 Da.
Sustancias húmicas marinas	Los ácidos fúlvicos y húmicos que se encuentran disueltos en el agua de mar
Ácidos húmicos marinos	Las sustancias orgánicas coloridas de alto peso molecular de composición no específica que se encuentran disueltos en el agua de mar. Estas sustancias son insolubles a pH < 1.
Ácidos fúlvicos marinos	Las sustancias orgánicas coloridas, de peso molecular medio y de composición no específica que se encuentran disueltos en el agua de mar. Estas sustancias son solubles a pH 1 o mayor.

Los ácidos húmicos contribuyen esencialmente a muchos procesos en ecosistemas acuáticos, por ejemplo: ciclos de carbono y nutrimentos, capacidad de acidez y amortiguación del agua y las interacciones con contaminantes orgánicos (Lehtonen et al., 2000).

Los estudios de la química de la MOD en aguas naturales son limitados por el hecho de que la mayoría de las estructuras químicas involucradas no se han definido. La complejidad de la mezcla de la MOD y el tamaño sustancial de las moléculas han dificultado los intentos de caracterizar completamente la MOD a nivel molecular. Los AH y AF tienen estructuras moleculares complejas, por tanto solo es posible hacer generalizaciones acerca de éstas.

Las tres fuentes principales de las sustancias orgánicas disueltas en ríos, lagos y reservas son: ligninas, carbohidratos y lípidos; siendo la lignina la precursora principal de las sustancias húmicas

disueltas, como se muestra en la reacción de la figura 3.17. Los pesos moleculares de las sustancias húmicas cubren un intervalo amplio y van de aproximadamente 1000 Da para los AF a 25000 Da o más para los AH (Hoop et al., 1990; Leenheer, 1994; Lehtonen et al., 2000).



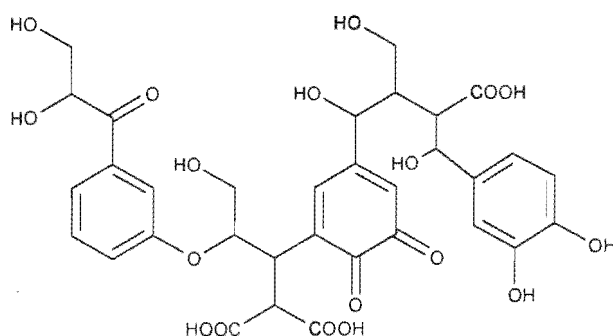
Unidad de Lignina

**Figura 3.17** Reacción de degradación de lignina

Leenheer (1994) informó que la terminación de las estructuras alifáticas de las sustancias húmicas, generalmente de cadena corta y ramificada, comúnmente son grupos carboxílicos. También están presentes estructuras alicíclicas alifáticas provenientes de residuos de carbohidratos y lípidos, dado los grupos hidroxilo remanentes. El número de anillos en la estructura de las sustancias húmicas disueltas descarta la posibilidad de un contenido significativo de hidrocarburos alifáticos de cadena abierta, además de retener un alto grado de aromaticidad de sus precursores biógenos.

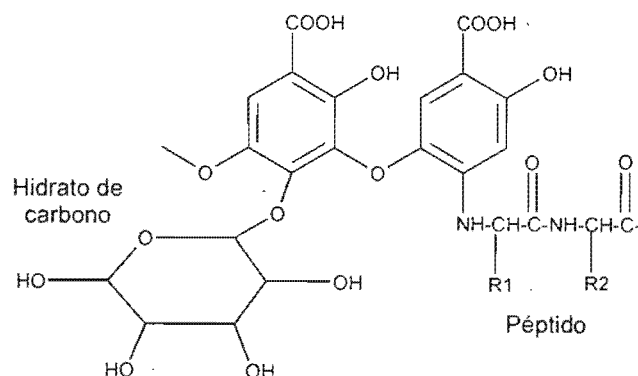
En el estudio de Lehtonen et al. (2000), se elucidó la naturaleza química y la composición estructural de algunas muestras de materia húmica acuática de lagos. El análisis de los productos de degradación de las sustancias húmicas mostró que los principales fueron derivados fenólicos y ácidos alifáticos, además de proporciones variables de diferentes compuestos de nitrógeno y azufre.

Los modelos estructurales representan el promedio de las propiedades de miles a millones de compuestos mezclados (Howard, 1998). Se han propuesto modelos estructurales para AH basados en monómeros de lignina (Tan, 2003), tal como el que se ilustra en la figura 3.18



**Figura 3.18** Modelo estructural de ácido húmico con base en monómeros de lignina

Otros modelos para AH incluyen 2 unidades enlazadas de fenol a las que se une un hidrato de carbono y una unidad peptídica. El modelo propuesto por Stevenson (1994) se muestra en la figura 3.19



**Figura 3.19** Modelo estructural de ácido húmico propuesto por Stevenson (1994)

Por otra parte, parece ser que los pesticidas y otras sustancias orgánicas se asocian o sufren complejación con la materia orgánica, disminuyendo su adsorción en el suelo e incrementando su transporte y solubilidad en medios acuosos como el agua subterránea (Seol y Lee, 2000; Li y Lee, 2001). Por esta razón, es de gran importancia considerar el efecto de la materia orgánica en la EFS para el monitoreo de pesticidas en agua.

### 3.3.1.2 Efectos sobre la EFS

Como ya se ha visto, la principal dificultad durante la extracción de pesticidas en muestras acuosas naturales es que son también preconcentradas muchas interferencias dado que son matrices complejas, dando lugar por tanto a problemas de ruido o de recobro bajo. Las interferencias de la matriz representan un problema mayor cuando se considera que los analitos de interés se encuentran a nivel de trazas y la mayoría de las extracciones analíticas requieren volúmenes grandes de agua para obtener suficiente pesticida para el análisis. Así, es importante optimizar la preconcentración en términos de la remoción o caracterización de interferencias.

Con respecto al efecto negativo de la presencia de los AH en muestras ambientales sobre la EFS, se encuentran varios casos. Por lo general, se informa que los efectos consisten en la disminución de R%, problemas en la detección de los analitos de interés, y cuando se emplea la detección UV a bajas longitudes de onda, el análisis cromatográfico es usualmente entorpecido por un pico ancho al inicio del cromatograma o un monte en medio dependiendo del gradiente de fase móvil aplicado a la separación. Este último efecto es debido a la presencia de los grupos funcionales fenólicos y carboxílicos cuya ionización disminuye cuando las muestras de agua natural se acidifican, ya que la sílice C18 sólo puede

atrapar a los compuestos ácidos en su forma no iónica. Este monte en el cromatograma causa una severa desviación de la línea de base e impide, en muchos casos, la identificación y la cuantificación a bajos niveles de los compuestos más polares co-eluidos con el pico interferente. Como consecuencia, los límites de detección (LD) se incrementan y se requiere un paso de limpieza, lo que incrementa el tiempo de análisis y el riesgo de pérdida y contaminación de las muestras (Pichon, et al., 1996; Hogendoorn et al., 1999; Pichon, 2000). Sin embargo, no se han encontrado los mismos efectos en todos los compuestos orgánicos analizados ni en todas las muestras (Masqué et al., 1998).

Por citar algunos estudios, Ibañes et al. (1998) han comprobado el efecto negativo de los AH y de los surfactantes en los recobros de tres herbicidas catiónicos (diquat, paraquat y difenzoquat) de muestras acuosas, mientras que Li y Lee (2001) lo hicieron con algunos pesticidas y bifenilos policlorinados con la sílice C18 común. Hennion y Scribe (1993) informan pérdidas de atrazina y simazina observadas en agua superficial comparado con agua destilada. Johnson et al. (1991) encontraron que los recobros de 11 pesticidas a partir de una solución de ácidos húmicos (10 mg/L de carbón orgánico disuelto) fueron en general significativamente más bajos que los encontrados para agua pura fortificada.

Con respecto a las posibles explicaciones de estos fenómenos, se ha manejado que la disminución en el rendimiento de extracción puede ser causada por 1. saturación parcial de los sitios adsorptivos del adsorbente C18 por el material húmico, 2. asociación de pesticidas a los ácidos húmicos retenidos por el adsorbente y no desorbidos durante la extracción con solvente, ó 3. baja afinidad del pesticida con el adsorbente cuando se asocia con ácidos húmicos en solución (Johnson et al., 1991). Estos últimos autores demuestran que la primera opción no es probable y que es posible que se forme un complejo pesticida-ácido húmico. Las interacciones de los analitos con la materia húmica son complejas debido a la alta complejidad de la molécula. Estas interacciones pueden ir desde fuerzas de atracción de Van der Waals hasta la reacción directa con grupos funcionales, pasando por considerar efectos estéricos también, la materia húmica podría actuar como donador de electrones vía los grupos hidroxilo y carboxílico y las unidades estructurales aromáticas (Hennion y Scribe, 1994; Ibañez et al., 1998; Li y Lee, 2001).

También se han informado alteraciones en los R% de ciertos compuestos en presencia de MOD en la microextracción en fase sólida. Valor et al. (1997) informaron que los recobros de pesticidas organofosforados disminuyen. Por otra parte, se han encontrado efectos adversos de las sustancias húmicas en el desempeño de las membranas de ultrafiltración debido a los grupos fenólicos y carboxílicos que interactúan con el material de membrana, provocando el fenómeno de "fouling", esto es, disminución del flujo y la efectividad de la membrana entre otros efectos (Lin et al., 2001).

### 3.3.1.3 Revisión de casos donde se reduce el efecto de la materia orgánica en los R%

Se han intentado diversas estrategias para minimizar en lo posible las interacciones del analito con las sustancias húmicas. Di Corcia et al. (1999) cuantificaron fenilureas con la adición del agente reductor borohidruro de sodio, el cual libera las fracciones unidas reversiblemente por enlaces covalentes entre la red de los AH y las aminas aromáticas; al reducir los grupos carbonilo de los AH se obtuvieron recobros mayores del 85 %.

Por su parte, Pichon et al. (1996) compararon adsorbentes PE-DVB poliméricos de alta superficie con sílices C18 para la extracción de pesticidas ácidos neutros y básicos y lograron la no-extracción y la no co-elución de los AH y AF de agua de río al aplicar la muestra con un pH ajustado a 7. Esto se puede explicar por el hecho de que las grandes moléculas de AH tienen diferente configuración dependiendo del pH, tal que los grupos ácidos pueden interactuar fácilmente a pH ácido pero no a pH neutro. A pH 7 los ácidos húmicos y fúlvicos se encuentran en la fracción coloidal y por tanto son excluidos cuando se aplican las muestras de agua. Los pesticidas ácidos pueden retenerse sobre fases poliméricas a pH 7 aún en su forma ionizada con recobros mayores del 80 %, con LD menores de 0.1 µg/L, y con volúmenes de muestra aplicados del orden de 500 mL. Para el caso de la sílice C18 los recobros de los pesticidas ácidos a pH 7 fueron menores que 40 % e incluso algunos no se retuvieron. Así, la acidificación de la muestra resulta generalmente en un compromiso entre el incremento en la retención de los compuestos ácidos, el incremento en la cantidad de compuestos co-extraídos y el tipo de adsorbente empleado (Pichon, 2000; Sabik et al., 2000). La acidez de los compuestos húmicos explica por qué estas interferencias son sólo detectadas a pH ácido y son más importantes a pH 2 que a pH 3.

Otro método para eliminar los AH consiste en el paso de lavado antes de la elución. Se pueden usar algunos mililitros de agua pura o mezcla de agua pura con una pequeña cantidad de disolvente orgánico o surfactante, pero se corre el riesgo de perder los compuestos ligeramente retenidos, esto es, los más polares. Esta técnica se usa frecuentemente para aplicaciones en línea pero es particularmente difícil de aplicar cuando los compuestos estudiados incluyen un amplio rango de polaridades (Pichon, 2000). Otra estrategia es, además del lavado del adsorbente de EFS (compromiso entre contenido de disolvente orgánico en la fase de lavado y el recobro de analitos polares), realizar el paso de lavado en la dirección de flujo hacia delante y el paso de desorción por la fase móvil de la CL en la dirección de flujo inversa. Sin embargo, no todas las interferencias pueden ser removidas de esta manera.

Una posibilidad usada para aplicaciones en diferido consiste en limpiar el extracto usando un segundo adsorbente, el cual puede ser polar como la sílice, alúmina, florisil, o intercambiadores iónicos. Como un ejemplo, para el análisis de glifosato y ácido aminometilfosfónico, se removieron los ácidos húmicos y fúlvicos en su forma iónica del extracto usando un intercambiador aniónico fuerte. Las cargas



residuales positivas de un adsorbente carbonáceo también se usaron para remover los compuestos húmicos ionizados: estos contaminantes se atraparon y permanecieron sobre el adsorbente durante la elución de los compuestos de interés (Ferrer et al., 1999; Mogadati et al., 1999).

También se ha informado el fraccionamiento del extracto mediante una elución por pasos para el análisis de compuestos ácidos por una parte y la suma de los compuestos neutros y básicos con el uso de un adsorbente de carbono grafitizado poroso. Estas aplicaciones se basan en el potencial de este adsorbente para extraer compuestos polares y la habilidad de sus cargas residuales positivas para retener las negativas en un mecanismo de intercambio iónico. Sin embargo, también se ha informado la adsorción irreversible de compuestos o una reducción de la capacidad adsorbente debido a la presencia de sustancias húmicas (Pichon, 2000).

Una estrategia empleada por Modagati et al. (1999), se basó en la manipulación de la polaridad de los disolventes empleados en los distintos pasos de la EFS para fraccionar los eluatos. En este estudio multiresiduo de 120 pesticidas y metabolitos en 2 suelos con contenido de materia orgánica de 4 y 5.2 %, se emplearon cartuchos de EFS C18 (Envi-18 Supelco) y análisis por CG-EM. En el paso de aplicación de la muestra acuosa a través del adsorbente de fase inversa, se separaron los pesticidas más polares de la mayoría de los ácidos húmicos y pesticidas no polares que permanecen en el adsorbente. Cambiando el disolvente de elución convencional por una mezcla de metanol-acetona (5+1) disminuyó la polaridad del disolvente de elución, de manera que se eluyen los pesticidas no polares mientras que la mayoría de los ácidos húmicos son aún retenidos sobre el adsorbente. Desafortunadamente, los ácidos húmicos de polaridad intermedia se eluyeron junto con los pesticidas no polares. Estos dos grupos se separan pasando el eluato a través de un cartucho amino-CL. Este adsorbente es más polar que el de fase inversa y atrapa los ácidos húmicos de polaridad intermedia. Los pesticidas no polares que eluyeron del adsorbente amino-CL se combinaron con los pesticidas polares que no se retuvieron por el adsorbente de fase reversa antes de la determinación por CG-EM. De los 120 pesticidas estudiados, 98 mostraron recobros de 70-130 % en la muestra de suelo con mayor contenido orgánico.

Ibáñez et al. (1998), informaron la disminución del rendimiento de extracción en función del pH de herbicidas catiónicos "quat" en agua por cartuchos de sílice en presencia de ácidos húmicos (7 niveles de concentración), así como la estrategia de agregar un surfactante catiónico (cetrimida) para prevenir este problema. Esto se ha atribuido a su capacidad de desplazamiento, evitando la unión de pesticidas con otras moléculas al bloquear los sitios activos de ambos compuestos, posiblemente también por interacción iónica entre grupos funcionales.

Li y Lee (2001) por su parte emplearon un adsorbente novedoso al que le llamaron de extracción en fase sólida-intercambio iónico dinámico (EFS-IID) para preconcentrar HPA's de agua superficial. El adsorbente fue sílice C18 cargado con una cadena larga del surfactante bromuro de cetiltrimetilamonio, que

actuó tanto como adsorbente de fase inversa como intercambiador de iones. De esta manera, el adsorbente retuvo por mecanismos de fase reversa los analitos libres, mientras que aquellos asociados a los ácidos húmicos se retuvieron por intercambio iónico. Ambas fracciones se desorbieron con el disolvente de elución apropiado. Los autores reportaron recobros de los analitos de 10 a 30 % mejores que en el caso de usar un adsorbente de sílice C18 simple para 1 litro de muestra adicionada con analitos y AH, o para 500 mL de agua natural. El análisis se efectuó por CG-EM.

Se ha intentado con éxito el uso de precolumnas en serie (Hennion y Scribe, 1993). Coquart y Hennion (1991), optimizaron la remoción de interferencias mediante el acoplamiento en serie de 2 precolumnas para el paso de preconcentración, actuando la primera como un filtro de interferencias mientras que la segunda atrapa los analitos de interés. Para el caso de la determinación de clorotriazinas y fenilureas, la configuración de una primera precolumna C18 ó C8, con una segunda precolumna PRP-1 funcionó bastante bien. La elección de la sílice n-alkil enlazada en función de la polaridad de los solutos es crucial, ya que se debe elegir de manera que éstos se retengan ligeramente en ella, y tener los máximos recobros posibles sobre la precolumna secundaria PRP-1; las interferencias deberán quedar retenidas en la primera precolumna. Los recobros se encontraron entre 80 y 98 % .

Un método que ha demostrado ser efectivo pero cuyas operaciones suelen demandar gran consumo de tiempo, es llevar a cabo la digestión química de los ácidos húmicos antes de la extracción de los analitos (Driscoll et al., 1991; Wells y Yu, 2000).

Entre las estrategias en desarrollo se encuentra el uso de fases estacionarias de superficie interna entre otras, tal como proponen Hogendoorn et al. (1999). Debido a las diferencias en el tamaño molecular entre los analitos de interés (moléculas pequeñas) y las sustancias húmicas (moléculas grandes), puede hacerse atractivo el uso de columnas de MAR. En este trabajo se hizo uso de columnas analíticas MAR de superficie semipermeable (SSP) y de superficie interna de fase reversa (SIFR), acopladas a una columna analítica de fase C18, tal que se tenga un arreglo CL/CL. El acoplamiento de columnas analíticas en serie SIFR/C18 fue el arreglo más favorable para el análisis multiresiduo de pesticidas ácidos en agua con un nivel alto de MOD.

### 3.3.2 MATERIA INORGÁNICA

Con respecto a los interferentes inorgánicos, diferentes autores han estudiado si la fuerza iónica (FI) puede afectar la extracción de pesticidas a partir de muestras de agua adicionando sales al agua. Los resultados reportados indican que el incremento en la fuerza iónica puede indistintamente mejorar o empeorar el recobro, dependiendo de la polaridad y de los mecanismos involucrados en la EFS (Jiménez, et al., 1996; Valor et al., 1997; Ibáñez et al., 1998).

Báez et al. (1997) evaluaron el efecto de la FI en la EFS usando un adsorbente C18, y encontraron que un incremento de FI en las muestras acuosas conduce a aumentos de los recobros para prometón y prometrina. Por su parte, Valor et al. (1997) encontraron que la presencia de sales en muestras marinas incrementó la adsorción de pesticidas organofosforados en la fibra de poliacrilato en la microextracción en fase sólida.

En el estudio de Ibáñez et al. (1998), se analizó el efecto de las sales presentes en aguas sobre la EFS de los pesticidas catiónicos diquat, paraquat y difenzoquat. Los recobros disminuyeron en forma importante cuando la concentración de NaCl se incrementó, aunque los recobros fueron mayores que 50 % a una concentración de sal de 5 g/L. Este fenómeno se esperaba ya que confirmó el proceso de intercambio iónico entre los herbicidas catiónicos y los grupos silanol de la fase sólida de sílice empleada. También se estudió el número de carga de los cationes de la sal, se extrajeron muestras de agua adicionadas con 2 g/L de  $\text{CaCl}_2$  o  $\text{AlCl}_3$ . Los recobros obtenidos estuvieron en un intervalo de 38-46 % para el  $\text{CaCl}_2$  ó 5-10 % para el  $\text{AlCl}_3$ . Se concluyó que la interferencia en los recobros de los iones divalentes y trivalentes es mayor que con los monovalentes porque tienen más sitios activos. Por otro lado, la influencia del anión con respecto a su interferencia se probó usando  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  a 2 g/L. Los recobros cercanos a los valores obtenidos con agua adicionada con NaCl a la misma concentración, demuestran que la naturaleza del anión no tiene el mismo impacto que la del catión.

Así, cuando se hace uso de adsorbentes de intercambio iónico es claro que la presencia de iones inorgánicos saturará el adsorbente. En estos casos debe pensarse en la remoción de los iones, ya sea por precipitación, complejación, o haciendo uso de precolumnas de extracción acopladas donde la primera columna retenga los analitos y la segunda pueda ser más selectiva (Coquart y Hennion, 1991).

Por su parte, Masqué et al. (1998) usaron la adición de 500-1000  $\mu\text{L}$  de una solución de sulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$  al 10 %) por cada 100 mL de muestra antes del proceso de extracción con el fin de eliminar el cloro libre (hipoclorito) del agua de grifo. Algunos picos de analitos que habían desaparecido aparecieron, e inclusive el pico inicial debido a los AH y AF disminuyó, por lo que los autores agregaron más solución de sulfito de sodio en muestras de agua de río para hacer este pico aún más pequeño.

Se ha documentado una fuerte complejación de metales en solución por sustancias húmicas, lo que se atribuye a la quelación por los grupos funcionales ácidos de los AH próximos a los metales. Por tanto, también se sugiere que la disolución de metales se incrementa linealmente con el contenido de MOD (Mark, 2002; Tipping, 2002).

## CAPITULO 4. METODOLOGÍA

### 4.1 REACTIVOS Y EQUIPOS

#### 4.1.1 REACTIVOS

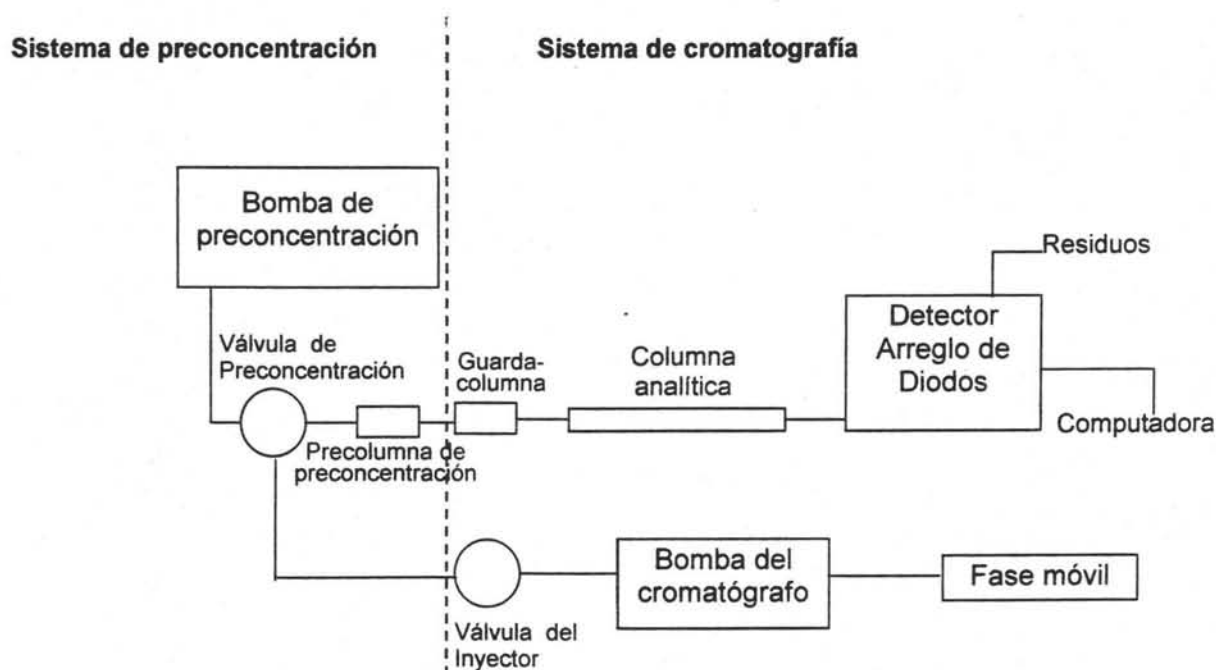
- Agua grado cromatográfico
- Metanol grado cromatográfico EM Science Merck (Darmstadt, Germany)
- Ácidos húmicos sal sódica Aldrich Chemical Company (Milwaukee, Wi., EUA)
- Hidróxido de sodio lentejas J.T. Baker (Phillipsburg, N.J., EUA)
- Ácido sulfúrico concentrado J.T. Baker (Phillipsburg, N.J., EUA)
- Ácido fosfórico J.T. Baker (Phillipsburg, N.J., EUA)
- Acetato de amonio Merck (Darmstadt, Germany)
- Estándares de plaguicidas Chemservice (West Chester, PA, EUA), pureza 97-99 %, de tres familias estructurales (las estructuras de todos los compuestos así como algunas propiedades importantes se pueden consultar en el anexo 1):
  - ✓ Fenilureas: Fenurón, monurón, diurón
  - ✓ Triazinas: Deisopropilatrazina, desetilatrazina, 2-hidroxiatrazina, cianazina, simazina, hexazinona, atrazina, simetrina, propazina, prometón, terbutilazina, prometrina.
  - ✓ Carbamatos: Oxamilo, metomilo, 3-hidroxicarbofurano, aldicarb, baygón, carbofurano, carbarilo, desmedifam, tiodicarb, metiocarb.
- Disoluciones madre de cada plaguicida y en mezcla a una concentración de 100 mg/L en metanol grado cromatográfico, almacenadas a 4 °C. A partir de estas soluciones patrón se prepararon soluciones a 20 mg/L.
- Todas las soluciones y muestras se almacenaron en material de vidrio lavado con ácido nítrico al 3 % por al menos 24 horas y enjuagado con agua desmineralizada.

#### 4.1.2 SISTEMA CROMATOGRÁFICO

Se utilizó un equipo de cromatografía de líquidos (figura 4.1) con los siguientes componentes:

- Cromatógrafo de líquidos con bomba terciaria modelo 9010 (Varian Associates, Inc.) con inyector de muestra (20 µL) modelo 7725i Rheodyne (Ca., EUA)
- Detector UV de arreglo de diodos modelo Polychrom 9065 (Varian Associates, Inc.) con lámpara de deuterio 190-367 nm.

- Programa de control y procesamiento de datos Varian Star Workstation, versión 4.5 (Varian Associates, Inc.)
- Columna analítica de acero inoxidable Res Elut (Varian, Ca. U.S.A.) de 150 x 4.6 mm d.i. empacada con sílice C<sub>18</sub> con un tamaño de partícula de 5 µm.
- Columna analítica de acero inoxidable de 50 x 4.6 mm d.i. empacada con copolímero de estirenodivinilbenceno (PLRP-S 100 A°, Polymer Labs.) con un tamaño de partícula de 10-15 µm.
- Precolumna de guarda de acero inoxidable Hichrom de 20 x 2 mm d.i. empacada con sílice Bondesil C18 (Varian Ca. U.S.A.), con diámetro de partícula de 5 µm.
- Sistema de purificación de agua desionizador Nanopure (Barnstead Thermolyne)
- Baño de ultrasonido Bransonic modelo 1210
- Equipo de microfiltración Millipore
- Membranas para microfiltración de nylon de 47 mm de diámetro y tamaño de poro 0.45 µm (Lida, Manufacturing, USA), acondicionadas previamente con metanol por 24 horas y conservadas sumergidas en agua grado cromatográfico.
- Membranas para microfiltración de nitrato de celulosa de 47 mm de diámetro y tamaño de poro 0.45 µm (Sartorius, Germany), conservadas sumergidas en agua grado cromatográfico
- Jeringa Hamilton 0-100 µL



**Figura 4.1.** Esquema para la extracción en fase sólida acoplada en línea con la CLAR.

### 4.1.3 SISTEMA DE PRECONCENTRACIÓN

El sistema (figura 4.1) contó con los siguientes accesorios:

- Válvula de conmutación Rheodyne (Ca, U.S.A.) modelo 7000 de 6 entradas y 2 vías.
- Bomba de preconcentración isocrática Eldex modelo CC-100-S de flujo variable
- Precolumna de preconcentración de acero inoxidable Hichrom de 20 x 2 mm d.i. empacada con copolímero de estirenodivinilbenceno, (PLRP-S 100 A°, Polymer Labs.) con un tamaño de partícula de 10-15  $\mu\text{m}$ .
- Precolumna de preconcentración acero inoxidable Hichrom de 20 x 2 mm d.i. empacada con sílice Nucleosil C18 con un tamaño de partícula de 10  $\mu\text{m}$  (Phenomenex).

### 4.1.4 DESCRIPCIÓN DEL MONTAJE DE ACOPLAMIENTO EN LÍNEA DEL SISTEMA DE PRECONCENTRACIÓN CON EL SISTEMA CROMATOGRÁFICO

El sistema de preconcentración acoplado en línea con el sistema cromatográfico se instaló entre el inyector y la columna analítica, de acuerdo con el esquema presentado en la figura 4.1. El acoplamiento de la preconcentración al análisis cromatográfico se efectuó por medio de 2 válvulas de conmutación de 6 entradas y 2 posiciones unidas entre sí con tuberías capilares de 0.01 pulgadas d.i. y conectadas por medio de uniones y férulas especiales.

En la figura 4.2 y en el cuadro 4.1 se muestra el montaje y la posición de las válvulas para efectuar cada una de las operaciones. El acondicionamiento de la precolumna de extracción, la aplicación de la muestra, la limpieza de las conexiones y el reacondicionamiento de la precolumna se realizaron utilizando la bomba de preconcentración (operaciones 1, 2, 3 y 6 del cuadro 4.1). El acondicionamiento de la columna analítica, la elución de la precolumna, el re-acondicionamiento de la columna analítica y la inyección directa (operaciones 4, 5 y 7 del cuadro 4.1) se efectuaron utilizando la bomba del cromatógrafo.

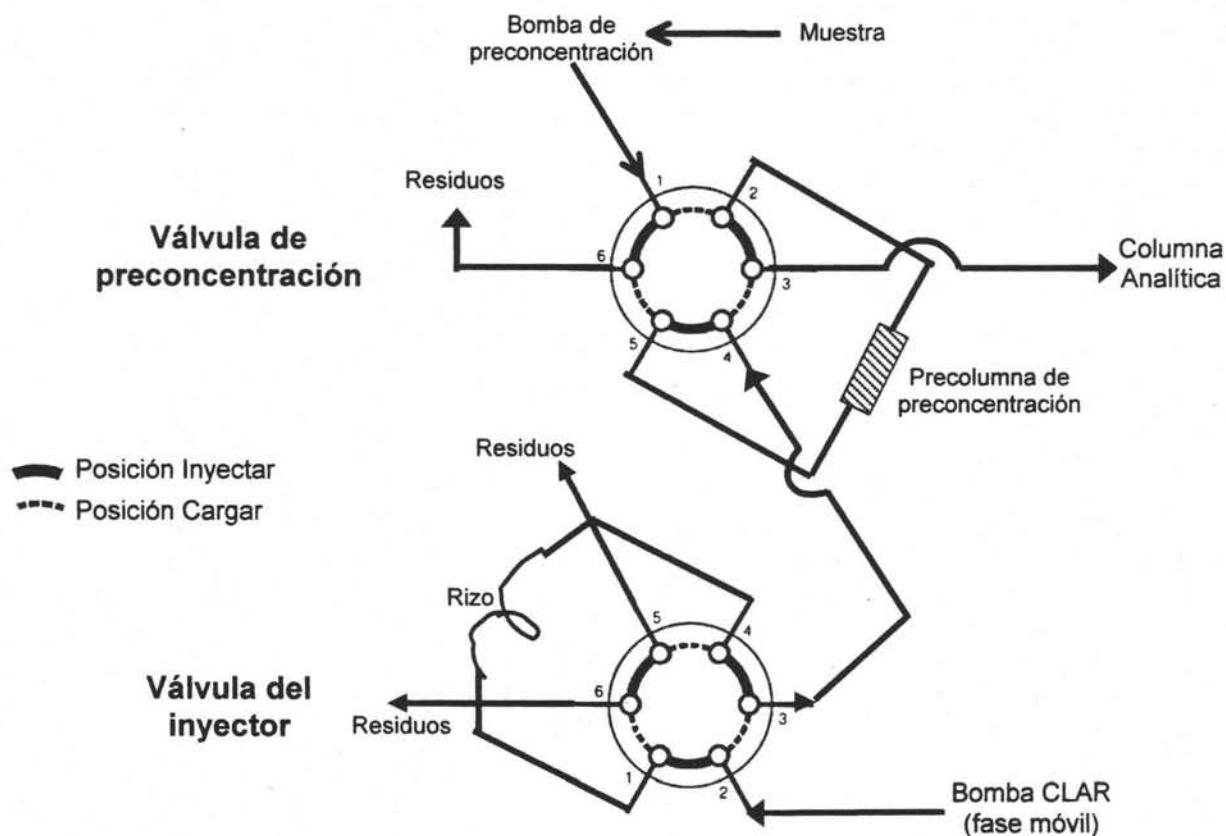


Figura 4.2. Posición de las válvulas de conmutación en el montaje en línea

Cuadro 4.1. Posición de las válvulas y bombas empleadas para las diferentes operaciones en la preconcentración y análisis en línea

Operación	Válvula de preconcentración	Válvula de inyección	Bomba
1. Acondicionamiento de precolumna de preconcentración <sup>(a), (d)</sup>	Cargar	Cargar	Preconcentración
2. Aplicación de la muestra <sup>(d)</sup>	Cargar	Cargar	Preconcentración
3. Limpieza de conexiones <sup>(b)</sup>	Cargar	Cargar	Preconcentración
4. Acondicionamiento de columna analítica <sup>(c)</sup>	Cargar	Cargar	Análítica
5. Elución de la precolumna y separación analítica <sup>(c)</sup>	Inyectar	Cargar	Análítica
6. Re-acondicionamiento de precolumna de preconcentración <sup>(a), (d)</sup>	Cargar	Cargar	Preconcentración
7. Inyección directa	Cargar	Inyectar	Análítica

a. 5 mL de metanol seguidos de 15 mL de agua grado cromatográfico

b. 3 mL de agua grado cromatográfico

c. Fase móvil, mezcla de metanol: agua

d. Simultáneo al acondicionamiento (o reacondicionamiento) de la columna analítica

## 4.2 SEPARACIÓN ANALÍTICA

Con el fin de trabajar con mezclas de los estándares de pesticidas para la determinación más rápida de los R% y los Vf en el sistema de preconcentración en línea, se realizó una separación analítica por cada familia de plaguicidas en la columna analítica C18 y una fase móvil constituida por una mezcla de metanol:agua basándose en métodos ya reportados. La detección UV se realizó por espectrofotometría de absorción en la longitud de onda óptima para cada familia, determinada mediante el registro del espectro UV de cada compuesto.

A continuación se describen las condiciones de separación y detección para cada una de las familias de los pesticidas:

- Familia de fenilureas (3 compuestos) (Konda et al., 1999)

Elución isocrática con una fase móvil de 60:40 metanol:agua (V/V). Tiempo de análisis de 10 minutos. Flujo 1 mL/min. Detección UV a 244 nm.

- Familia de triazinas (12 compuestos) (Alvarado, 2003)

Fase móvil mezcla de metanol:solución acuosa de acetato de amonio 0.01 M (pH = 7). Elución por gradiente lineal: 0 minutos composición 25:75 hasta composición 90:10 en 35 minutos. Tiempo total de análisis de 35 min. Flujo 1 mL/min. Detección UV a 220 nm y 244 nm.

- Familia de carbamatos (10 compuestos) (Bernal, 2000)

Fase móvil mezcla de metanol:agua. Elución por gradiente lineal: 0 minutos composición 30:70 hasta composición 90:10 en 20 minutos. Tiempo total de análisis de 25 min. Flujo 1 mL/min. Detección UV a 220 nm y 235 nm.

## 4.3 EVALUACIÓN DE LA REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DEL SISTEMA CROMATOGRÁFICO

Se estudió la repetibilidad de las inyecciones en el cromatógrafo mediante el cálculo del coeficiente de variación de las áreas y los tiempos de retención de 5 inyecciones de soluciones estándar de las mezclas de pesticidas a una concentración de 20 mg/L.

Se evaluó la reproducibilidad mediante el cálculo de los coeficientes de variación de áreas y tiempos de retención de cada compuesto con soluciones estándar de mezclas de pesticidas a una concentración de 20 mg/L recolectando datos a lo largo de diferentes días. Se acumularon un total de 127 inyecciones de mezcla de triazinas, 60 inyecciones de mezcla de fenilureas y 135 inyecciones de mezclas de carbamatos.



#### 4.4 ESTIMACIÓN DEL FACTOR DE RETENCIÓN EN AGUA PURA ( $k'w$ ) PARA EL CÁLCULO DE LOS VOLÚMENES DE RETENCIÓN ( $V_r$ ) Y VOLÚMENES DE FUGA TEÓRICOS ( $V_{fT}$ ) EN PRECOLUMNAS

##### 4.4.1 ESTIMACIÓN DEL $k'w$

Se prepararon soluciones a una concentración de 20 mg/L a partir de las soluciones patrón de 100 mg/L de los plaguicidas individuales. Estas se inyectaron en el cromatógrafo con fases móviles binarias metanol:agua de proporción variable (20 – 80 % de metanol) tanto en la columna analítica C18 como en la PLRP-S. Se midió el tiempo de retención ( $t_r$ ) y se calculó el factor de retención ( $k'$ ) de cada compuesto mediante la relación  $k' = (t_r - t_0)/t_0$  para cada una de las diferentes composiciones de la fase móvil. El tiempo muerto ( $t_0$ ) se midió por la inyección de una solución de nitrato de sodio 2 M.

Con los datos experimentales obtenidos se procedió a trazar las curvas  $\log k' = f(\% \text{ metanol})$  y se hizo la extrapolación tanto lineal ( $y = mx + b$ ) como cuadrática ( $y = ax^2 + bx + c$ ) a 0 % de metanol para estimar el factor de retención en agua pura  $k'w$ , ya que fueron las funciones que mejor se ajustaron a la tendencia de los datos.

Los valores de  $k'w$  obtenidos fueron correlacionados con los valores promedio de  $\log P$  correspondientes a cada plaguicida. En el presente estudio se consideró el promedio de todos los valores encontrados en la literatura para cada plaguicida, incluyendo aquellos reportados por programas de cómputo que hacen el cálculo con base en la estructura.

##### 4.4.2 CÁLCULO DE $V_r$

Con los valores estimados de  $k'w$  se calculó el volumen de retención en precolumnas empacadas con fase C18 y con fase PLRP-S para cada compuesto con la relación  $V_r = V_0(1+k'w)$ , donde  $V_0$  es el volumen muerto obtenido mediante la relación  $V_0 = \epsilon V_c$  siendo  $\epsilon$  la porosidad del adsorbente y  $V_c$  el volumen geométrico de la precolumna.

Con las dimensiones de las precolumna 20 x 2 mm d.i. ( $V_c = 0.0628$  mL) tanto para C18 como PLRP-S y considerando la porosidad de 0.7 y 0.75 respectivamente, que son los promedios de los valores reportados en la literatura para fases del mismo tipo (Hennion y Scribe, 1993), el  $V_0$  calculado para la precolumna C18 fue de 0.044 mL y para la PLRP-S fue de 0.047 mL.

#### 4.4.3 CÁLCULO DE $V_{fT}$ . SIMULACIÓN DE CURVAS

Los valores de fuga teóricos ( $V_{fT}$ ) fueron calculados por un programa de Excel llamado Programa de Simulación del Frente de Elución (PSFE, desarrollado por M.P. García Camacho y F. Rojo Callejas), que simuló las curvas teóricas del frente de elución en agua pura en función de los parámetros de la CL, considerando los conceptos mencionados en el apartado de Similitud entre la EFS y la CLAR del capítulo 3, y de acuerdo con la premisa básica de que los picos cromatográficos representan una distribución normal.

Los parámetros iniciales que se introducen en la hoja de cálculo son el factor de retención en agua pura ( $k'w$ ), el número de platos teóricos de la precolumna de extracción y el volumen muerto de la precolumna. Con estos parámetros se calcula la desviación estándar dependiente de la dispersión axial a través de la cama de partículas en la precolumna ( $\sigma_v$ ), así como el volumen de retención ( $V_r$ ), el volumen de fuga teórico ( $V_{fT}$ ) y el volumen máximo de preconcentración ( $V_m$ ) de cada analito en la fase sólida de elección.

Con los datos anteriores se calculó la función de distribución normal estándar del pico cromatográfico teórico y su integral correspondiente a la curva del frente de elución. Con esta última fue posible calcular los R% a partir de datos de integración de la función a diferentes volúmenes. Para mayor detalle sobre las bases teóricas del programa de cómputo referirse a Hennion et al. (1998) y Hennion (1999).

Uno de los parámetros iniciales a considerar en la hoja de cálculo es el valor de N de la precolumna. Se seleccionó un valor de  $N = 1000$  para C18 y para PLRP-S, valor que más representa la eficiencia de las precolumnas de acuerdo con la bibliografía existente (Subra et al., 1988; Poole et al., 2000).

### 4.5 DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN (R%) Y VOLUMEN DE FUGA EXPERIMENTAL ( $V_{fE}$ )

#### 4.5.1 AGUA PURA

La determinación del volumen de fuga experimental ( $V_{fE}$ ) se basó en el estudio de los rendimientos de extracción en función de diferentes volúmenes (1 a 500 mL) de agua pura (así se le llama aquí al agua desmineralizada y purificada en sistema de filtración Nanopure) adicionados con una cantidad constante de plaguicida ( $0.4 \mu\text{g}$  de c/u) y aplicados a través de la precolumna de extracción de acuerdo con el método descrito en la sección 3.2.3.1.1.2. El pH de la muestra aplicada fue de 6 a 7. De

esta forma, cada volumen presentó diferentes concentraciones de plaguicida y no contuvo más de 0.5 % de metanol, ya que se utilizaron soluciones estándar concentradas para la fortificación. Después de la preconcentración de la muestra, se efectuó la elución en línea de la cantidad total de pesticidas retenidos en la precolumna y se registraron los picos cromatográficos correspondientes. Los ensayos se realizaron por triplicado para los pesticidas que presentaron  $V_{fE} < 100$  mL.

Los rendimientos de extracción de cada plaguicida se calcularon comparando el área de los picos antes mencionados con el área promedio de los picos correspondientes obtenidos de preconcentraciones repetidas de un volumen reducido de agua (2-10 mL) adicionada con la misma cantidad (0.4  $\mu$ g) de cada plaguicida, tal que  $R = (\text{área del pico cromatográfico del compuesto con la preconcentración de un volumen dado}) / (\text{área del pico del mismo compuesto con la preconcentración de un volumen reducido})$ . Se calculó el rendimiento porcentual mediante el cálculo siguiente:  $R\% = R \cdot 100$ .

Con los datos obtenidos se procedió a trazar las curvas  $R\% = f(\text{volumen aplicado})$  de los pesticidas con  $V_r$  calculado menor que 500 mL y se determinaron los  $V_{fE}$  de los compuestos. El  $V_f$  se consideró como el volumen que correspondió a la disminución del  $R\%$  en 5 unidades.

#### 4.5.2 MUESTRAS SINTÉTICAS FORTIFICADAS CON ÁCIDOS HÚMICOS

##### 4.5.2.1 Preparación de muestras sintéticas

Se preparó una solución patrón de ácidos húmicos en solución acuosa pesando 0.1 g de la sal sódica de AH y disolviéndola en 200 mL de NaOH 0.1 %. Esta solución se agitó durante 12 horas en frasco ámbar y se centrifugó a 25 °C y 3000 r.p.m. durante una hora (Centrifuga Eppendorf 5810R) y se almacenó a 4° C. A partir de esta solución se prepararon diluciones con una concentración nominal de 10 mg/L tomando una alícuota de volumen conocido, diluyendo 20 veces, ajustando a un pH de 6 a 7 con ácido sulfúrico 0.1 N, filtrando y llevando al volumen necesario con agua pura (Johnson et al., 1991; Di Corcia et al., 1999; Lin et al., 2001). A partir de esta última dilución se tomaron los volúmenes necesarios para adicionar el agua pura con diferentes niveles de ácidos húmicos a ensayar en una jornada del día. Se verificó el pH de la muestra final a aplicar, constatando que se mantenía en 7.

La concentración de materia orgánica se determinó por medio de la prueba de carbono orgánico total (COT), tal como se describe en el anexo 2. Se realizó este estudio en 2 muestras de concentraciones nominales de AH de 2.0 y 5.0 mg/L, a partir de los cuales se corrigieron los niveles ensayados restantes, mediante el ajuste del porcentaje diferencial promedio.

#### 4.5.2.2 Determinación de R% y $V_{fE}$

Las curvas para el agua pura anteriormente descritas (sección 4.5.1) se obtuvieron también para las muestras de agua sintéticas (adicionadas con ácidos húmicos) con 4 niveles de concentración nominal (0.5, 2.0, 5.0 y 7.5 mg/L) y filtrada a través de membrana de 0.45  $\mu\text{m}$  de celulosa. Éstos niveles se seleccionaron porque fueron parecidos a los que se presentan en matrices acuosas naturales de acuerdo con la bibliografía (ver sección 3.3.1.1). Una vez adicionados los plaguicidas a las muestras de agua, éstas se almacenaron a 4 °C en frascos de vidrio por 24 horas. Los plaguicidas utilizados en estos ensayos fueron aquellos que presentaron un volumen de fuga en agua pura menor que 500 mL.

#### 4.5.3 MUESTRAS ACUOSAS NATURALES

Se estudiaron muestras acuosas naturales colectadas, con el fin de obtener los datos de rendimiento de extracción y volumen de fuga de la misma forma como se describió para el agua pura. Se corroboró que las muestras colectadas no presentaran pesticidas que generaran errores en las áreas o tiempos de retención, mediante su preconcentración sin fortificar a manera de blancos y realizando la separación analítica. Las muestras se almacenaron en frascos de vidrio protegidos de la luz y se identifican como se describe en el cuadro 4.2.

El contenido de materia orgánica total se determinó de la misma manera que para las muestras de agua adicionada con ácidos húmicos. Los resultados obtenidos con las muestras naturales fueron comparados con los obtenidos de las muestras sintéticas de concentración de ácidos húmicos similar.

Previamente a la adición de plaguicidas, las muestras se filtraron a través de papel filtro Whatman No. 40 y posteriormente con membrana de 0.45  $\mu\text{m}$  de celulosa. Una vez adicionados los plaguicidas, se almacenaron las muestras de agua a 4 °C en frascos de vidrio por 24 horas.

La elección de los compuestos para fortificar las muestras naturales se hizo considerando a los que presentaron una notoria tendencia a disminuir su rendimiento de extracción en presencia de materia orgánica sobre la fase PLRP-S, ya que en esta fase se observaron las disminuciones en los R% más marcadas. También se consideró su naturaleza polar para facilitar la obtención de puntos de extracción con volúmenes fijos pequeños e incluso, la obtención de algunas curvas completas de  $R\% = f(\text{Volumen aplicado})$  para los compuestos de mayor polaridad.

Así, se realizó la preconcentración sobre PLRP-S de tres carbamatos (oxamilo, metomilo, 3-OH carbofurano) y dos triazinas (DIA y DEA) en las diez muestras de agua natural. Los pesticidas a los que se les determinó la curva de  $R\% = f(\text{volumen aplicado})$  fueron: oxamilo, metomilo y DIA para las muestras

B, C, D y E. Metomilo se descompone en presencia de cloro, por lo que no se aplicó al agua de grifo (D). La DIA tampoco se aplicó en la muestra E. A estos mismos compuestos también se les determinó el recobro a volumen fijo, siendo éste de 100 mL para oxamilo y metomilo y de 50 mL para DIA con las muestras A,E,F,G,H,I y J. Para este último compuesto también se ensayó un volumen de 60 mL con las muestras E y G. De igual manera, se ensayó un volumen de 100 mL para 3-OH carbofurano con las muestras A,E,F,G,H,I y J, así como un volumen de 200 mL con la muestra E. Para DEA, se ensayó un volumen de 50 mL con las muestras E,F,G,H,I y J, y un volumen de 60 mL con las muestras E y G. Estas relaciones se explican en el cuadro 4.3 para mayor claridad.

**Cuadro 4.2.** Descripción y origen de las muestras acuosas naturales

Letra de identificación	Tipo de muestra	Origen
A	Agua de Manantial	Zona de manantiales Danxho, municipio de Chapa de Mota, Estado de México.
B	Agua Subterránea	Pozo 342 del municipio de San Cristóbal. Ecatepec, Estado de México
C	Agua Mineral	Comercial, proveniente de Peñafiel, Puebla.
D	Agua de Grifo	Agua corriente, Ciudad Universitaria, Méx. D.F.
E	Agua de Río	Río San Rafael, municipio de Chapa de Mota, Estado de México.
F	Agua de Río	Río Chuinalapan, Papantla, Veracruz.
G	Agua de Presa	Presa San Martín, municipio de Villa del Carbón, Estado de México
H	Agua de Lago	Lago de Catemaco, Veracruz, alrededor de la Isla de los Changos
I	Agua de Lago	Cascada El salto, Eyipantla, San Andrés Tuxtla, Veracruz
J	Agua de Lago	Lago de Catemaco, Veracruz, playa del hotel "La Finca"

**Cuadro 4.3.** Relación de los compuestos que fueron preconcentrados sobre PLRP-S ya sea a volumen fijo y/o con la curva de rendimiento completa.

(1 = Deisopropilatrizona, 2 = Desetilatrizona, 3 = Oxamilo, 4 = Metomilo, 5 = 3-Hidroxicarbofurano)

MUESTRA	A VOLUMEN FIJO (mL)				CURVA COMPLETA
	50	60	100	200	
A	1		3, 4, 5		
B					1, 3, 4
C					1, 3, 4
D					1, 3
E	1, 2	1, 2	3, 4, 5	3	3, 4
F	1, 2		3, 4, 5		
G	1, 2	1, 2	3, 4, 5		
H	1, 2		3, 4, 5		
I	1, 2		3, 4, 5		
J	1, 2		3, 4, 5		

## CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 5.1 SEPARACIÓN ANALÍTICA Y EVALUACIÓN DE LA REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DEL SISTEMA CROMATOGRÁFICO

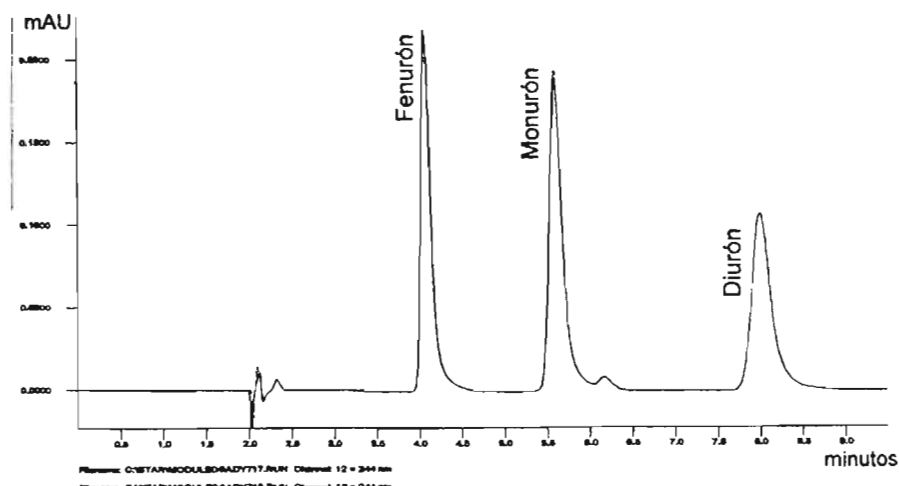
Con las condiciones mencionadas en el capítulo anterior se logró la separación de los compuestos de cada familia. Los estudios de repetibilidad arrojaron datos de coeficientes de variación (CV) máximos de 0.35, 2.1 y 1.79 para los tiempos de retención y de 1.89, 3.26 y 1.93 para las áreas de fenilureas, carbamatos y triazinas respectivamente. Los estudios de reproducibilidad arrojaron los datos que se muestran en el cuadro 5.1, donde se reportan los CV máximos y mínimos obtenidos a lo largo del estudio. Como puede verse, los CV fueron menores a 6 %, lo cual indica que el sistema cromatográfico tuvo reproducibilidad aceptable a lo largo del estudio.

**Cuadro 5.1** Coeficientes de Variación (%) mínimos y máximos obtenidos a lo largo del estudio para cada familia

Familia	Áreas		Tiempos de retención	
	CV mín.	CV máx.	CV mín.	CV máx.
Fenilureas	0.39	2.39	0.09	1.94
Carbamatos	0.70	5.60	0.19	5.72
Triazinas	0.93	3.55	0.32	2.36

$$CV = (DE/\bar{x}) * 100; DE = \text{desviación estándar}, \bar{x} = \text{promedio}$$

En las figuras 5.1 a 5.3 se presentan los cromatogramas de las separaciones analíticas efectuadas para las diferentes familias.



**Figura 5.1** Cromatograma obtenido de la inyección directa de 20  $\mu$ L de la mezcla de fenilureas (20 mg/L). Columna Varian C18, 5  $\mu$ m d.p., 150 x 0.45 mm d.i.; fase móvil MeOH:agua 60:40; elución isocrática; flujo 1 mL/min; detección UV a 244 nm.

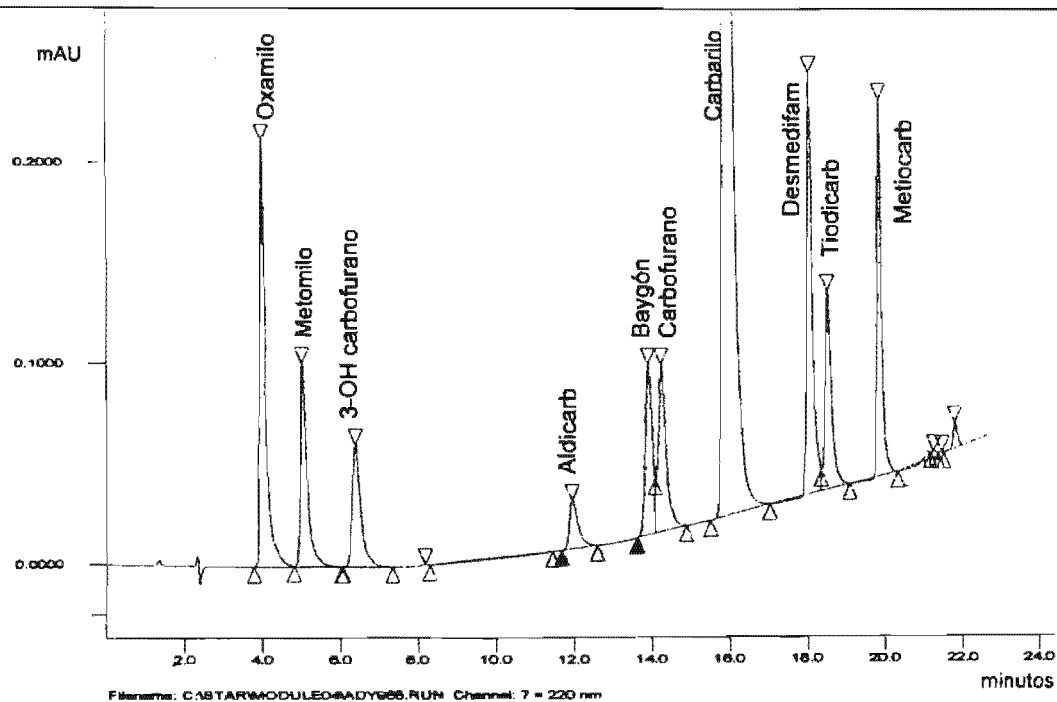


Figura 5.2 Cromatograma obtenido de la inyección directa de 20  $\mu$ L de la mezcla de carbamatos (20 mg/L). Columna Varian C18, 5  $\mu$ m d.p., 150 x 0.45 mm d.i.; fase móvil MeOH:agua elución por gradiente: 30:70 a 90:10 tiempo 0-25 min; flujo 1 mL/min; detección UV a 220 nm.

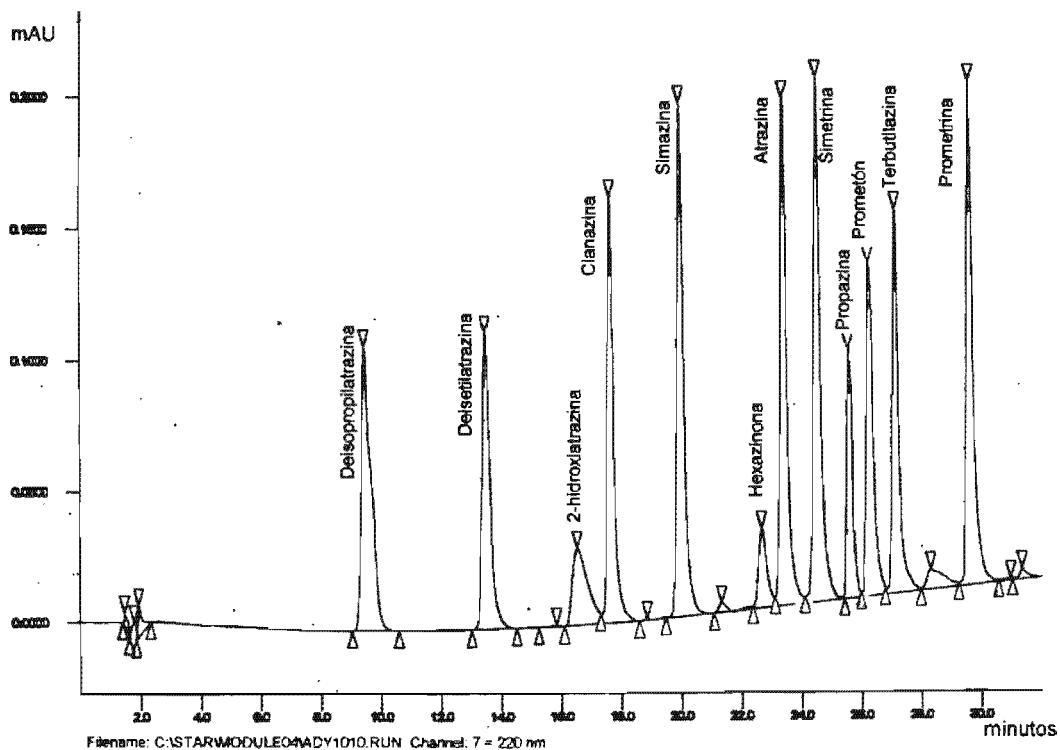


Figura 5.3 Cromatograma obtenido de la inyección directa de 20  $\mu$ L de la mezcla de triazinas (20 mg/L). Columna Varian C18, 5  $\mu$ m d.p., 150 x 0.45 mm d.i.; fase móvil MeOH:sol. Acuosa de  $\text{CH}_3\text{COONH}_3$  elución por gradiente: 25:75 a 70:30 tiempo 0-35 min; flujo 1 mL/min; detección UV a 220 nm.



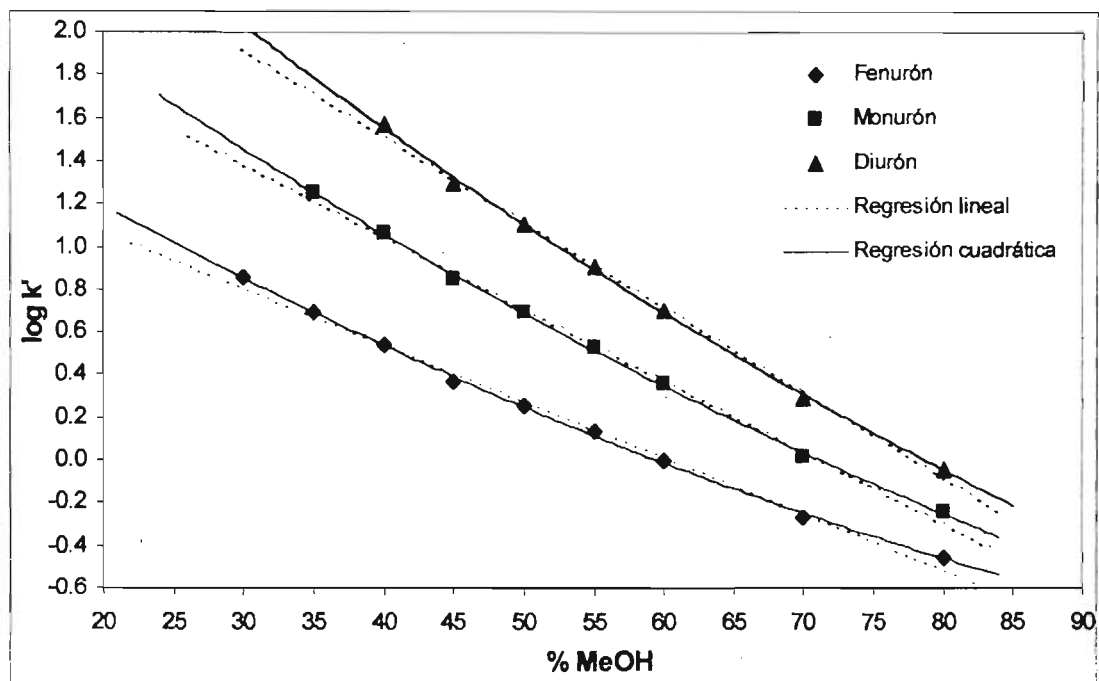
## 5.2 ESTIMACIÓN DEL FACTOR DE RETENCIÓN EN AGUA PURA ( $k'_w$ ) PARA EL CÁLCULO DE LOS VOLÚMENES DE RETENCIÓN ( $V_r$ ) Y LOS VOLÚMENES DE FUGA TEÓRICOS ( $V_{fT}$ ) EN PRECOLUMNAS

### 5.2.1 ESTIMACIÓN DEL $k'_w$

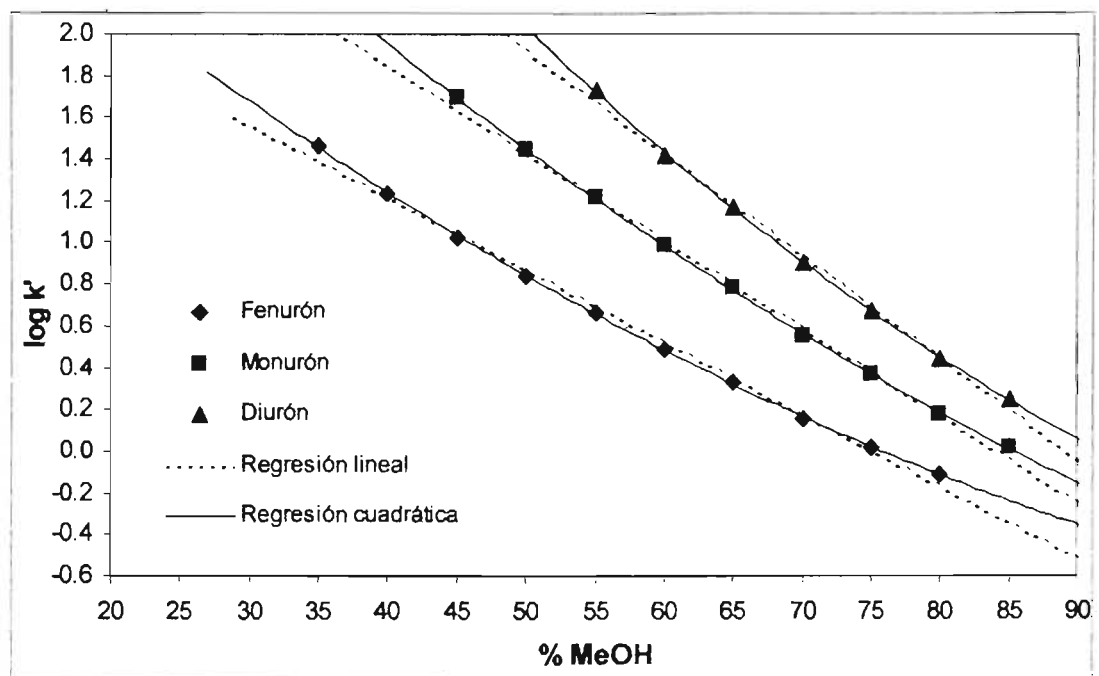
Las curvas  $\log k' = f$  (% metanol en la fase móvil) correspondientes a la familia de fenilureas sobre C18 y sobre PLRP-S, se muestran en las figuras 5.4 y 5.5 respectivamente. Las curvas para carbamatos sobre C18 y sobre PLRP-S se muestran en las figuras 5.6 a 5.9 y las correspondientes a triazinas igualmente sobre C18 y sobre PLRP-S en las figuras 5.10 a 5.13. Los valores extrapolados de los  $k'_w$  por la regresión lineal y la regresión cuadrática con las dos fases estacionarias se presentan en los anexos 3 y 4. En éstos se puede observar que los valores de  $k'_w$  son menores por extrapolación lineal en ambas fases. En el anexo 5 se presentan los diferentes coeficientes de correlación ( $R^2$ ). Se observa que para ambas fases estacionarias, se obtuvieron muy buenas correlaciones, tanto lineales (función  $y = ax + b$ ) como cuadráticas (función  $y = ax^2 + bx + c$ ). Cuando se compararon los valores de  $R^2$  de las curvas  $\log k'_w = f$  (% MeOH en fase móvil) para cada plaguicida, se observó que la mejor regresión fue la cuadrática, lo cual fue de esperarse dada la forma de las curvas. Esto coincide con lo que reportan Schoenmakers et al. (1983), quienes encontraron que la relación lineal entre el contenido de metanol en la fase móvil y el  $\log k'_w$  de 10 solutos es en general válida cuando se ensayan fases móviles con alto contenido de disolvente orgánico ( $\geq 60$  %). Sin embargo, cuando se aplican fases móviles con mayor contenido de agua es más satisfactoria una ecuación cuadrática dado que las líneas de tendencia se encorvan y/o presentan desviaciones a la linealidad, lo que lleva a errores en la estimación lineal del  $k'_w$ . Estos autores también hacen una corrección matemática a la ecuación de la regresión cuadrática al añadir un factor proporcional.

Jandera y Kubat (1990) por su parte, al construir las curvas de  $\log k'_w$  en función del contenido de disolvente orgánico en la fase orgánica en un sistema cromatográfico de fase inversa con 4 fenilureas y 5 triazinas, reportaron formas de las curvas muy semejantes a las que se encontraron en el presente estudio. Los autores también compararon los ajustes de la ecuación lineal y la cuadrática hallando que ésta última se ajustó mejor, sin embargo, al contar con puntos próximos a 0 % de metanol y hacer uso de una regresión cuadrática, encontraron desviaciones (error relativo de alrededor de 20 %) con respecto al valor de  $k'_w$  experimental determinado por los métodos de adsorción, aunque con buena correlación. Hennion et al. (1998) compararon las formas de las curvas  $\log k'_w = f$  (% metanol), así como las ecuaciones lineales y cuadráticas para 9 carbamatos, 7 fenilureas y 12 triazinas, encontrando un mejor ajuste de la ecuación cuadrática, principalmente para los compuestos más polares. Pichon et al. (1995) también reportaron formas de curvas para atrazina, simazina y 9 productos de degradación muy parecidas a las obtenidas en este estudio.





**Figura 5.4.** Curvas  $\log k' = f(\% \text{MeOH})$  en la fase móvil (mezcla de metanol:agua) para FENILUREAS. Columna C18 150 x 4.6 mm d.i., flujo: 1 mL/min, volumen de inyección: 20  $\mu\text{L}$ , de una solución de 20 mg/L de plaguicidas, detección UV a 440 nm.



**Figura 5.5.** Curvas  $\log k' = f(\% \text{MeOH})$  en la fase móvil (mezcla de metanol:agua) para FENILUREAS. Columna PLRP-S 50 x 4.6 mm d.i., flujo: 1 mL/min, volumen de inyección: 20  $\mu\text{L}$ , de una solución de 20 mg/L de plaguicidas, detección UV a 440 nm.

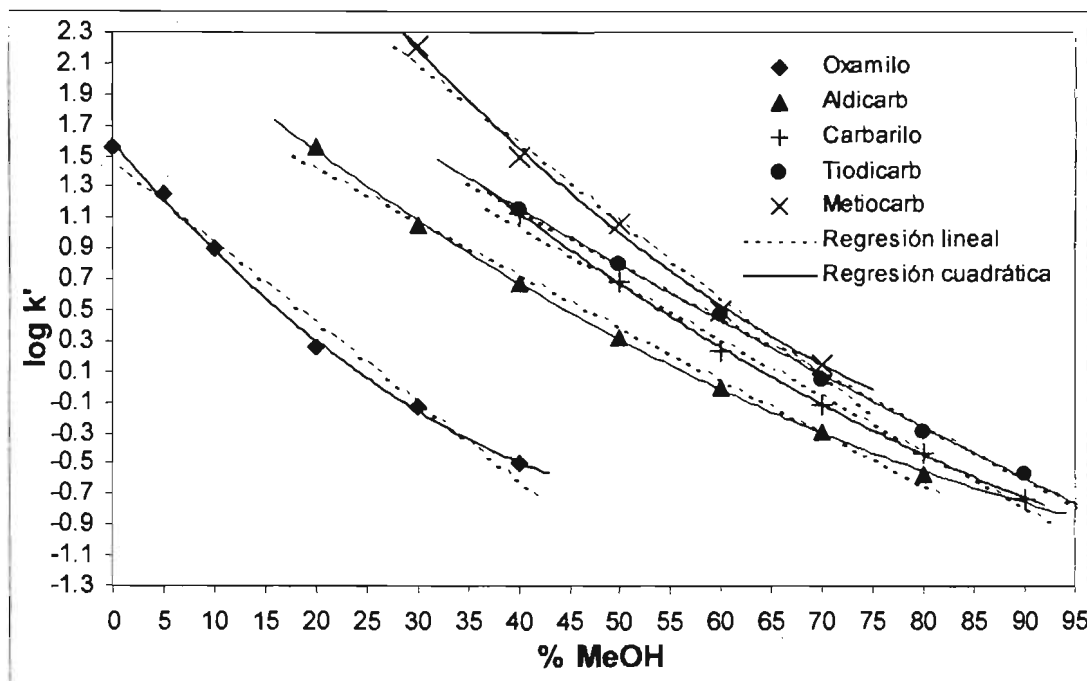


Figura 5.6. Curvas  $\log k' = f(\% \text{ MeOH})$  en la fase móvil (mezcla de metanol:agua) para 5 CARBAMATOS. Columna C18 150 x 4.6 mm d.i., flujo: 1 mL/min, volumen de inyección: 20  $\mu\text{L}$ , de una solución de 20 mg/L de plaguicidas, detección UV a 220 nm.

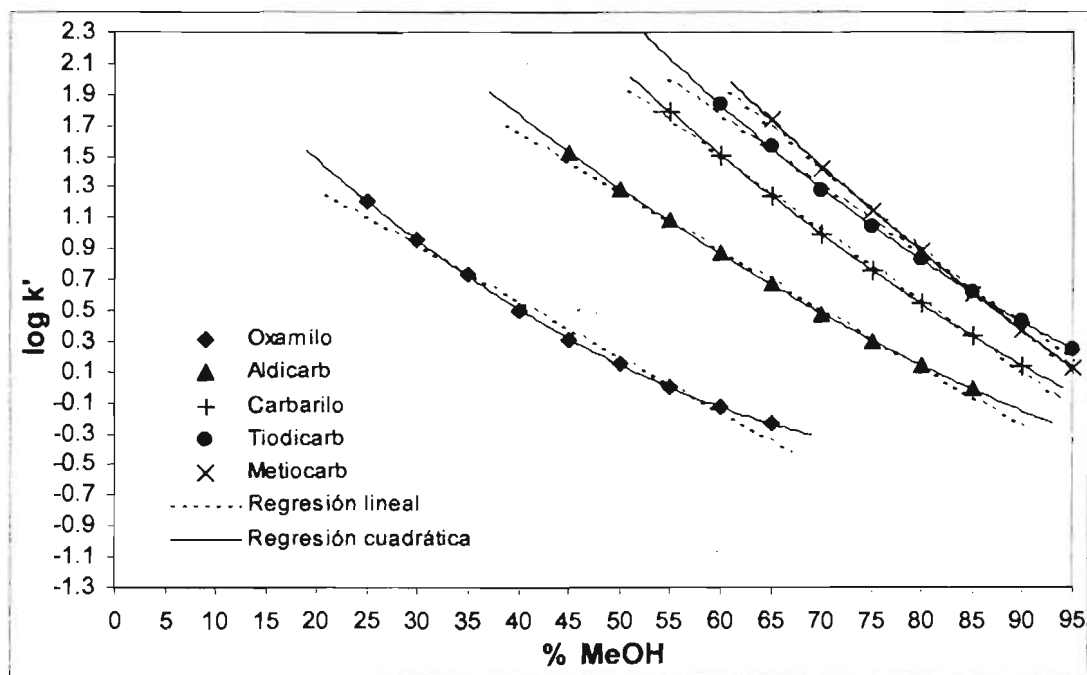


Figura 5.7. Curvas  $\log k' = f(\% \text{ MeOH})$  en la fase móvil (mezcla de metanol:agua) para 5 CARBAMATOS. Columna PLRP-S 50 x 4.6 mm d.i., flujo: 1 mL/min, volumen de inyección: 20  $\mu\text{L}$ , de una solución de 20 mg/L de plaguicidas, detección UV a 220 nm.

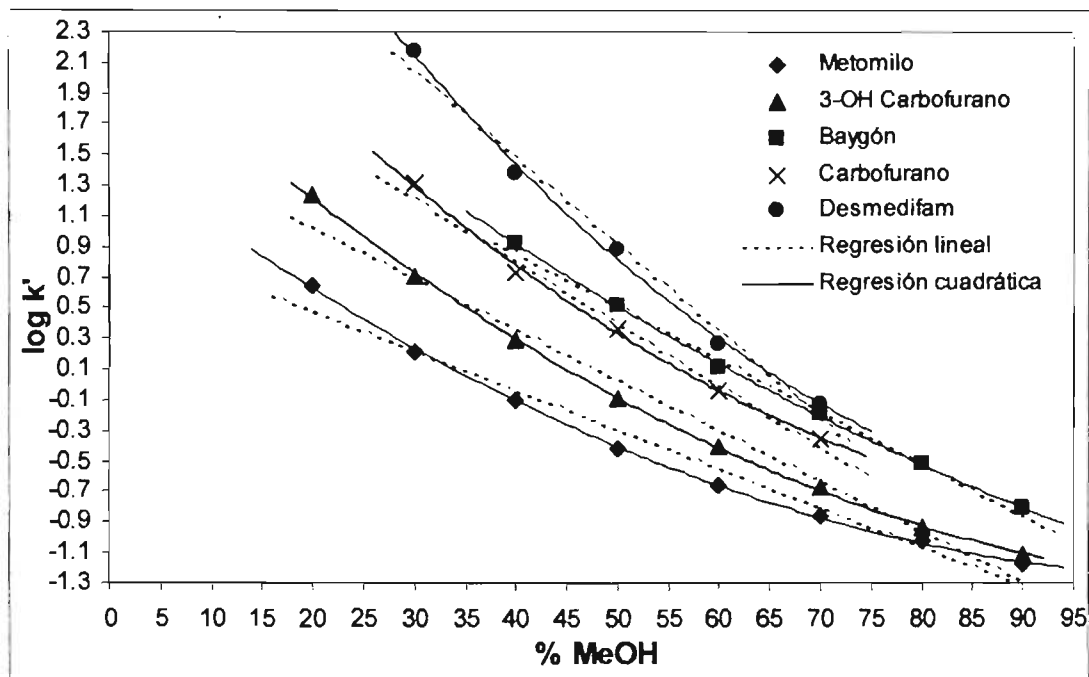


Figura 5.8. Curvas  $\log k'w = f(\% \text{ MeOH})$  en la fase móvil (mezcla de metanol:agua) para 5 CARBAMATOS. Columna C18 150 x 4.6 mm d.i., flujo: 1 mL/min, volumen de inyección: 20  $\mu\text{L}$ , de una solución de 20 mg/L de plaguicidas, detección UV a 220 nm.

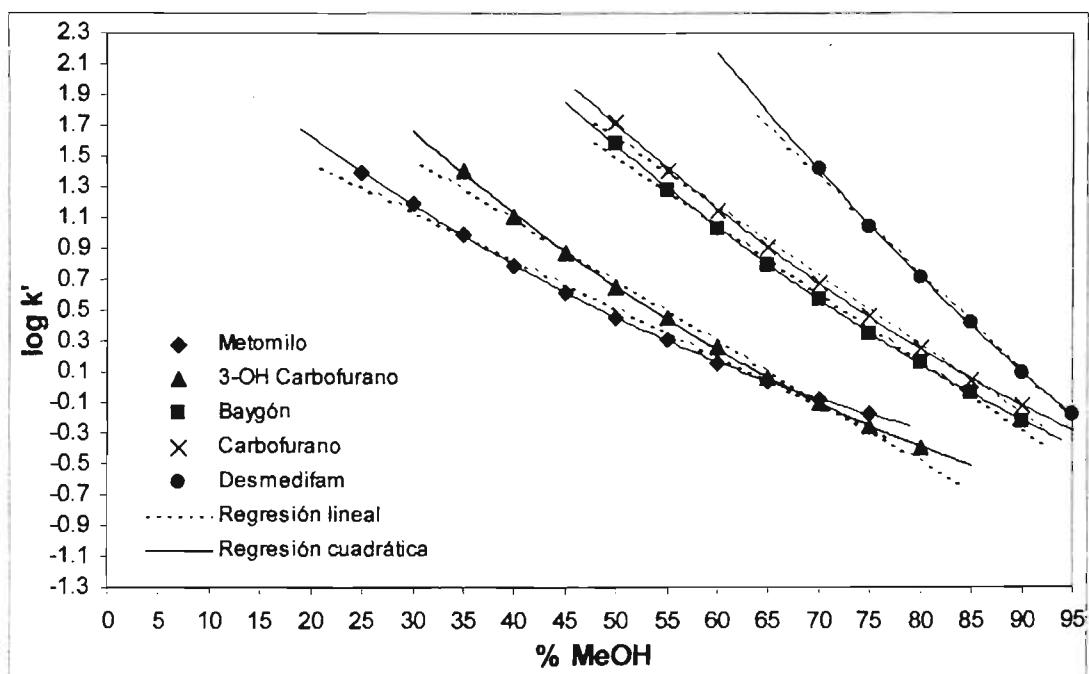
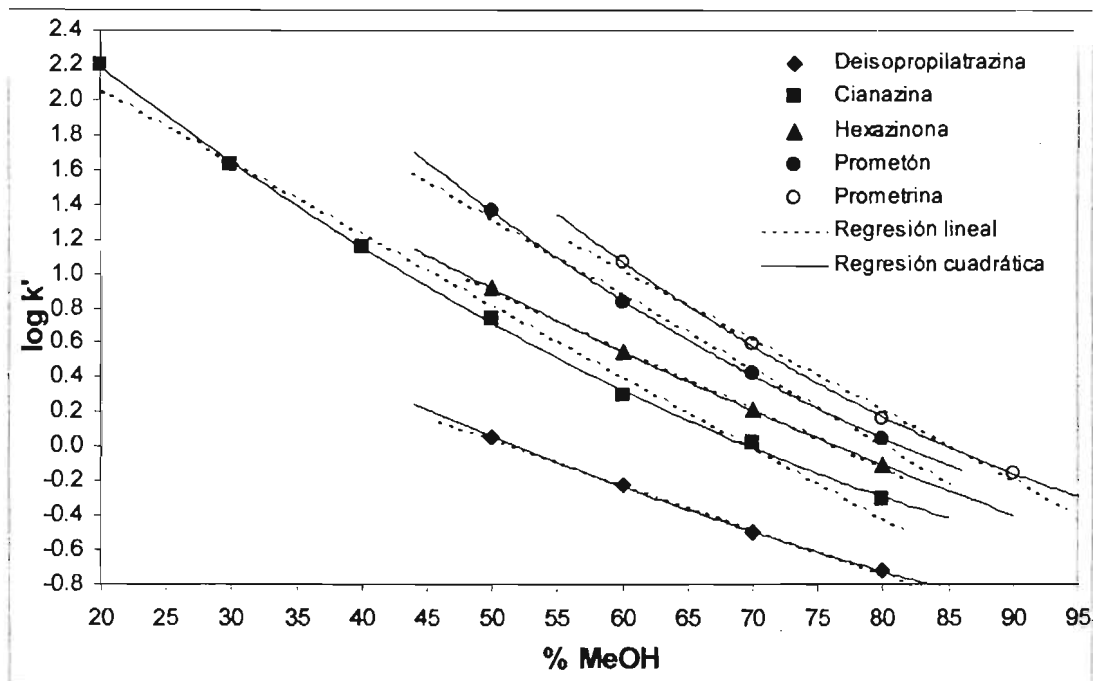
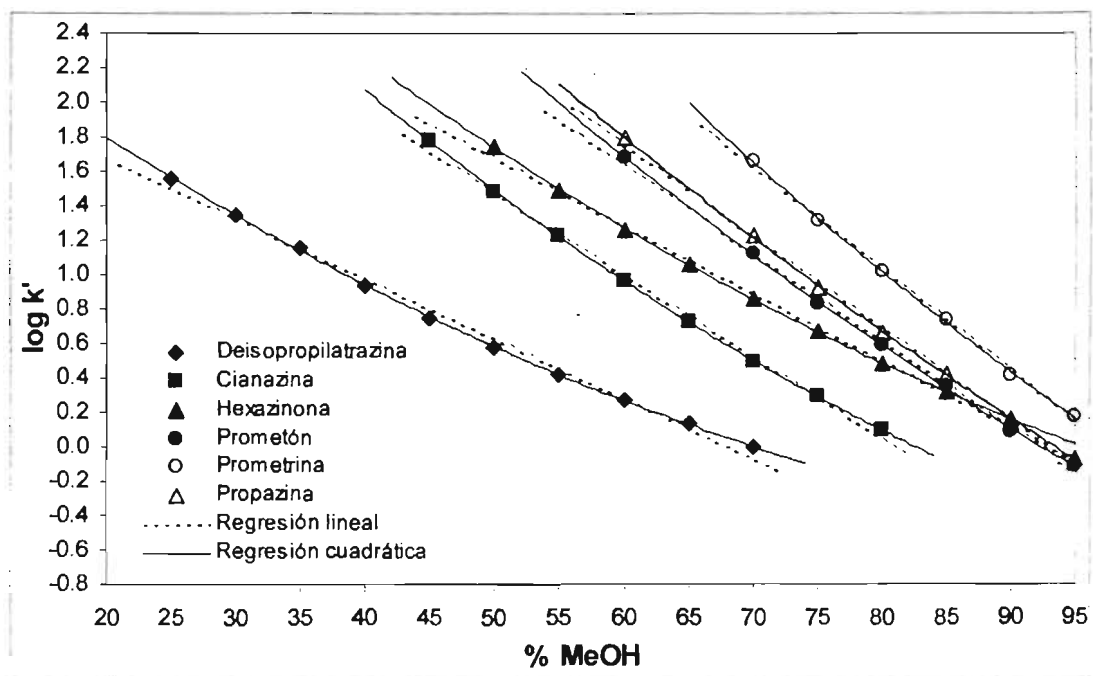


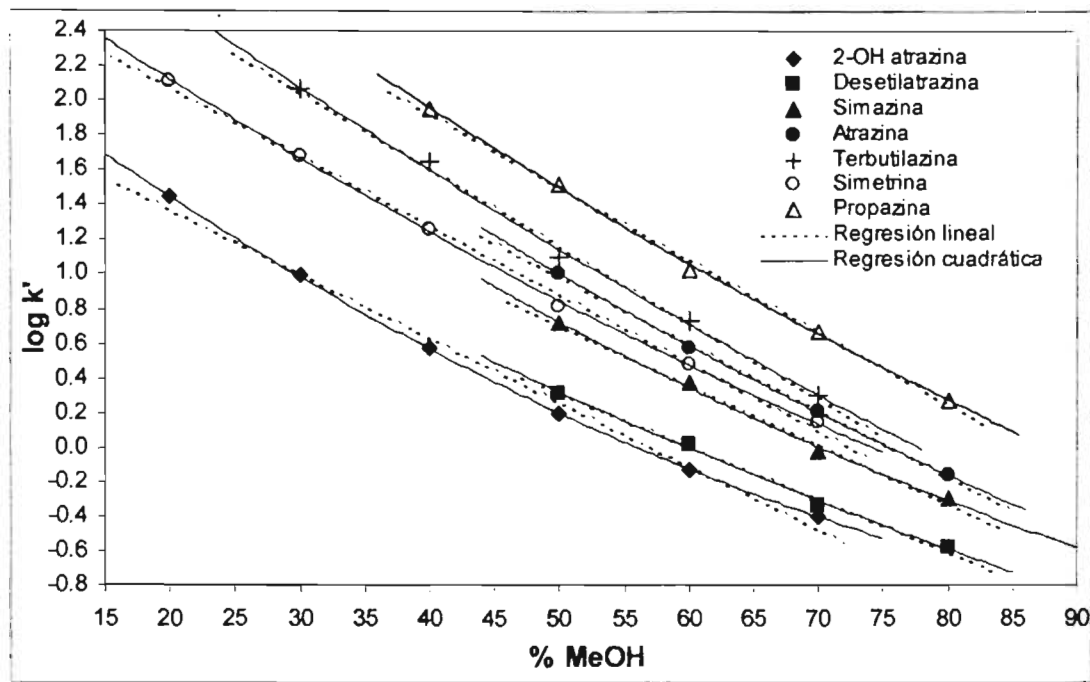
Figura 5.9. Curvas  $\log k'w = f(\% \text{ MeOH})$  en la fase móvil (mezcla de metanol:agua) para 5 CARBAMATOS. Columna PLRP-S 50 x 4.6 mm d.i., flujo: 1 mL/min, volumen de inyección: 20  $\mu\text{L}$ , de una solución de 20 mg/L de plaguicidas, detección UV a 220 nm.



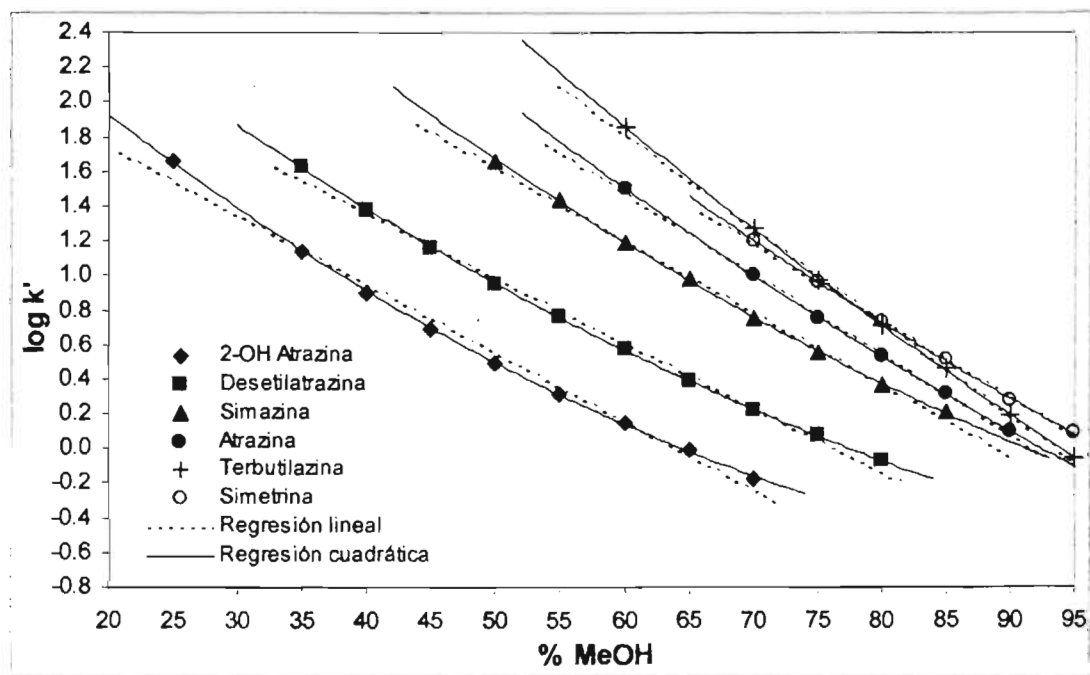
**Figura 5.10.** Curvas  $\log k' = f(\% \text{ MeOH})$  en la fase móvil (mezcla de metanol:agua) para 5 TRIAZINAS. Columna C18 150 x 4.6 mm d.i., flujo: 1 mL/min, volumen de inyección: 20  $\mu\text{L}$ , de una solución de 20 mg/L de plaguicidas, detección UV a 220.



**Figura 5.11.** Curvas  $\log k' = f(\% \text{ MeOH})$  en la fase móvil (mezcla de metanol:agua) para 6 TRIAZINAS. Columna PLRP-S 50 x 4.6 mm d.i., flujo: 1 mL/min, volumen de inyección: 20  $\mu\text{L}$ , de una solución de 20 mg/L de plaguicidas, detección UV a 220.



**Figura 5.12.** Curvas  $\log k'w = f (\% \text{ MeOH} )$  en la fase móvil (mezcla de metanol:agua) para 7 TRIAZINAS. Columna C18 150 x 4.6 mm d.i., flujo: 1 mL/min, volumen de inyección: 20  $\mu\text{L}$ , de una solución de 20 mg/L de plaguicidas, detección UV a 220.



**Figura 5.13.** Curvas  $\log k'w = f (\% \text{ MeOH} )$  en la fase móvil (mezcla de metanol:agua) para 6 TRIAZINAS. Columna PLRP-S 50 x 4.6 mm d.i., flujo: 1 mL/min, volumen de inyección: 20  $\mu\text{L}$ , de una solución de 20 mg/L de plaguicidas, detección UV a 220.

Aunque en general se considera que la ecuación lineal, con sus errores, es aceptable para hacer la extrapolación de  $k'w$  y así utilizar su valor para aproximar el  $V_r$  (Hennion y Pichon, 1994; Hennion, 1999), en el presente estudio se consideró la ecuación cuadrática ya que fue la que mejor se ajustó (ver gráficas 5.4 a 5.13). Por otra parte, generar y manejar la ecuación cuadrática no presentó dificultad ante las tecnologías informáticas actuales. La única dificultad práctica estribó en que fue necesario ensayar fases móviles con altos contenidos de agua para tener una ecuación confiable. Generalmente, se recomienda en la bibliografía (Hennion y Scribe, 1993; Hennion et al., 1998) hacer solamente 3 a 4 puntos de las curvas con fases móviles de diferente contenido de disolvente orgánico, para tener una rápida aproximación del  $k'w$  del analito en cuestión. Dados los resultados de este trabajo, consideramos que el error disminuyó al ensayar adicionalmente algunos puntos de la curva (2 ó 3 puntos) con alto contenido de agua ( $\geq 70\%$ ) aunque fue mayor el tiempo invertido.

Por otra parte, ya que el factor de retención en agua pura  $k'w$  puede considerarse como un parámetro que indica la hidrofobicidad de los compuestos al igual que el coeficiente de reparto agua/octanol ( $P$ ), se efectuaron las correlaciones entre estos dos parámetros. En las figuras 5.14 y 5.15 se muestran las correlaciones obtenidas entre el promedio de  $\log P$  (cuyo valor para cada plaguicida se puede consultar en el anexo 6) y los valores de  $\log k'w$  obtenidos en este estudio con la fase C18 por correlación lineal y cuadrática respectivamente, así como las ecuaciones de regresión. Como puede observarse en estas gráficas, aún con la gran variabilidad de los valores de  $P$  encontrados en la literatura, se obtuvieron buenas correlaciones con pendientes cercanas a 1, ordenadas al origen cercanas a 0 y valores de  $R^2$  mayores que 0.85. Está claro que los valores de  $\log k'w$  extrapolados por correlación cuadrática son mayores con respecto a los de correlación lineal.

De las gráficas se comprende que la utilidad de esta relación lineal es en el sentido de que cuando no se cuenta con los valores de  $\log k'w$  de los analitos, éstos pueden aproximarse de los valores de  $\log P$  y viceversa. Finalmente, se puede mencionar que el valor de  $\log k'w$  es más fácil y más preciso de determinar experimentalmente que el valor de  $\log P$ , aunque es menos conocido.

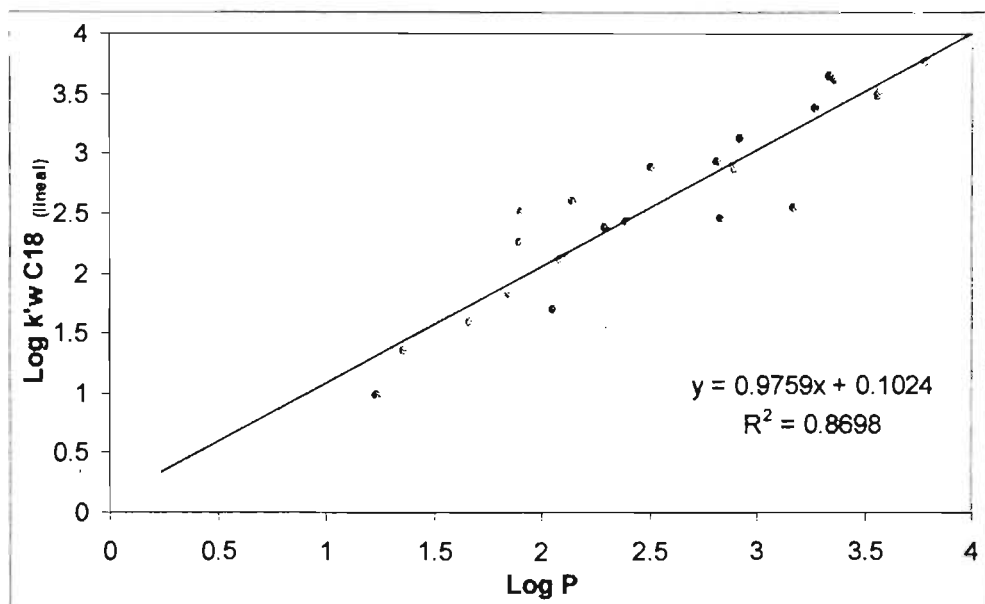


Figura 5.14. Correlación entre los valores promedios de  $\log P$  y el  $\log k'w$  encontrado experimentalmente por regresión lineal para cada compuesto estudiado con fase C18.

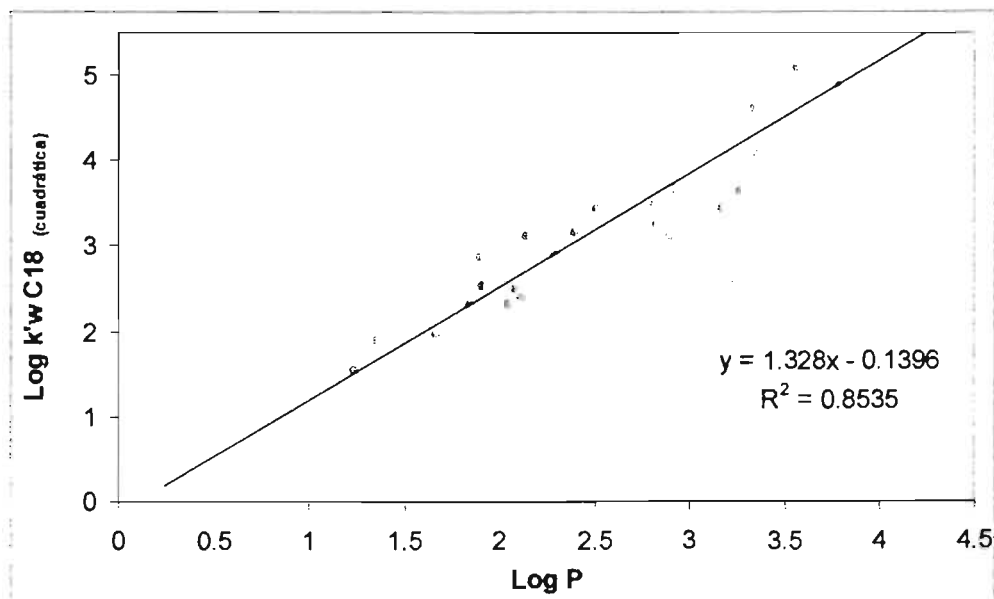


Figura 5.15. Correlación entre los valores promedios de  $\log P$  y el  $\log k'w$  encontrado experimentalmente por regresión cuadrática para cada compuesto estudiado con fase C18.

### 5.2.2 CÁLCULO DE $V_r$ y de $V_{f_T}$ . SIMULACIÓN DE CURVAS

Con los valores de  $k'w$  estimados mediante la regresión cuadrática, se procedió a calcular los valores de  $V_r$  (volumen de retención) para cada plaguicida en cada fase estacionaria (C18 y PLRP-S), así como los valores de volumen de fuga teórico ( $V_{f_T}$ ) calculados mediante el programa informático PSFE mencionado en la parte experimental. Estos datos se presentan en el cuadro 5.2.

Ante la dificultad de determinar el valor de  $N$  de la precolumna experimentalmente, en la hoja de cálculo se asignó una eficiencia de 1000 platos teóricos, valor razonable considerando que en la bibliografía se reportan valores de  $N$  desde 100 hasta 6000 para precolumnas empacadas con fases C18 y de PE-DVB (Subra et al., 1988; Poole et al., 2000), lo que contrasta con lo encontrado para las fases estacionarias de cartuchos, cuyos valores de  $N$  van de 10 a 20 platos teóricos (Miller y Poole, 1994). De todas maneras, como se demostrará en la sección 5.3.1, el efecto en las curvas por la variación en el valor de  $N$  en los rangos reportados es mínimo.

En el cuadro 5.2 se observa que la fase PLRP-S provoca una retención de los pesticidas mayor que la fase C18. Esto se debe a que la fase polimérica es más hidrofóbica que la fase C18, presentando mecanismos de retención gobernados por interacciones hidrofóbicas. Sin embargo, los anillos aromáticos presentes en la red de la matriz polimérica, pueden causar fuertes interacciones de transferencia de carga  $\pi$ - $\pi$  con algunos analitos. Hay que considerar en este punto que la mayoría de los compuestos estudiados tienen anillos aromáticos en su estructura y/o sustituyentes con electrones libres que pueden interaccionar con la red polimérica (ver anexo 1).

Los datos encontrados en este trabajo con respecto a las diferencias de retención sobre la fase C18 y PLRP-S concuerdan con lo reportado en la bibliografía. Por citar algunos autores, Hennion y Coquart (1993) encontraron valores de retención de 20 compuestos orgánicos mayores con fases poliméricas que con sílice C18 con diferencias por un factor de 20 a 50. Lo mismo encontraron Hodgeson et al. (1994) con 13 herbicidas polares. Pichon et al. (1996, 1998) y Hennion et al. (1998) por su parte, determinaron que la retención sobre fases polimérica de diversas áreas superficiales fue más alta que con varias sílices C18 para pesticidas polares ácidos, neutros y básicos (incluyendo oxamilo, aldicarb, deisopropilatrizona (DIA), desetilatrizona (DEA), simazina, cianazina, atrazina y carbarilo entre otros); datos similares tuvieron Masqué et al. (1998) con una resina polimérica modificada.

Por otra parte, los resultados del cuadro 5.2 justifican la aproximación del volumen de retención al volumen de fuga teórico, ya que  $V_r$  y  $V_{f_T}$  tienen valores muy cercanos para los compuestos menos retenidos. Así,  $V_r$  se puede calcular fácil y rápidamente sólo con los datos de  $V_o$  y  $k'w$  cuando no se cuenta con el programa informático PSFE. Los analitos apolares (valores de  $\log k'w \geq 3$  en sílice C18) son



más retenidos y presentan curvas más extendidas, lo que provoca mayor diferencia entre  $V_r$  y  $V_{f_T}$ . Afortunadamente, para estos compuestos no es necesario conocer tan precisamente  $V_r$ , dado que para los fines de la EFS su retención es apropiada.

**Cuadro 5.2.** Valores de  $\log k'w$ ,  $V_r$  y  $V_{f_T}$  teóricos<sup>(1)</sup> en agua pura para cada plaguicida sobre fases C18 y PLRP-S, usando regresión cuadrática

COMPUESTO	C18			PLRP-S		
	$\log k'w$	$V_r$ (mL)	$V_{f_T}$ (mL)	$\log k'w$	$V_r$ (mL)	$V_{f_T}$ (mL)
<b>FENILUREAS</b>						
Fenurón	1.951	4	3.7	3.234	81	75
Monurón	2.809	28	26	4.399	1181	1095
Diurón	3.646	195	180	6.016	48870	45313
<b>CARBAMATOS</b>						
Oxamilo	1.589	1.8	1.6	2.793	29	27
Metomilo	1.539	1.6	1.4	2.659	21.5	20
3-OH carbofurano	2.331	9.5	9	3.643	207	192
Aldicarb	2.386	10.7	10	4.106	602	558
Baygón	2.865	32	30	5.031	5056	4691
Carbofurano	3.244	77	72	5.317	9769	9062
Carbarilo	3.426	117	109	5.743	26052	24167
Desmedifam	4.864	3214	2981	8.252	8.41x10 <sup>6</sup>	8x10 <sup>6</sup>
Tiodicarb	2.535	15	14	6.475	140618	130385
Metiocarb	4.599	1746	1620	6.591	183714	170304
<b>TRIAZINAS</b>						
Deisopropilatrazina	1.893	3.5	3.2	2.838	32.5	30
Desetilatrazina	2.298	8.8	8.1	3.565	173	160
2-OH atrazina	2.497	14	12.9	3.177	71	66
Cianazina	3.434	119	111	4.973	4431	4104
Simazina	3.155	63	58	4.741	2594	2406
Hexazinona	3.154	63	58	4.743	2609	2417
Atrazina	3.497	138	128	5.302	9435	8754
Simetrina	3.178	66	61.5	5.584	18074	16758
Propazina	4.075	523	485	6.084	57127	52994
Prometón	5.082	5307	4928	6.103	59695	55364
Terbutilazina	3.627	186	173	6.152	66841	61976
Prometrina	5.743	24354	22577	7.615	1.94x10 <sup>6</sup>	2x10 <sup>6</sup>

1. Datos calculados con los siguientes valores:  $N = 1000$ ,  $\epsilon$  para fase C18 = 0.7,  $\epsilon$  para fase PLRP-S = 0.75,  $V_0$  para precolumna C18 = 0.044 mL,  $V_0$  para precolumna PLRP-S = 0.047 mL

Como consecuencia de la mayor retención de los compuestos estudiados sobre la fase PLRP-S, se esperaba que los  $V_{f_T}$  fueran más grandes sobre esta fase que sobre C18 y que el rendimiento de extracción al realizar la preconcentración fuera más aceptable con una precolumna PLRP-S, ventaja importante en el análisis de trazas de compuestos orgánicos polares y que se demuestra en el siguiente

apartado. Estas observaciones coinciden con trabajos como el de Dupas et al. (1996) y el de Mills (1998), quienes al preconcentrar por EFS mezclas de contaminantes orgánicos incluyendo metabolitos de triazinas en agua, evidenciaron la conveniencia del uso de resinas de PE-DVB en vez de sílices C18 dadas las diferencias en la retención.

Sin embargo, también hay que hacer notar que la fase PLRP-S no resuelve el problema de preconcentración de los compuestos muy polares. En este estudio, los compuestos con valores de  $\log k'w \leq 3.2$  presentaron volúmenes de fuga en PLRP-S menores a 100 mL; es decir, para compuestos como el oxamilo y metomilo, cuyos valores de  $V_{fT}$  no rebasan los 30 mL, la fase PLRP-S tampoco fue útil. Por el contrario esta fase sí puede ser bastante conveniente de usar para la preconcentración del baygón ( $\log k'w = 5.03$ ) ya que incrementa considerablemente su  $V_f$  en comparación con la fase C18. Sin embargo, no hay que dejar de considerar que si se encuentran estos analitos a nivel de ultratrazas en las muestras, estos volúmenes podrían ser insuficientes para preconcentrarlos. La fase PLRP-S podría utilizarse para preconcentrar compuestos polares como 3-OH carbofurano ( $\log k'w = 3.6$ ) solo si presentan un buen límite de detección. En suma, para el caso de que los analitos estén presentes al nivel de trazas, la dificultad que presenta la fase polimérica de retener compuestos muy polares para su preconcentración por EFS es notable, de ahí la importancia de conocer al menos de forma aproximada el valor de  $k'w$  de los compuestos en un estudio analítico previo a la experimentación, y del desarrollo de nuevos materiales para su empleo en la preconcentración de esta clase de compuestos.

### 5.3 DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN (R%) Y VOLUMEN DE FUGA EXPERIMENTAL ( $V_{fE}$ )

#### 5.3.1 AGUA PURA

En el cuadro 5.3 se muestran los resultados del  $V_f$  experimental ( $V_{fE}$ ) medido a partir de las curvas  $R\% = f(\text{volumen aplicado de muestra})$  en agua pura para cada plaguicida sobre C18 y sobre PLRP-S respectivamente. Igualmente, se comparan con los valores de  $V_{fT}$  obtenidos del programa de cómputo.

Como se explicó en la parte experimental, se midió el  $V_{fE}$  de los compuestos que presentaron un  $V_r$  calculado menor que 500 mL en cada fase estacionaria. Para algunos de los compuestos estudiados, no logró determinarse su volumen de fuga en el intervalo de volúmenes practicados (ND, no determinado). Otros compuestos no se incluyeron en el estudio del  $R\% = f(\text{volumen})$  porque su  $V_r$  calculado fue demasiado grande (NR, no realizado), y en la práctica llevaría mucho tiempo y error determinarlos. Por lo anterior en el cuadro 5.3 sólo se reportan datos para 18 compuestos en C18 y para 9 en PLRP-S.

**Cuadro 5.3.** Valores de  $V_f$  experimentales y teóricos en agua pura para cada plaguicida sobre fase C18 y sobre fase PLRP-S.

COMPUESTO	C18		PLRP-S	
	$V_{fE}$ (mL)	$V_{fT}$ (mL)	$V_{fE}$ (mL)	$V_{fT}$ (mL)
<b>FENILUREAS</b>				
Fenurón	5	3.7	53	74.9
Monurón	29	26.3	ND	1094.6
Diurón	135	180.6	ND	45313.0
<b>CARBAMATOS</b>				
Oxamilo	3.5	1.6	28	27.2
Metomilo	2.5	1.4	33	20.0
3-OH carbofurano	7.8	8.8	190	192.0
Aldicarb	18	10.0	450	557.5
Baygón	50	29.9	275	4690.6
Carbofurano	91	71.7	ND	9062.1
Carbarilo	101	108.8	NR	24167.0
Desmedifam	ND	2981	NR	$8 \times 10^6$
Tiodicarb	ND	14.0	NR	130385
Metiocarb	ND	1620.2	NR	170304
<b>TRIAZINAS</b>				
Deisopropilatrazina	3	3.2	24	30.1
Desetilatrazina	10	8.1	129	160.4
2-OH atrazina	19	12.9	61	65.7
Cianazina	100	110.8	ND	4104.2
Simazina	55	58.3	ND	2405.7
Hexazinona	116	58.2	ND	2416.8
Atrazina	160	128.2	NR	8754.4
Simetrina	260	61.5	NR	16758.0
Propazina	ND	485.4	NR	52994.0
Prometón	ND	4927.9	NR	55364.0
Terbutilazina	ND	173.1	NR	61976
Prometrina	ND	22576.6	NR	$2 \times 10^6$

Los  $V_{fE}$  resultaron del promedio de 3 mediciones. Los CV variaron de 6 a 17 %.

ND = no determinado hasta un volumen de 500 mL

NR = no realizado

Del cuadro 5.3 puede advertirse que, en general, los valores de  $V_{fE}$  se aproximan bien a los de  $V_{fT}$ , excepto hexazinona y simetrina en C18 y baygón en PLRP-S, posiblemente debido a una sobreestimación (hexazinona, simetrina) o subestimación (baygón) del  $k'w$ . El caso de Baygón puede explicarse por el hecho de que es posible que tenga un valor de  $k'w$  menor al estimado aquí y que haya sido sobreestimado por la regresión cuadrática, desafortunadamente no se encontró en la bibliografía su valor de  $k'w$  experimental. Para los casos de hexazinona y simetrina, las desviaciones pueden deberse a errores experimentales, pero tampoco se encontraron en la bibliografía valores de  $k'w$  experimentales o estimados, así que es posible que tengan valores mayores a los reportados aquí. También hay que

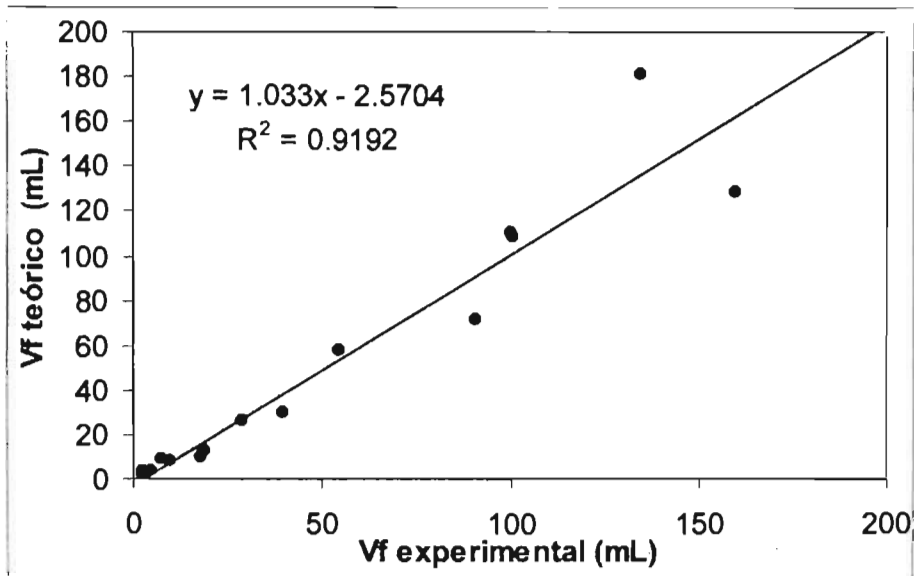
considerar en la retención el anillo  $-C_6H_{11}$  y el grupo  $-SCH_3$  que hexazinona y simetrina, respectivamente, tienen como sustituyentes característicos (ver anexo 1) y la extrema semejanza de la simetrina con la prometrina ( $\log P = 3.561$ ), que es la triazina estudiada más apolar, por lo que es factible que los valores de  $k'w$  de estas triazinas, en efecto, hayan sido subestimados.

En las gráficas de las figuras 5.16 y 5.17 correspondientes a la correlación entre los valores de  $V_{fT}$  y  $V_{fE}$  excluyendo a los 3 compuestos mencionados con anterioridad, se observa que las correlaciones entre  $V_{fE}$  y  $V_{fT}$  son muy buenas tanto en C18 como en PLRP-S, y las ecuaciones tienen pendientes cercanas a 1 y ordenadas al origen cercanas a cero. Los puntos alejados de la recta también pueden ser útiles para el establecimiento de condiciones experimentales en la EFS a pesar de poder tener un error mayor. Es importante considerar que en caso de un análisis multiresiduo de trazas, tener un dato aproximado del  $V_{fT}$  antes de cualquier experimento representa una gran ventaja como parámetro de decisión acerca del volumen a preconcentrar y las pérdidas que podrían esperarse durante la EFS.

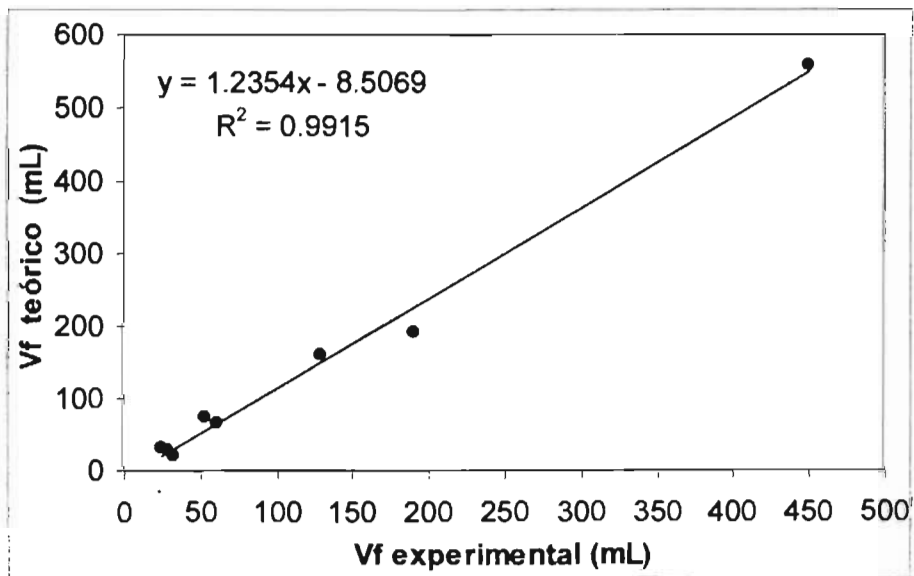
La buena correlación encontrada en este estudio coincide con las comparaciones efectuadas por Hennion et al. (1998) del  $V_f$  teórico y experimental al preconcentrar 2 carbamatos (oxamilo y aldicarb) y 2 triazinas (DIA y DEA) de muestras acuosas sobre un disco C18. En este trabajo se encontraron diferencias entre los valores de  $V_f$  de 5 a 40 %, siendo el último porcentaje para el oxamilo. Es conveniente remarcar que con nuestros datos, se observó una mejor correlación entre el  $V_r$  calculado y el  $V_{fT}$  para oxamilo (diferencia máxima de 12 %), lo que puede deberse a que los autores emplearon un disco C18 pero introdujeron el dato de 20 platos teóricos (valor de  $N$  correspondiente a un cartucho) en sus cálculos de  $V_{fT}$ , lo que reafirma nuestra correcta decisión de tomar para precolumnas un valor general de eficiencia de  $N = 1000$ .

Otra comparación puede hacerse empleando los datos reportados por Subra et al. (1988) y Jandera y Kubat (1990) para simazina y atrazina entre otros compuestos. Estudiando los datos reportados de  $V_f$  y  $V_r$  determinados experimentalmente por el método de frente de elución y los de  $V_r$  calculados, se encontró que se aproximaron bastante bien, con una diferencia máxima de 25 % y mínima de 4 %. En el caso del presente estudio, la diferencia entre  $V_{fT}$  y  $V_{fE}$  para simazina fue de 5.66 % y para atrazina de 19.8 % sobre la fase C18.

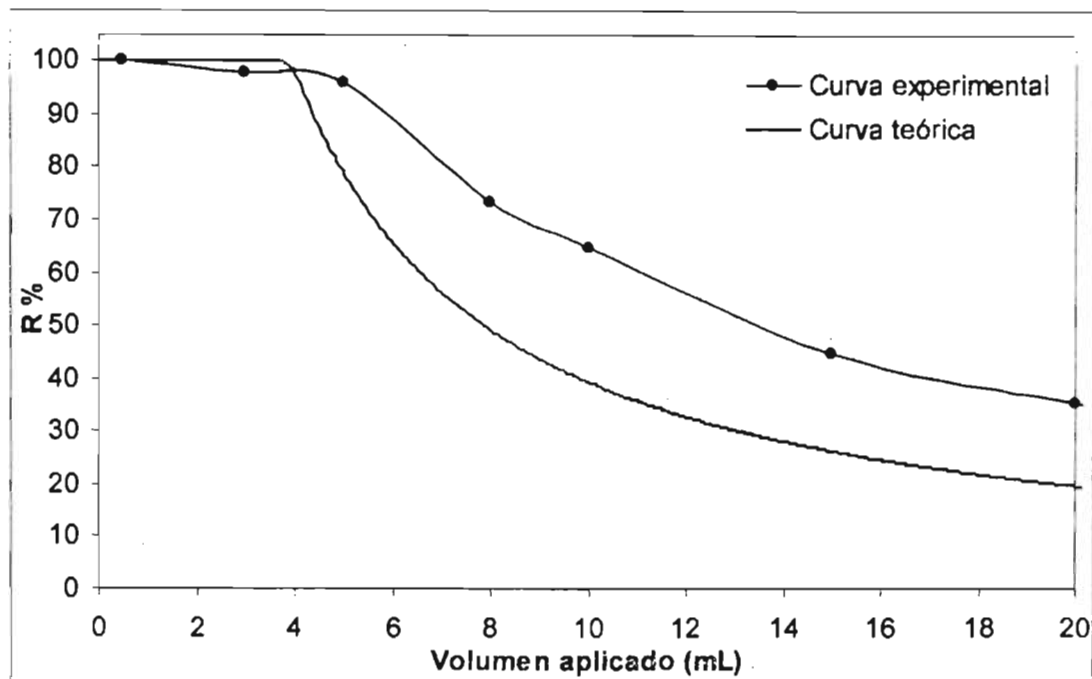
En las figuras 5.18 a 5.32 se muestran algunas de las curvas del rendimiento de extracción obtenidas experimentalmente en función del volumen aplicado de agua pura adicionada con una cantidad constante de plaguicidas y las curvas de rendimiento de extracción teórico provenientes del programa informático PSFE para ambas fases estudiadas. En estas figuras se puede apreciar claramente la buena aproximación de las curvas experimentales a las teóricas, con lo que se puede comprobar la validez de las aproximaciones efectuadas de los parámetros  $k'w$ ,  $V_r$  y  $V_f$ . El resto de las gráficas pueden observarse en el anexo 7.



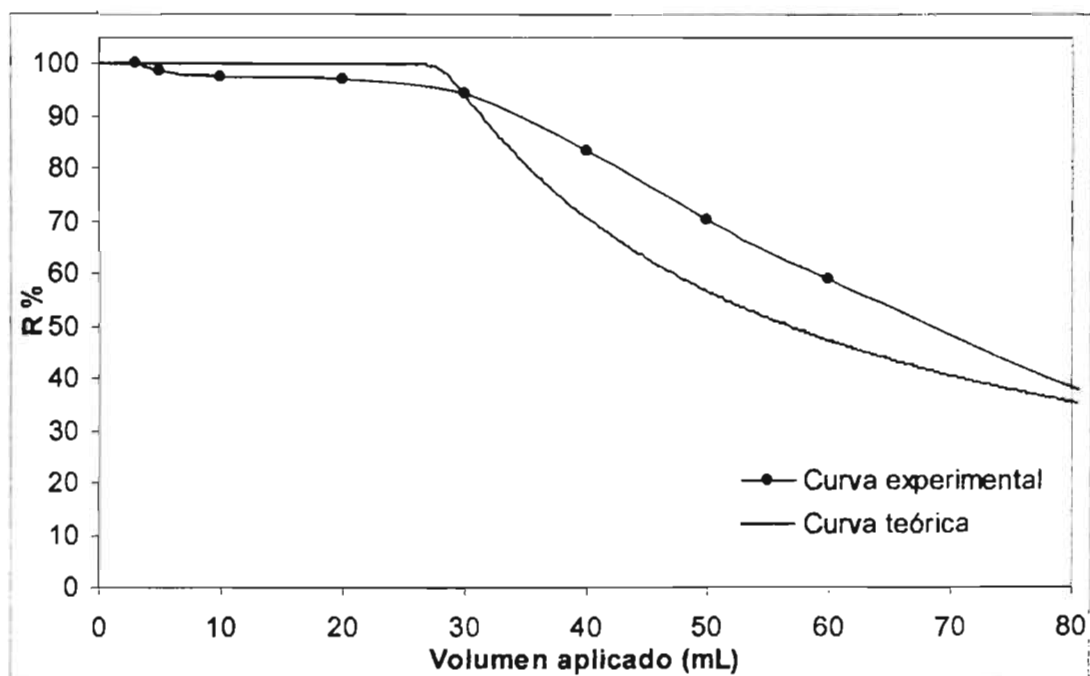
**Figura 5.16.** Gráfica de correlación entre los Vf obtenidos experimentalmente y los Vf teóricos calculados con los datos de log  $k'_w$  obtenidos por regresión cuadrática sobre fase C18 para 16 compuestos.



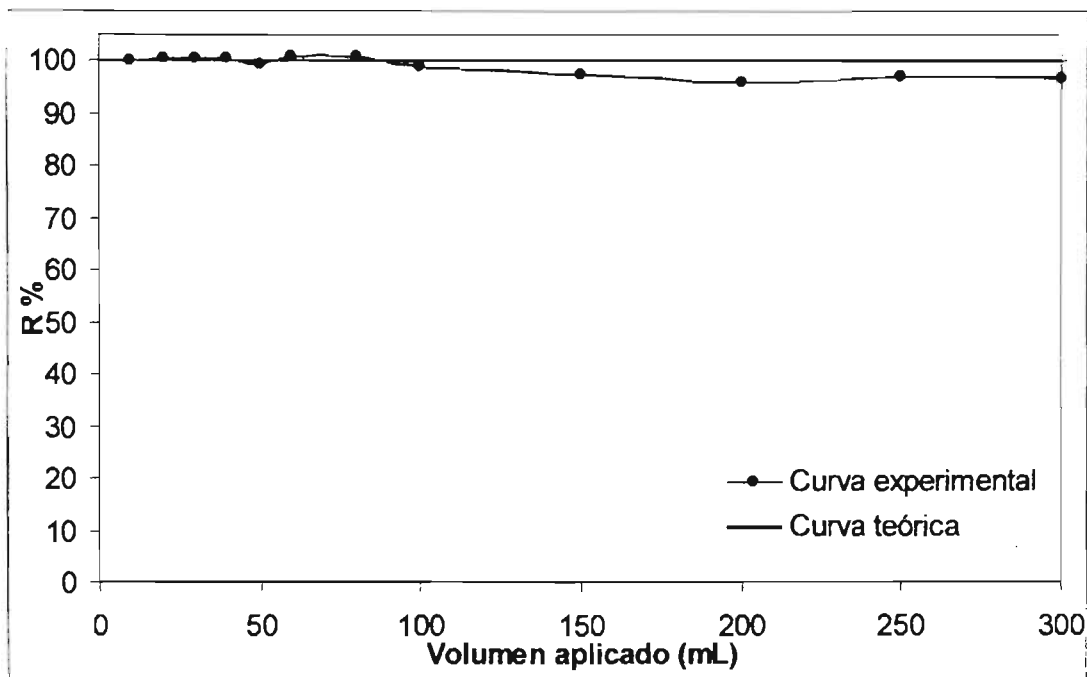
**Figura 5.17.** Gráfica de correlación entre los Vf obtenidos experimentalmente y los Vf teóricos calculados con los datos de log  $k'_w$  obtenidos por regresión cuadrática sobre fase PLRP-S para 8 compuestos.



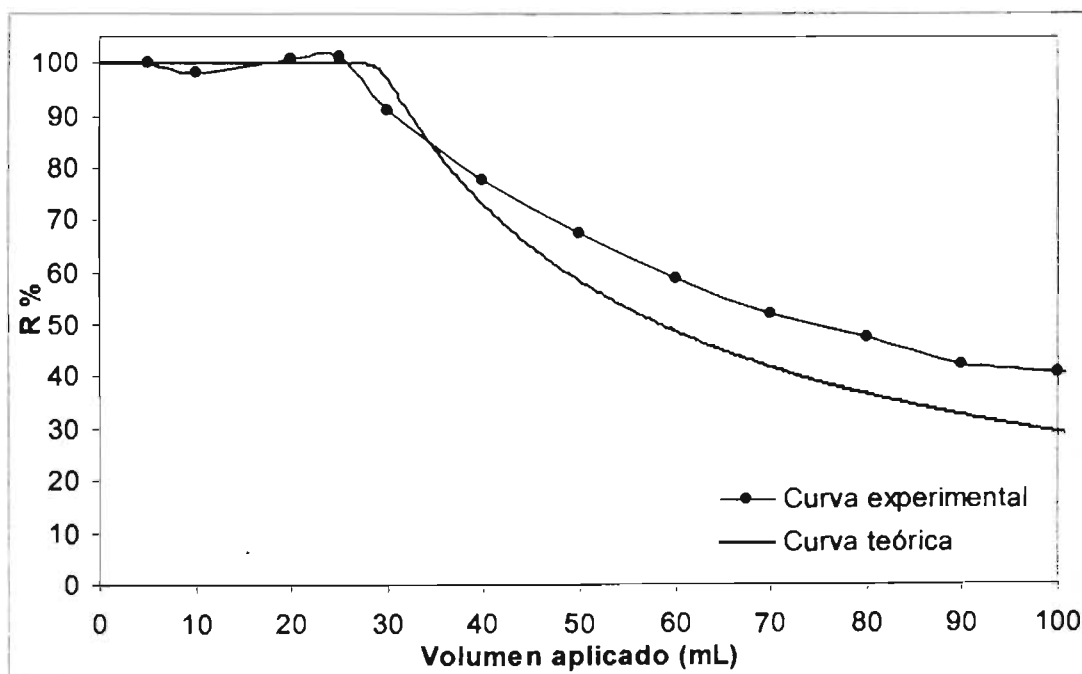
**Figura 5.18.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de FENURÓN en agua grado cromatográfico adicionada con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'_w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.



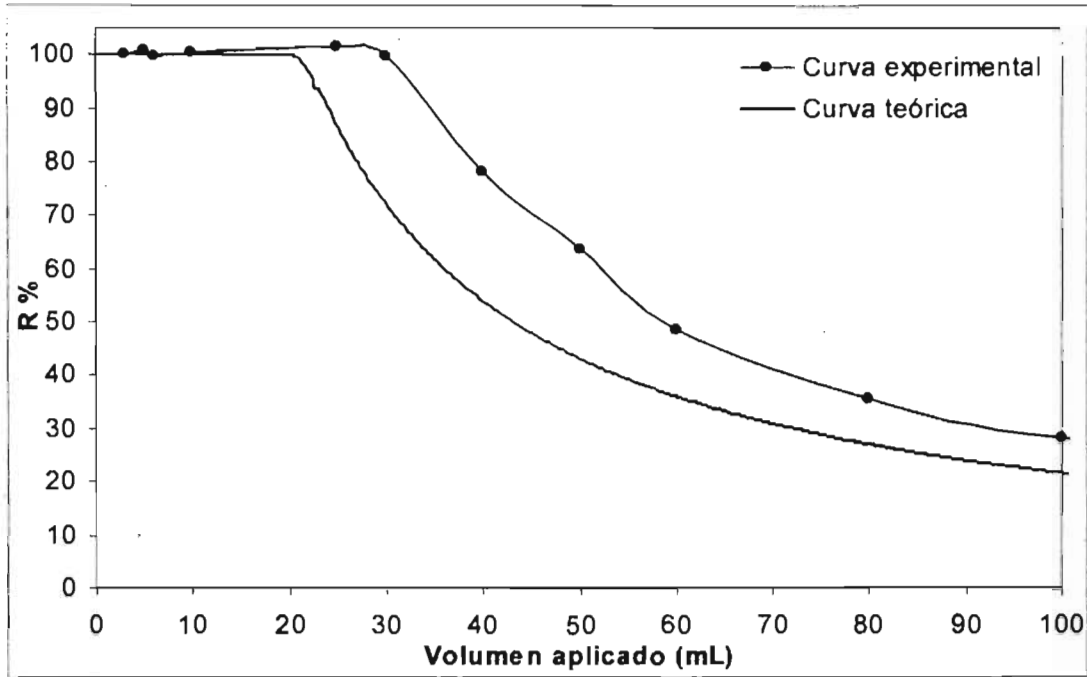
**Figura 5.19.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de MONURÓN en agua grado cromatográfico adicionada con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'_w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.



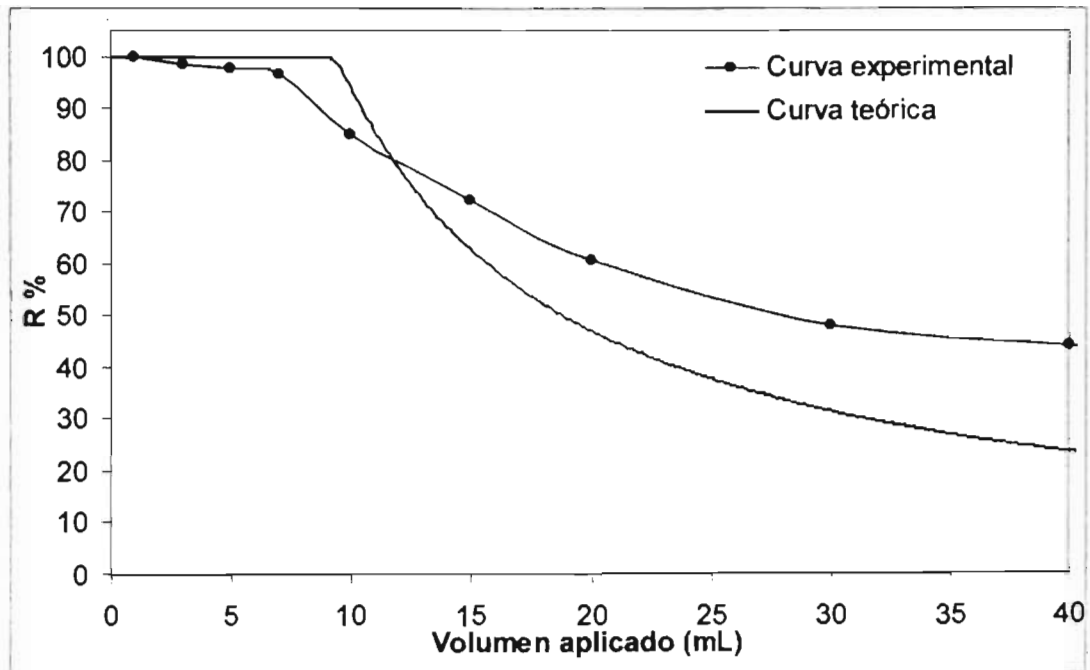
**Figura 5.20.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de MONURÓN en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000 \log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.



**Figura 5.21.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de OXAMILO en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000 \log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

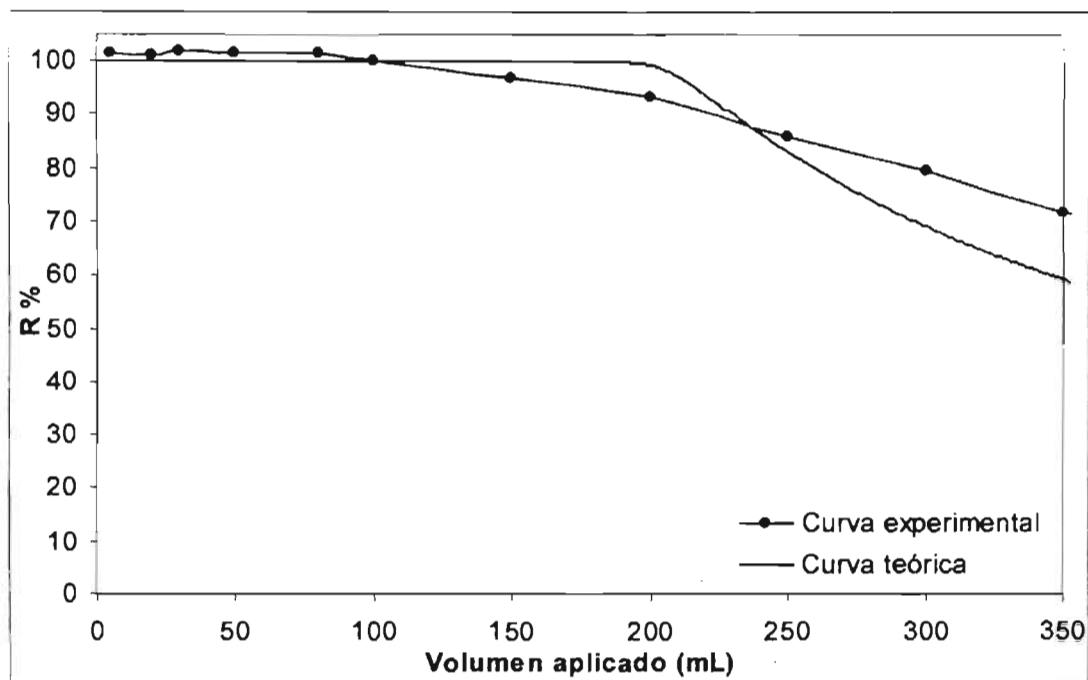


**Figura 5.22.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de METOMILO en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000 \log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

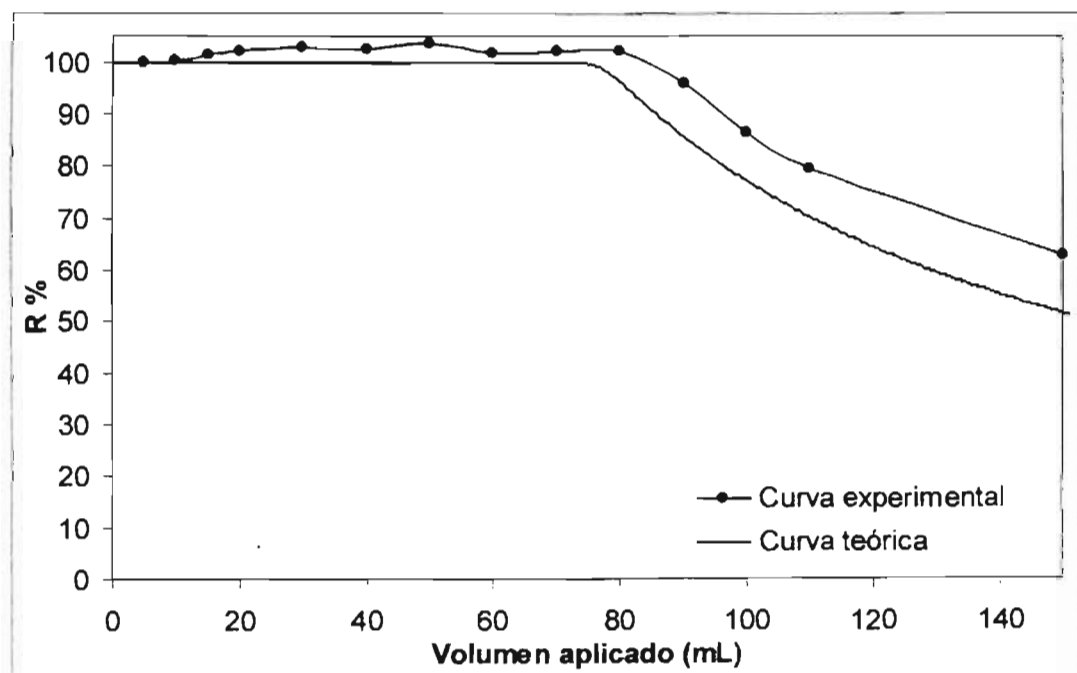


**Figura 5.23.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de 3-HIDROXICARBOFURANO en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.





**Figura 5.24.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de 3-HIDROXICARBOFURANO en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  log  $k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.



**Figura 5.25.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de CARBOFURANO en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y log  $k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

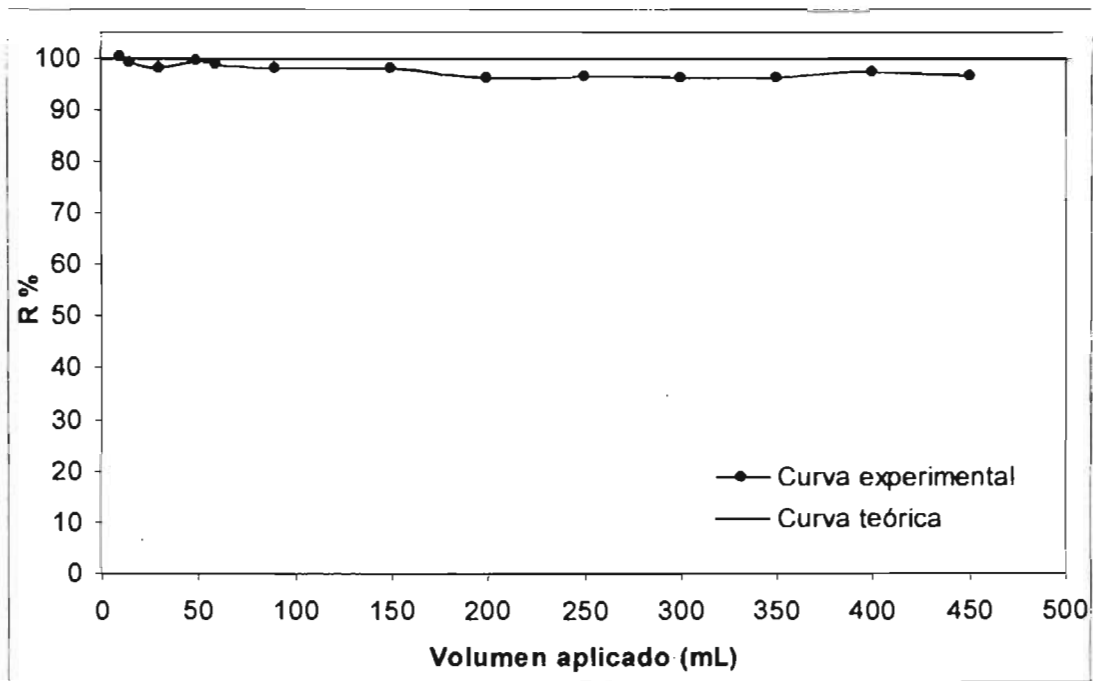


Figura 5.26. Curva de rendimiento porcentual de extracción de CARBOFURANO en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000 \log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

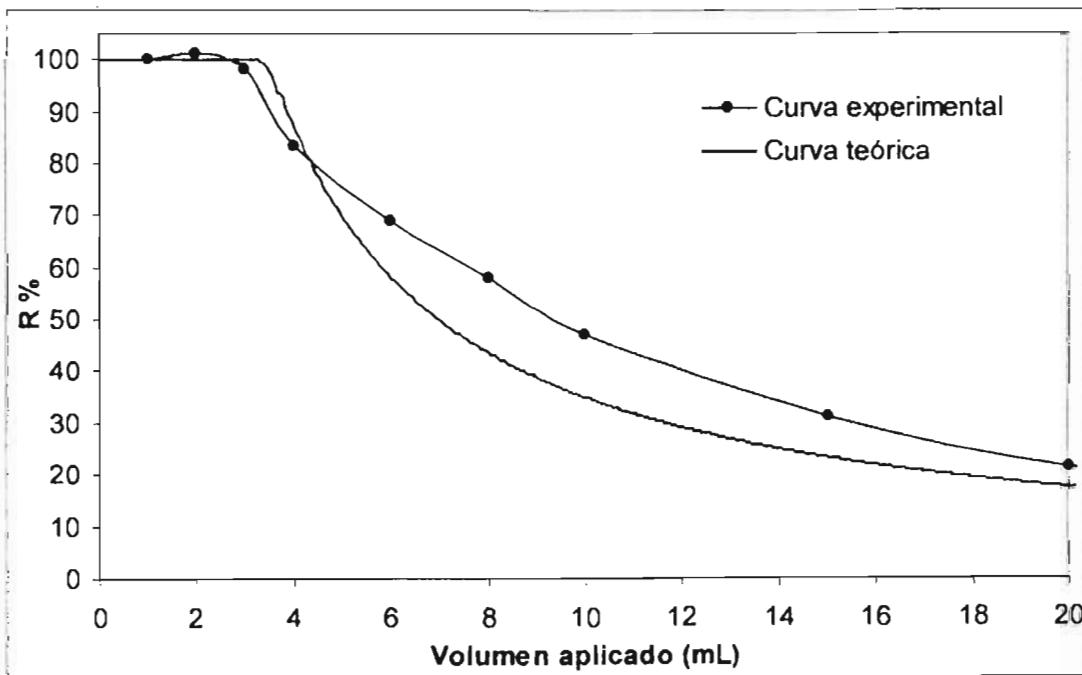
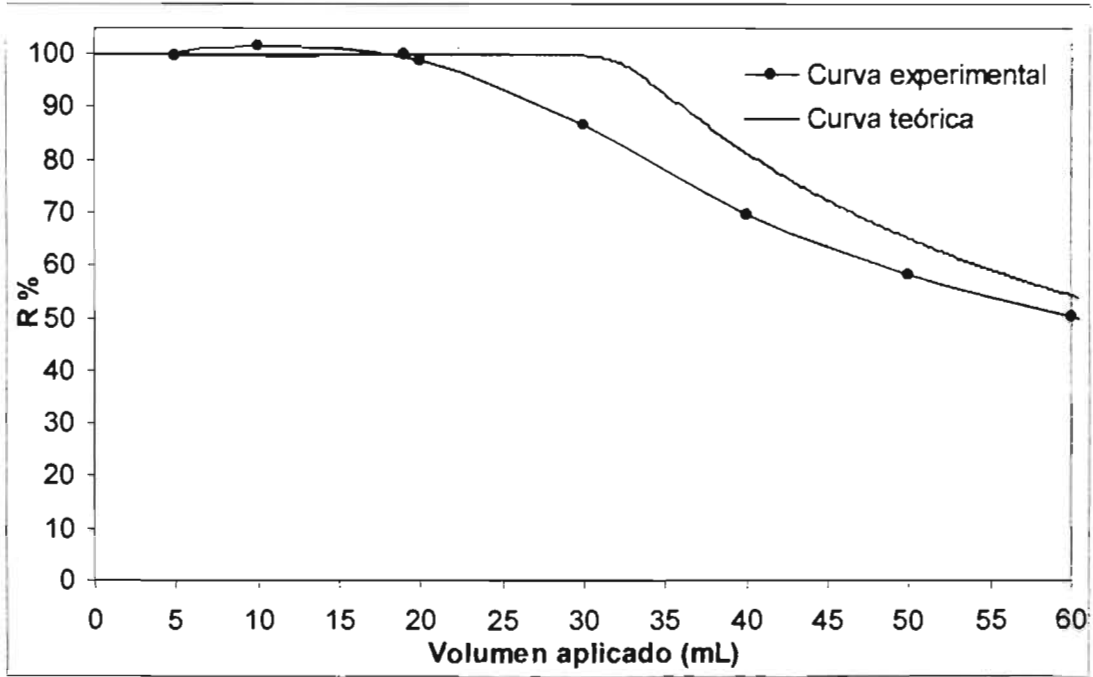
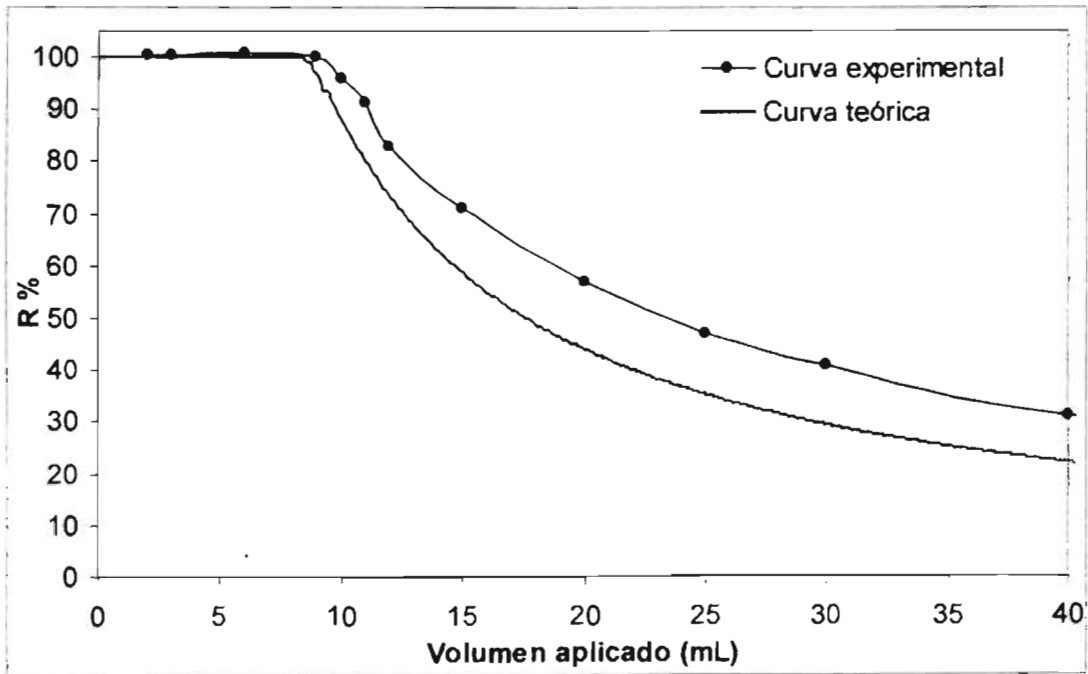


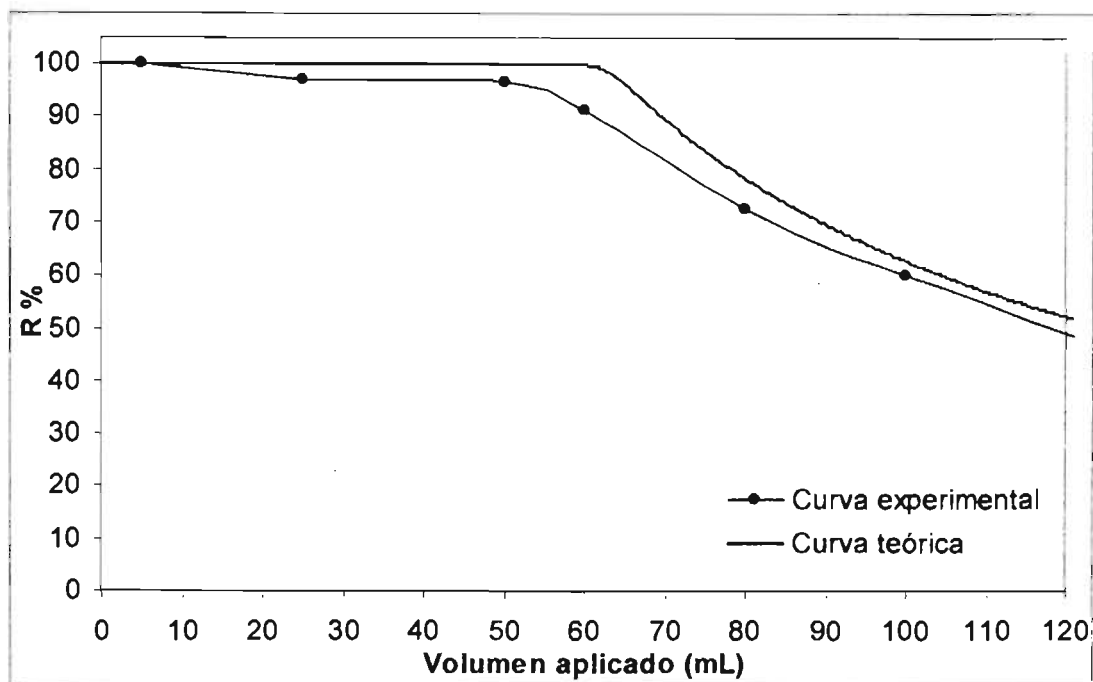
Figura 5.27. Curva de rendimiento porcentual de extracción de DEISOPROPILATRAZINA en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.



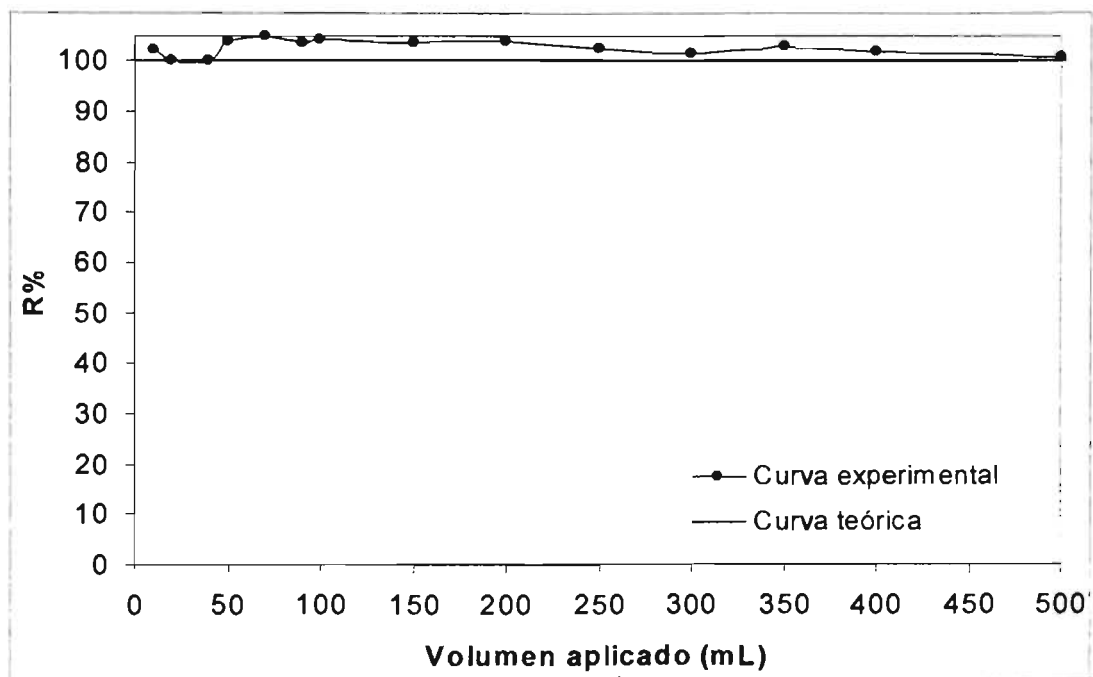
**Figura 5.28.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de DEISOPROPILATRAZINA en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000 \log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.



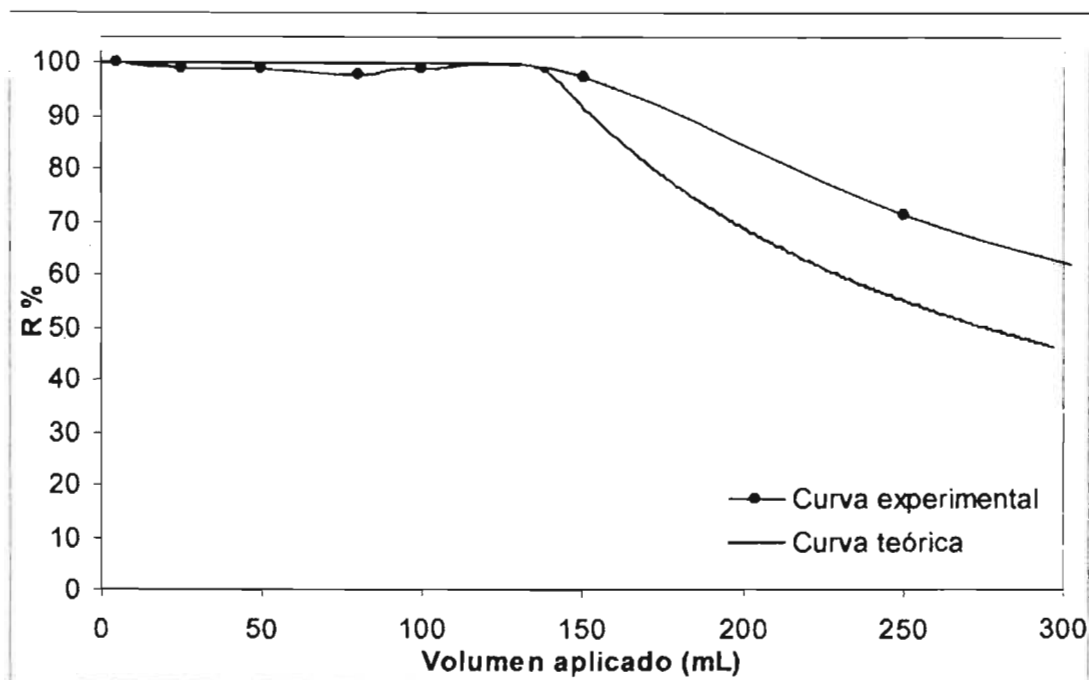
**Figura 5.29.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de DESETILATRAZINA en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.



**Figura 5.30.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de SIMAZINA en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.



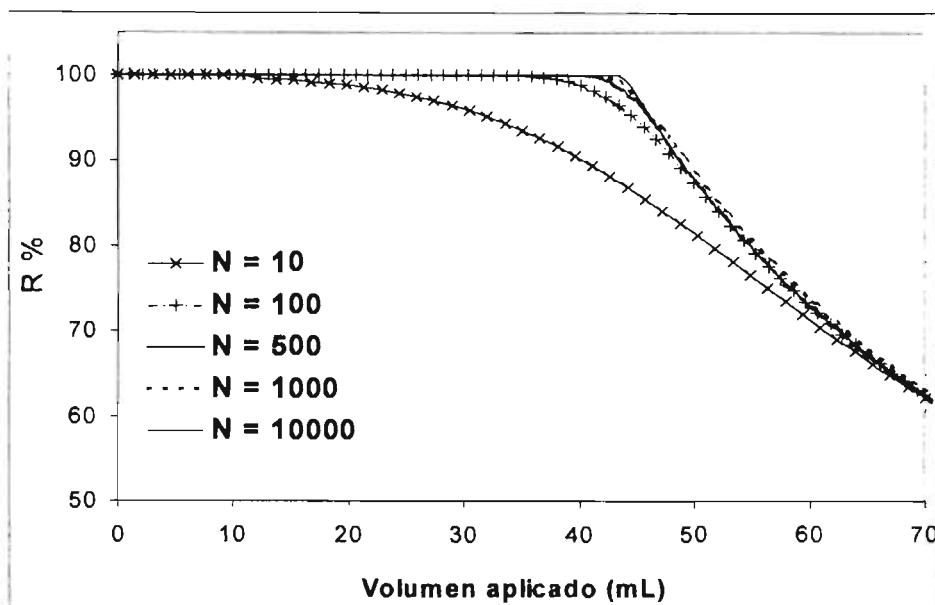
**Figura 5.31.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de SIMAZINA en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$   $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.



**Figura 5.32.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de ATRAZINA en agua grado cromatográfico adicionada con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

Generalizando las observaciones sobre estas curvas, encontramos que la curva de rendimiento teórica se encuentra en la mayoría de los compuestos por debajo de la experimental. Esto se explica por el ensanchamiento de banda que ocurre en la cama de partículas del adsorbente de preconcentración. No hay que olvidar que las curvas teóricas tienen una base ideal, aún cuando consideran un factor relacionado con este ensanchamiento o dispersión ( $\sigma_v$ ). Así, puede considerarse que las estimaciones efectuadas de  $\log k'w$  y los subsecuentes valores de  $V_r$  y  $V_{f_T}$  sí son válidos para fines prácticos de un estudio analítico multiresiduo de los pesticidas estudiados, aún cuando contengan un cierto grado de error. Para estos fines, la estimación de  $k'w$  no necesita ser exacta ni complicada de realizar.

En la figura 5.33 se ilustra el efecto en la forma de las curvas de rendimiento del valor de  $N$  introducido en la hoja de cálculo. Por consecuencia, también se afectan los valores de  $V_{f_T}$  arrojados. Como puede verse y como se esperaba de acuerdo con la bibliografía revisada, las curvas no varían considerablemente cuando  $N$  es mayor de 100. Con un valor de 10 sí se presenta una variación considerable en la curva, pero este valor de eficiencia más bajo corresponde a los cartuchos de extracción.



**Figura 5.33** Efecto del valor de N sobre el Vf teórico de un compuesto hipotético de  $\log k'w = 3$  preconcentrado en una precolumna empacada con fase C18 y  $V_o = 0.044$  mL

### 5.3.2 MUESTRAS SINTÉTICAS FORTIFICADAS CON ÁCIDOS HÚMICOS

Las muestras sintéticas se prepararon con 4 diferentes niveles nominales de ácidos húmicos (AH), dos de las cuales (2.0 y 5.0 mg/L) se sometieron a la prueba de COT tal como se menciona en el capítulo 4, de manera que las correcciones se hicieron con un factor de 25.5 % y quedaron como se muestra a continuación:

Contenido de materia orgánica disuelta (mg/L)	
Concentración nominal	Concentración real
0.5	0.4
2.0	1.5
5.0	3.7
7.5	5.6

En las figuras 5.34 a 5.46 se presentan de forma simultánea las curvas del rendimiento porcentual de extracción R% en función del volumen aplicado a través de las precolumnas empacadas con las fases sólidas utilizadas para algunos compuestos. Se presentan para comparación la curva del agua pura y las de las diferentes concentraciones de los ácidos húmicos juntas. En el anexo 8 se presentan estas curvas para los demás compuestos.

En los cuadros 5.4 y 5.5 se reportan los datos de volumen de fuga experimental ( $V_{fE}$ ) en agua sintética adicionada con ácidos húmicos en diferentes concentraciones sobre fase C18 y PLRP-S respectivamente, comparados con los valores obtenidos en agua pura. Se observa que tanto en C18 como en PLRP-S, la presencia y concentración de AH afectaron los rendimientos de algunos de los compuestos de las diferentes familias. En estos compuestos se presentaron diferencias en aumento o en disminución de los valores de  $V_{fE}$  desde la más baja concentración (0.4 mg/L), la cual es equivalente al caso de un agua de pozo o manantial. Estos resultados evidencian la necesidad de realizar los estudios de recobro previos al desarrollo de un método para EFS utilizando muestras reales y no de agua pura. Desafortunadamente, este hecho conlleva a ciertos problemas prácticos, por lo que lo ideal sería el poder realizar predicciones de los  $V_f$  y los R% considerando el efecto de la materia orgánica, siempre presente en las muestras de aguas naturales.

**Cuadro 5.4.** Valores de  $V_f$  experimental en agua pura y sintética adicionada con ácidos húmicos a diferentes niveles de concentración sobre fase C18.

COMPUESTO	VOLÚMENES DE FUGA EXPERIMENTALES (mL)				
	C18				
	Agua pura	Ácidos Húmicos			
	0.4 mg/L	1.5 mg/L	3.7 mg/L	5.6 mg/L	
FENILUREAS					
Fenurón	5	6	2.5	4	
Monurón	29	31	33	30	
Diurón	135	147	140	135	
CARBAMATOS					
Oxamilo	3.5	3.5	1.5	1	< 1
Metomilo	2.5	2.5	1.5	1	< 1
3-OH Carbofurano	7.8	20	19	14.5	12
Aldicarb	18	17	15	11	10
Baygón	50	46	47	48	52
Carbofurano	91	60	72	65	58
Carbarilo	101	75	72	76	78
Desmedifam					
Tiodicarb			NR		
Metiocarb					
TRIAZINAS					
Deisopropilatrazina	3	2.5	3	2.5	
Desetilatrazina	10	8.5	11.5	9.5	
2-OH Atrazina	19	39	26	30	
Cianazina	100	130	120	117	
Simazina	55	57	62	47	
Hexazinona	116	122	127	118	
Atrazina	160	170	166	167	
Simetrina	260	285	220	252	
Propazina					
Prometón			NR		
Terbutilazina					
Prometrina					

NR = no realizado

**Cuadro 5.5.** Valores de Vf experimental en agua pura y sintética adicionada con ácidos húmicos a diferentes niveles de concentración sobre fase PLRP-S.

COMPUESTO	VOLÚMENES DE FUGA EXPERIMENTALES (mL)				
	PLRP				
	Agua pura	Ácidos Húmicos			
	0.4 mg/L	1.5 mg/L	3.7 mg/L	5.6 mg/L	
FENILUREAS					
Fenurón	53	44	51	45	
Monurón					
Diurón		NR			
CARBAMATOS					
Oxamilo	28	17	11.5	8.5	7.5
Metomilo	33	12	11	9	6.5
3-OH Carbofurano	190	155	110	60	42
Aldicarb	450	150	200	160	110
Baygón	275	295	270	245	245
Carbofurano					
Carbarilo					
Desmedifam			NR		
Tiodicarb					
Metiocarb					
TRIAZINAS					
Deisopropilatrizona	24	16	8	4	
Desetilatrizona	129	124	77	44	
2-OH Atrizona	61	65	66	45	
Cianazina					
Simazina					
Hexazinona					
Atrizona					
Simetrina		NR			
Propazina					
Prometón					
Terbutilazina					
Prometrina					

NR = no realizado

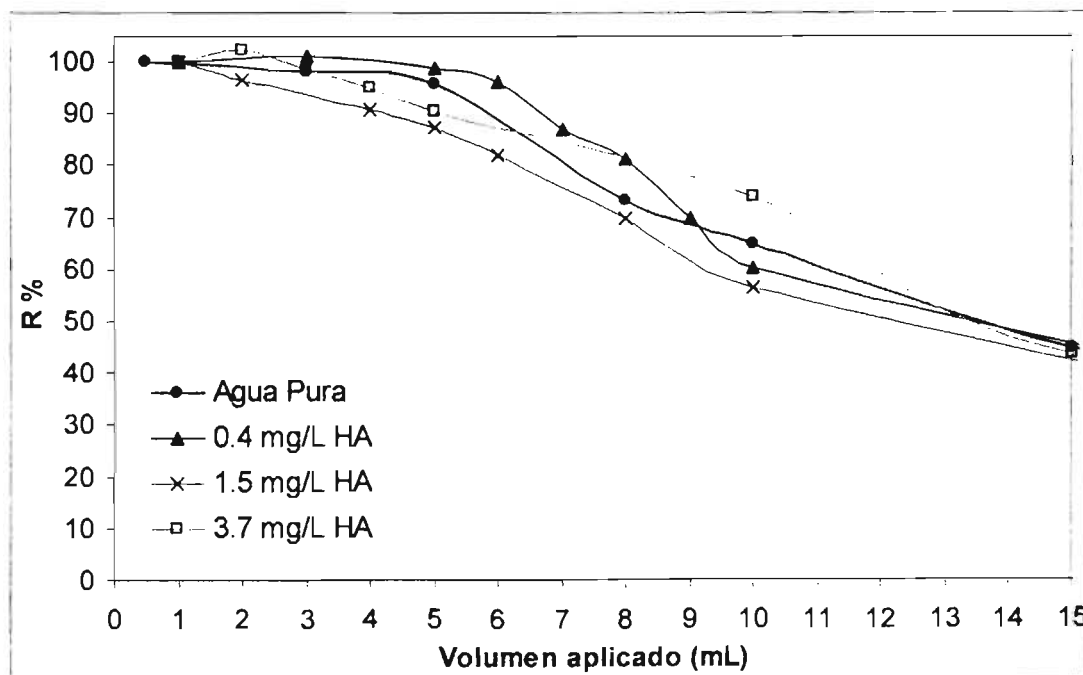
En los cuadros 5.4 y 5.5 también se observa que al aumentar la concentración de AH se disminuyen en C18 los recobros para compuestos como fenurón (figura 5.34), oxamilo, metomilo, 3-OH carbofurano y aldicarb tanto en C18 (figuras 5.35, 5.37, 5.39 y 5.41) como en PLRP-S (figuras 5.36, 5.38, 5.40 y 5.42) y DIA, DEA y 2-hidroxiatrizona en PLRP-S (figuras 5.43, 5.44 y 5.45 ). La cianazina disminuye ligeramente sus R% en fase C18 (figura 5.46).



Dentro de los compuestos que presentaron variabilidad en los valores del  $V_f$  dependiente de los niveles de AH, la familia de carbamatos presentó el comportamiento más interesante ya que claramente se observó que la concentración creciente de AH hizo disminuir los R% de los compuestos polares ( $\log k'w < 2.4$  en C18 y  $\log k'w < 4.1$  en PLRP-S). El caso de 3-OH carbofurano fue peculiar ya que con la fase C18, sus valores de  $V_{fE}$  y R% con los AH fueron notablemente mayores con respecto a los valores correspondientes en agua pura, no así en PLRP-S. El baygón no se vio afectado en sus valores de  $V_f$  (figuras 8.4 y 8.5 anexo 8). Carbofurano y carbarilo en C18 fueron afectados ligeramente (figuras 8.6 y 8.7 anexo 8).

Para el caso de las fenilureas, a diferencia del fenurón, los compuestos monurón ( $\log k'w = 2.8$ ) y diurón ( $\log k'w = 3.64$ ) en C18 (en PLRP-S no fueron ensayados) tampoco se vieron afectados en sus  $V_f$  con los AH, ni en su R% (figuras 8.2 y 8.3 anexo 8).

Con respecto a las triazinas, es interesante notar que, siendo DIA, DEA y 2-hidroxiatrazina afectadas en sus recobros al aumentar la concentración de AH, son también los compuestos más polares de la familia, y sus  $\log k'w$  son inferiores a 3.2 en la fase PLRP-S, parecido al comportamiento de los carbamatos.



**Figura 5.34.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de FENURÓN en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.

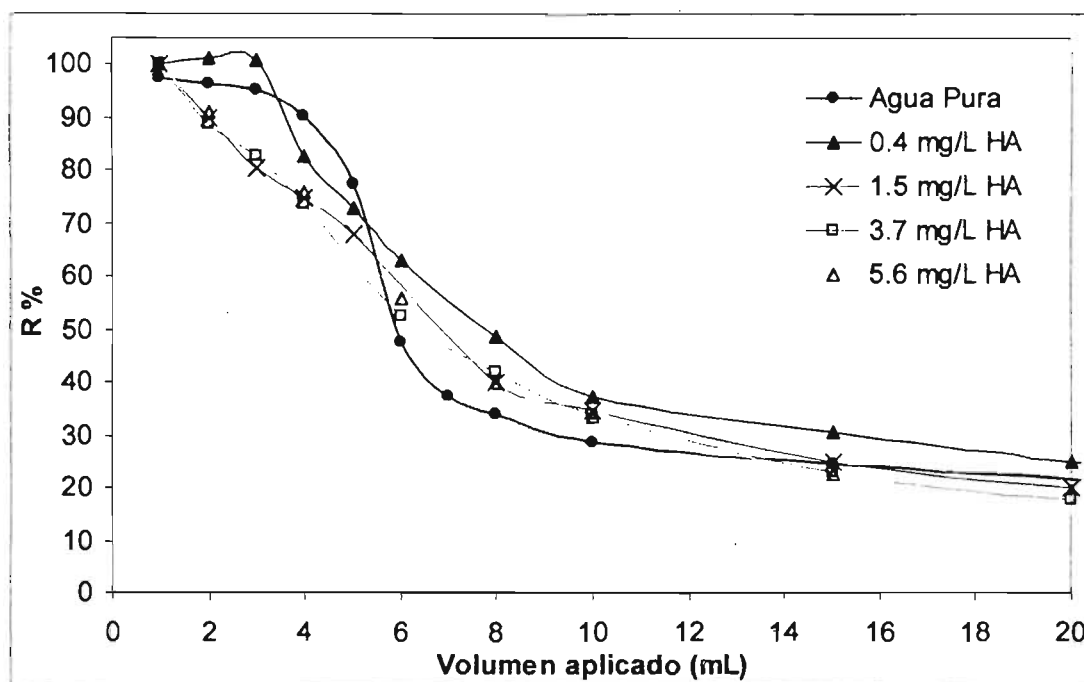


Figura 5.35. Curva de rendimiento porcentual de extracción de OXAMILO en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 4 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.

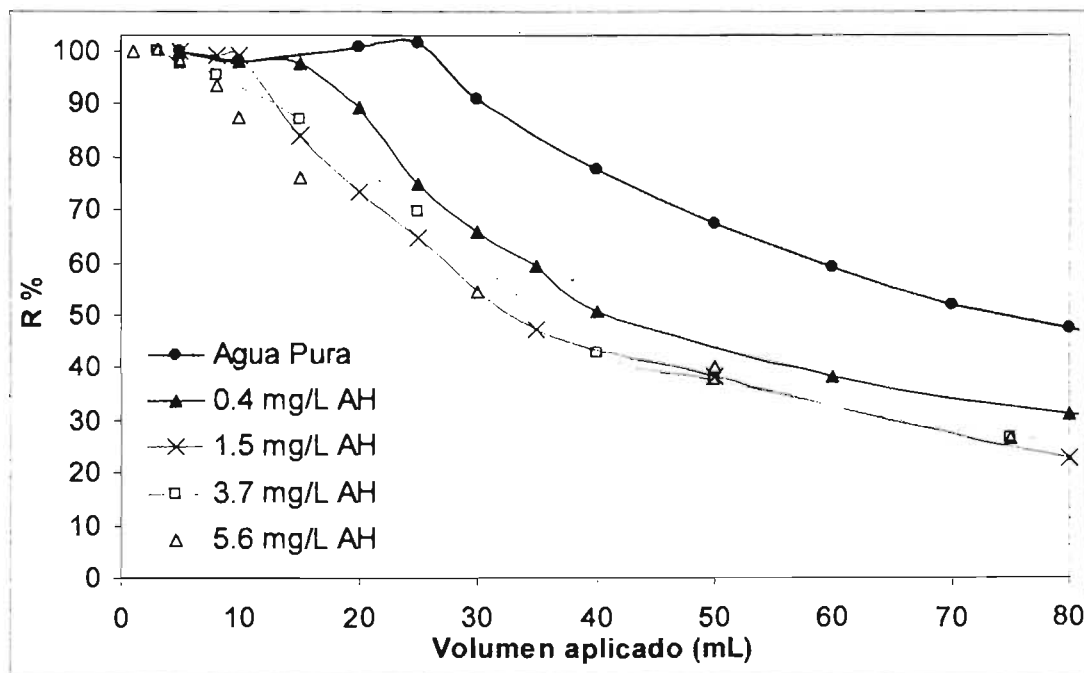


Figura 5.36. Curva de rendimiento porcentual de extracción de OXAMILO en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 4 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S.

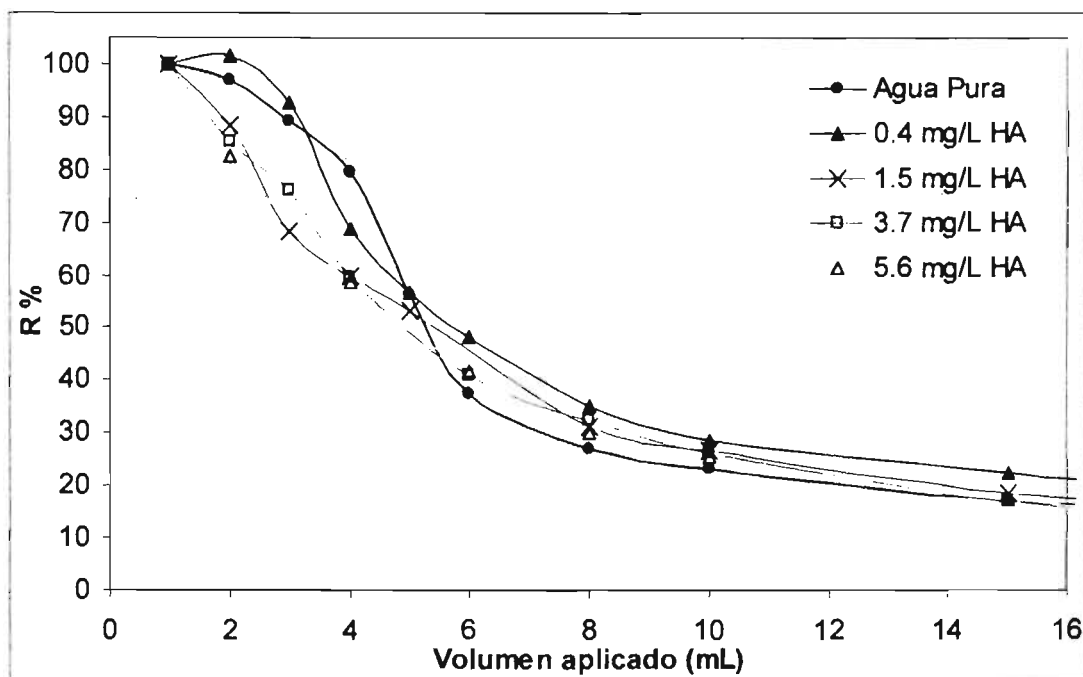


Figura 5.37. Curva de rendimiento porcentual de extracción de METOMILO en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 4 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.

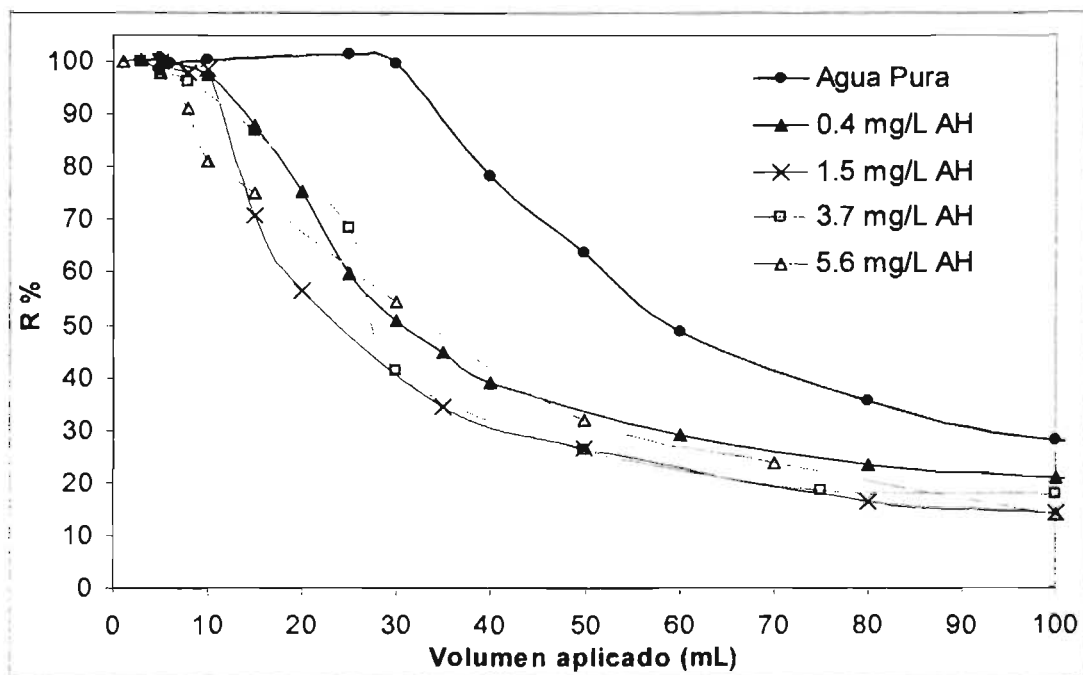
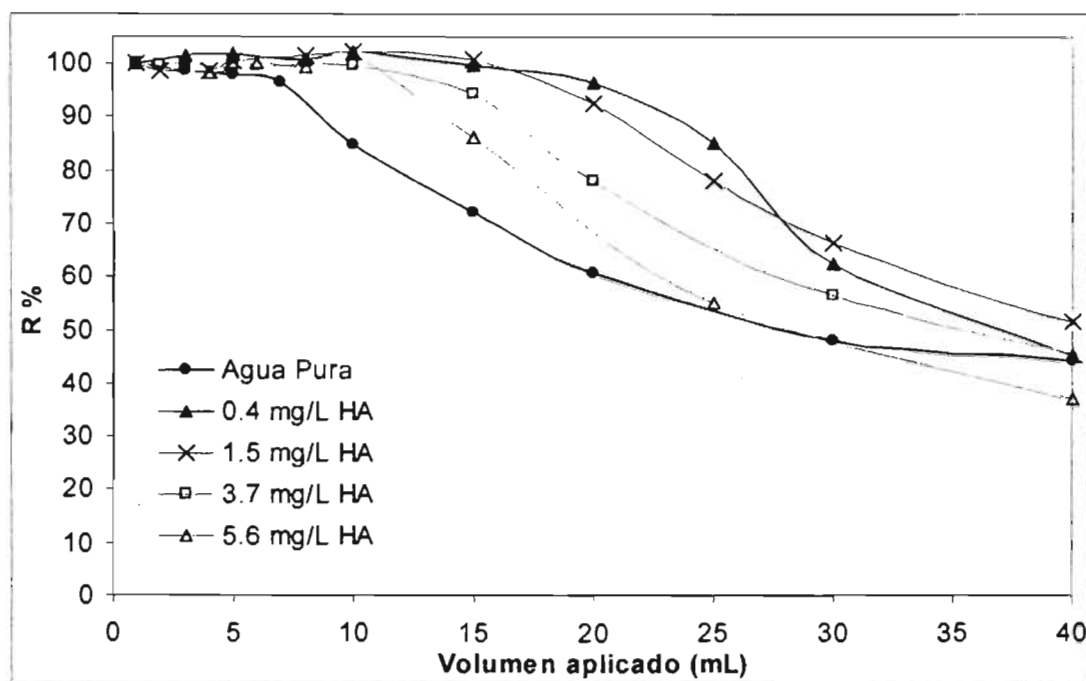
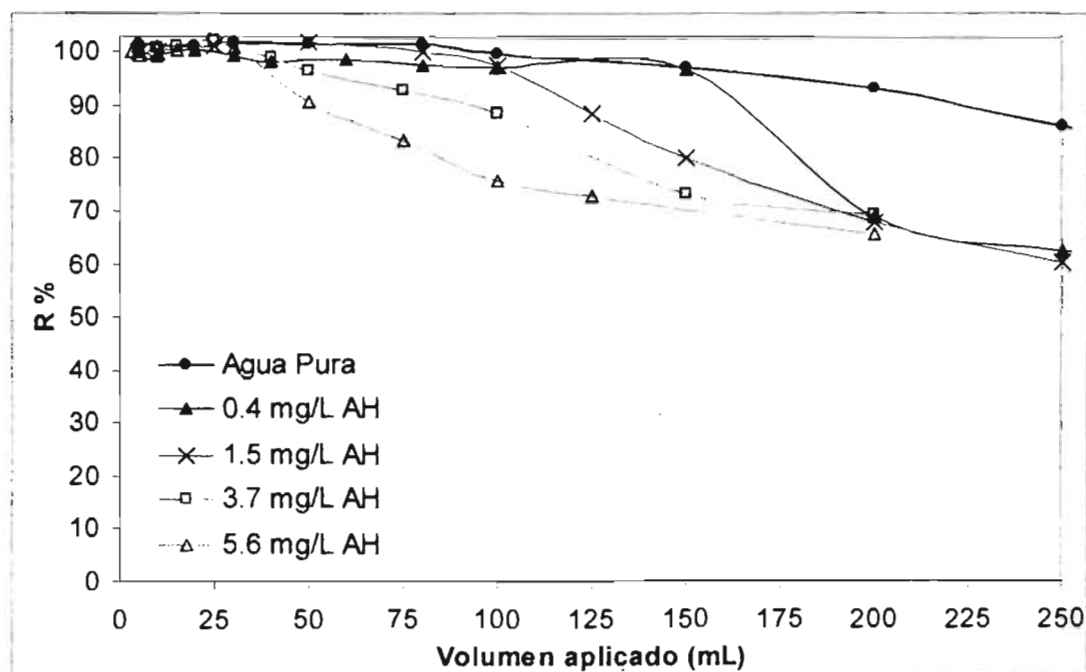


Figura 5.38. Curva de rendimiento porcentual de extracción de METOMILO en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 4 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S.



**Figura 5.39.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de 3-HIDROXICARBOFURANO en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 4 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.



**Figura 5.40.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de 3-HIDROXICARBOFURANO en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 4 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S.

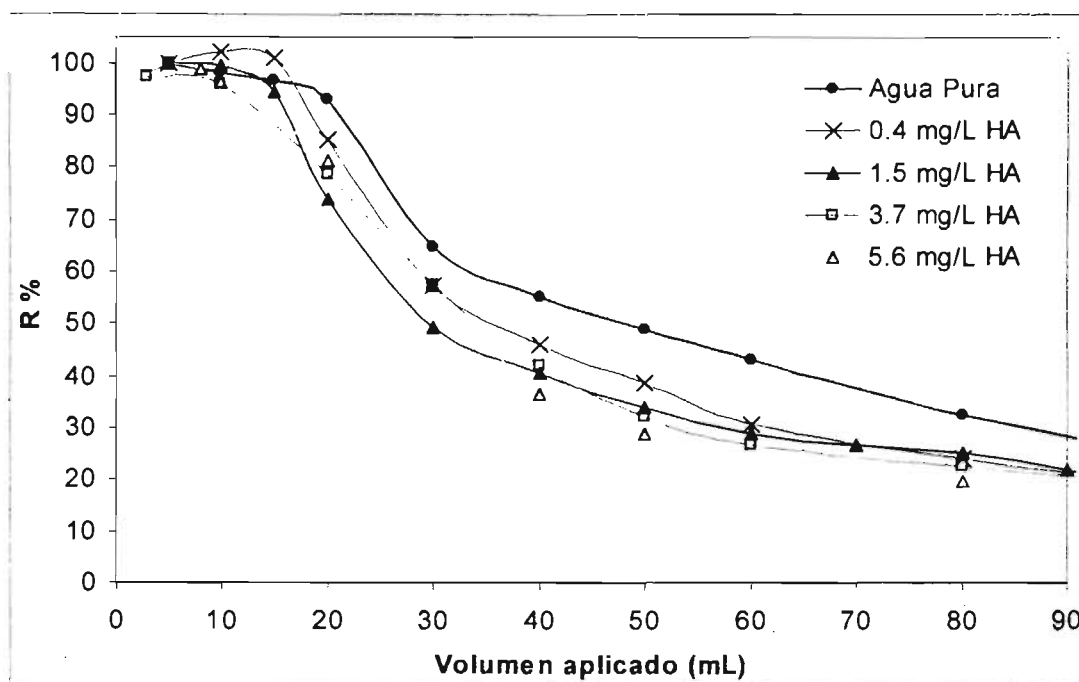


Figura 5.41. Curva de rendimiento porcentual de extracción de ALDICARB en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 4 niveles de concentración adicionadas con 0.4 µg de compuesto sobre fase C18.

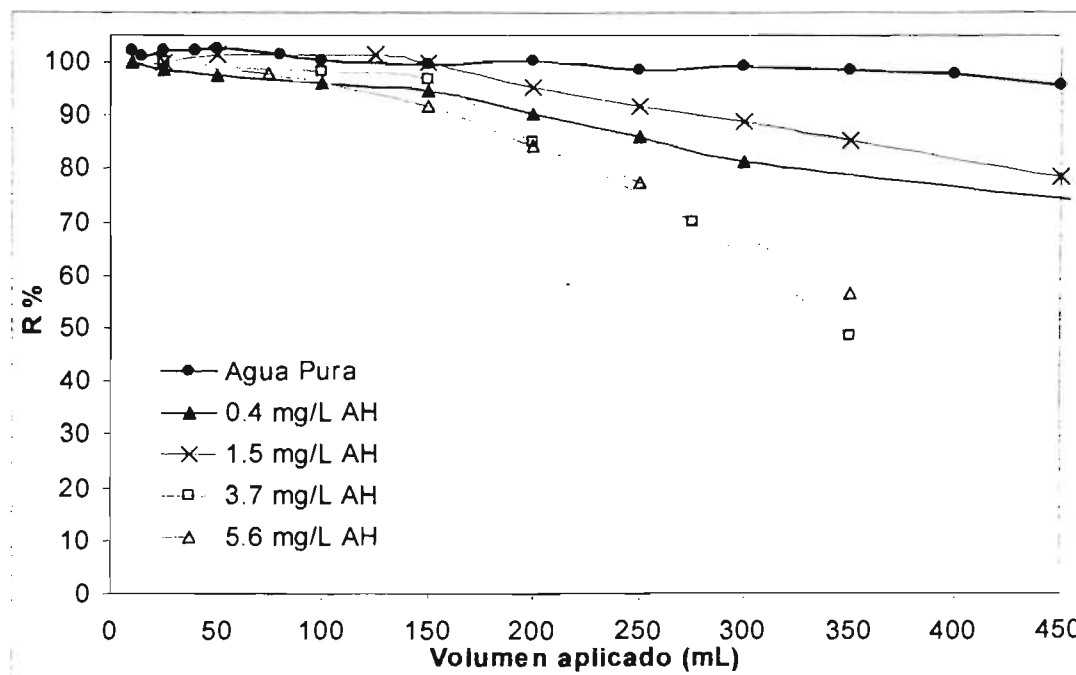


Figura 5.42. Curva de rendimiento porcentual de extracción de ALDICARB en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 4 niveles de concentración adicionadas con 0.4 µg de compuesto sobre fase PLRP-S.

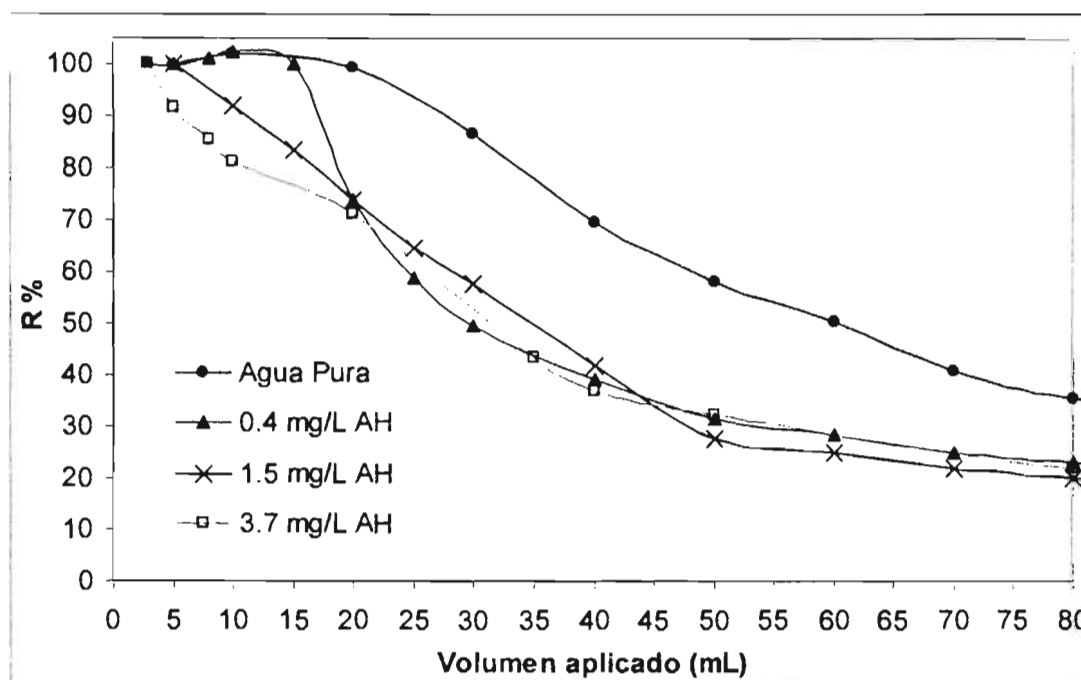


Figura 5.43. Curva de rendimiento porcentual de extracción de DEISOPROPILATRAZINA en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con 0.4 µg de compuesto sobre fase PLRP-S.

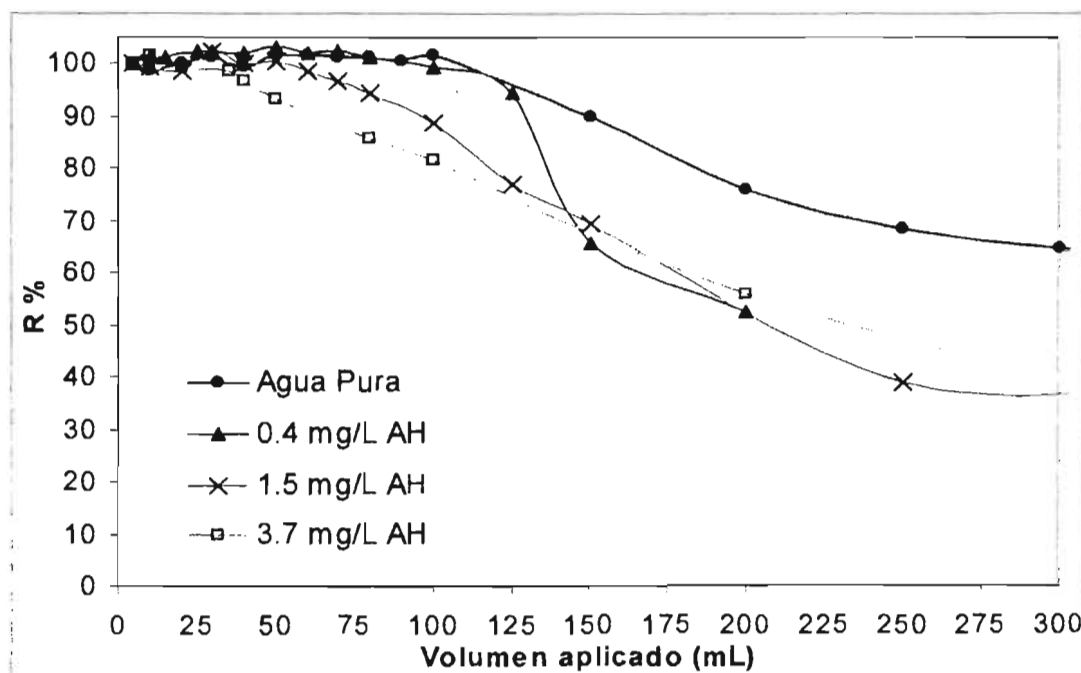


Figura 5.44. Curva de rendimiento porcentual de extracción de DESETILATRAZINA en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con 0.4 µg de compuesto sobre fase PLRP-S.

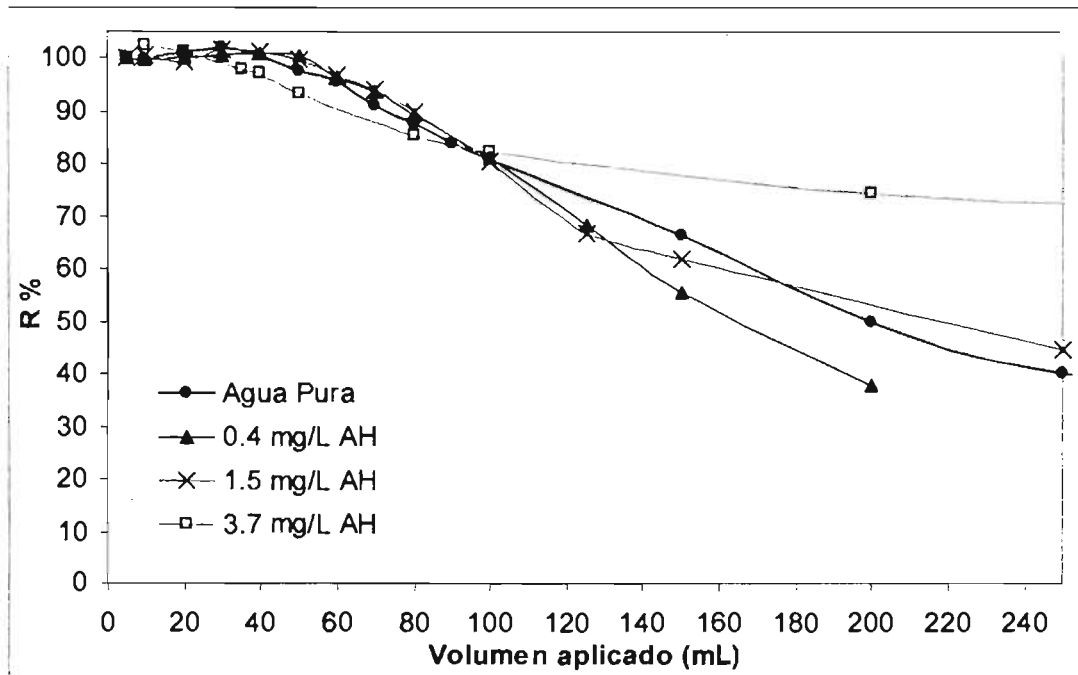


Figura 5.45. Curva de rendimiento porcentual de extracción de 2-HIDROXIATRAZINA en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S.

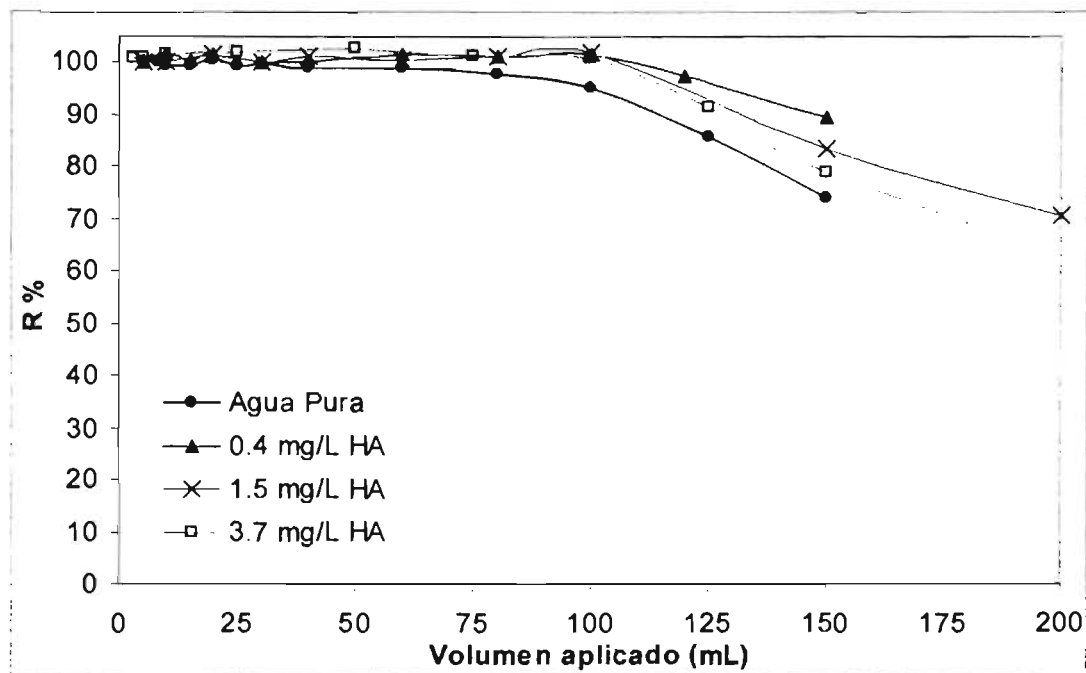


Figura 5.46. Curva de rendimiento porcentual de extracción de CIANAZINA en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.

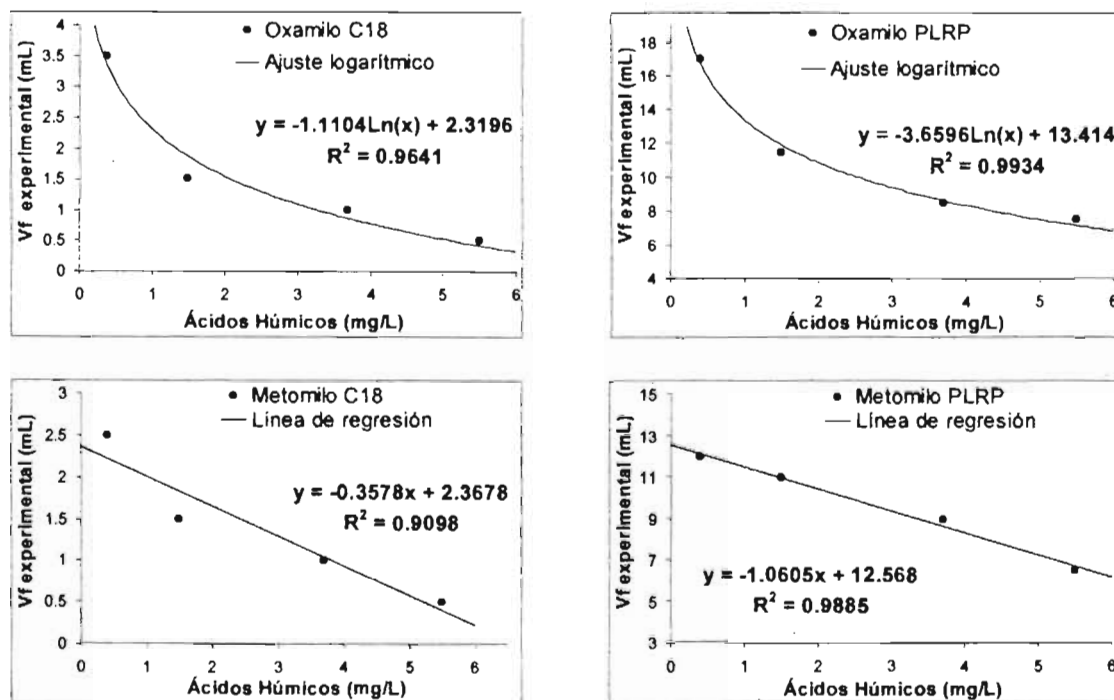
De acuerdo con los resultados anteriores, se puede afirmar de manera general que, conforme aumenta la concentración de AH el R% disminuye para los compuestos más polares. En algunos casos se nota que los R% son mayores en las muestras con los AH que en agua pura, como el 3-OH carbofurano y la 2-OH atrazina en C18, por lo que llama la atención que los compuestos que presentaron de manera más notable este comportamiento contengan al grupo OH en su estructura (ver anexo 1). Es posible que el grupo OH sea el causante del comportamiento descrito, dada su dependencia con el pH, aunque para 3-OH carbofurano no se reporta en la bibliografía un valor de pKa como para la 2-OH atrazina (5.0, según Coquart et al., 1993). El pH de las muestras de agua pura no se controló aunque sí se monitoreó manteniéndose relativamente constante entre 6 y 7, y para el caso de las muestras con AH, como se mencionó en el capítulo 4, se prepararon de modo que su pH estuviera entre 6-7. En ambas muestras se esperaría que los compuestos con grupo OH estuvieran ionizados y no tuvieran diferencias de retención con y sin ácidos húmicos sobre la fase C18 de preconcentración. Para encontrar una posible explicación sobre las diferencias entre los valores de R% en agua pura y en agua con AH, hay que remarcar que éstos se obtuvieron de una sal comercial; así que podría esperarse que las muestras con AH tuvieran algunos iones (no presentes en la muestra de agua pura) y esto haya provocado una diferencia en la retención de estos compuestos dada su ionización. Contrariamente a lo observado, se esperaría que la retención disminuyera si está interviniendo en cierto grado el mecanismo de intercambio iónico entre el analito ionizado y los grupos silanol de la fase estacionaria C18. Podría ser entonces que se diera un efecto parecido al "salting-out" que se da en el reparto entre disolventes cuando las sales aumentan la transferencia de los analitos a la fase orgánica.

Con el fin de evaluar mejor la magnitud de la influencia de la presencia y concentración de los AH sobre el R% de los pesticidas, se realizó la correlación del contenido de AH con el  $Vf_E$  para los compuestos que se vieron afectados. Las gráficas en las figuras 5.47 a 5.51 muestran la ecuación lineal o logarítmica, según el mejor ajuste, así como el coeficiente de correlación.

Los carbamatos oxamilo y metomilo presentaron una mayor tendencia a disminuir su rendimiento de extracción, como se puede apreciar en la figura 5.47. Comparando los R% obtenidos con la menor y la mayor concentración ensayada respectivamente de AH, Oxamilo disminuyó su R% en C18 un 71 % y en PLRP-S un 56 %. Metomilo disminuyó su R% en C18 un 60 % y en PLRP-S un 46 %.

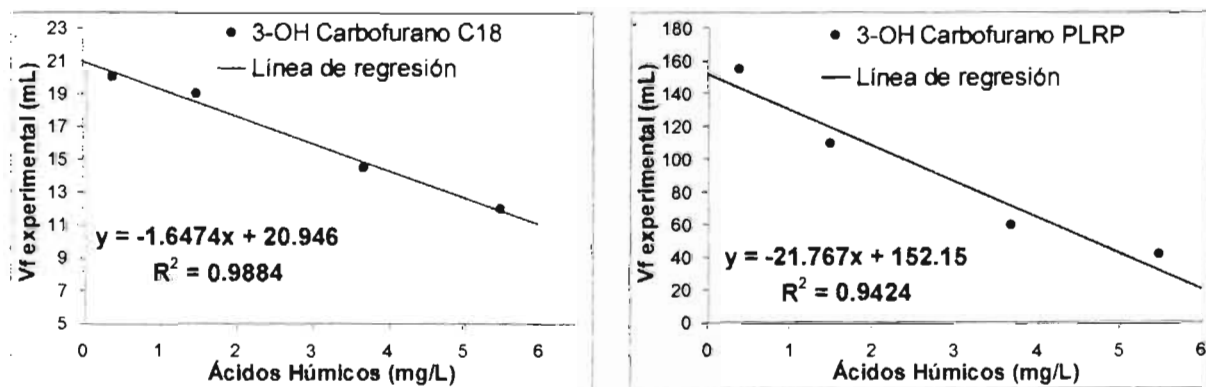
Se puede observar también de la figura 5.47 que el volumen de fuga de oxamilo presentó una dependencia logarítmica del contenido de AH en C18 y PLRP-S, dados los buenos coeficientes de correlación, mientras que metomilo presentó una dependencia lineal en ambas fases.





**Figura 5.47.** Puntos experimentales y líneas de regresión de los volúmenes de fuga en función del contenido de ácidos húmicos en la muestra aplicada a través de los adsorbentes C18 y PLRP-S para OXAMILO y METOMILO.

Por su parte, el compuesto 3-OH carbofurano (figura 5.48) también presentó buena correlación lineal entre los  $V_{fE}$  y el contenido de AH. El comportamiento de este compuesto en ambas fases también fue remarcablemente lineal, su R% disminuyó en C18 un 40 % y en PLRP-S un 73 %.



**Figura 5.48.** Puntos experimentales y líneas de regresión de los volúmenes de fuga en función del contenido de ácidos húmicos en la muestra aplicada a través de los adsorbentes C18 (izquierda) y PLRP-S (derecha) para 3-HIDROXICARBOFURANO.

El compuesto Aldicarb también presentó una marcada disminución en su R% con una concentración creciente de AH sobre ambas fases estudiadas como ya se discutió. El comportamiento de los  $V_{fE}$  en función del contenido de AH tendió a ser lineal sobre todo en C18, como se ve en la figura 5.49. En PLRP-S se presenta una buena correlación lineal cuando no se considera el valor correspondiente a 0.4 mg/L de AH, con el cual se obtuvo un rendimiento casi igual al del agua pura. Para este compuesto el R% disminuyó en C18 un 41 % y en PLRP-S un 27 %.

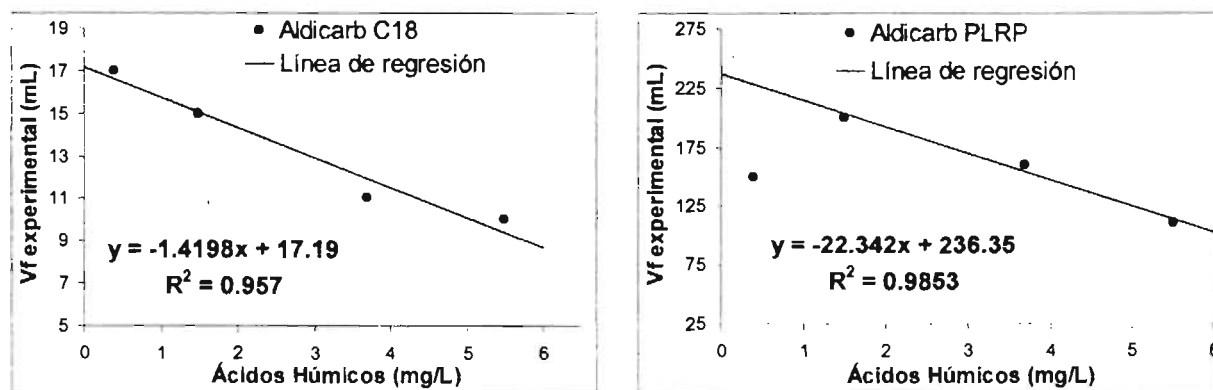


Figura 5.49. Puntos experimentales y líneas de regresión de los volúmenes de fuga en función del contenido de ácidos húmicos en la muestra aplicada a través de los adsorbentes C18 (izquierda) y PLRP-S (derecha) para ALDICARB.

En lo referente a la familia de las triazinas, sobre fase C18, los compuestos DIA y DEA no mostraron ser afectados por el contenido de AH, sin embargo, al ser preconcentrados sobre fase PLRP-S, sí mostraron claramente una tendencia a disminuir en su R%. El ajuste logarítmico en los datos del  $V_{fE}$  de estas dos triazinas al incrementarse el contenido de AH se aprecia en la figura 5.50. La disminución del R% fue de 75 % para DIA y de 64 % para DEA.

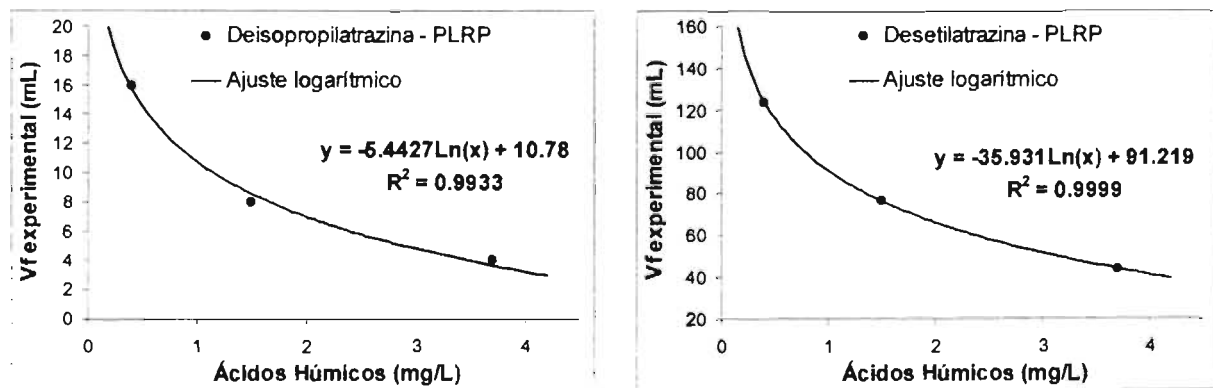


Figura 5.50. Puntos experimentales y líneas de regresión de los volúmenes de fuga en función del contenido de ácidos húmicos en la muestra aplicada a través del adsorbente PLRP-S para DEISOPROPILATRAZINA y DESETILATRAZINA.

En la figura 5.51 se observa el caso del compuesto 2-Hidroxiatrazina, que con el incremento de AH presentó una tendencia a disminuir de R% sobre la fase PLRP-S, y no sobre C18 (cuadros 5.4 y 5.5). La disminución de R% de este compuesto en PLRP-S fue de 31 %.

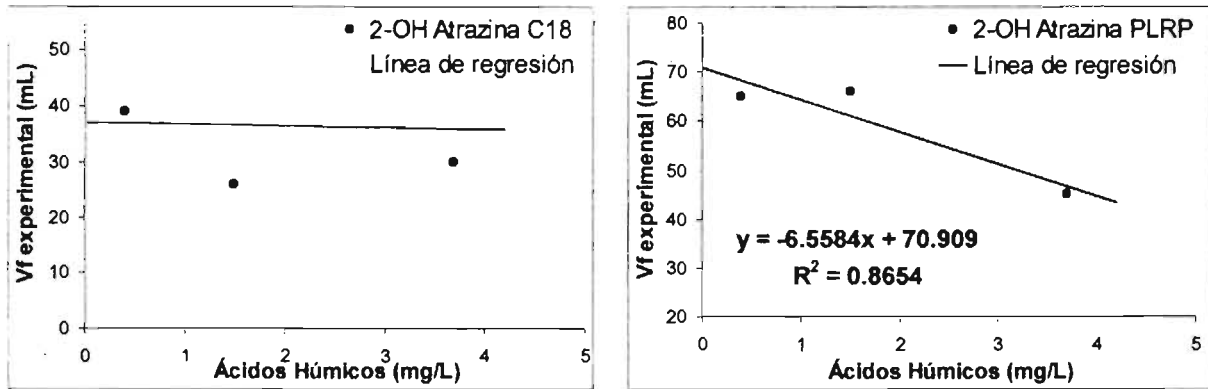


Figura 5.51. Puntos experimentales y líneas de regresión de los volúmenes de fuga en función del contenido de ácidos húmicos en la muestra aplicada a través de los adsorbentes C18 y PLRP-S para 2-HIDROXIATRAZINA.

Los comportamientos para el caso de las triazinas restantes: simazina, hexazinona, atrazina y simetrina, que no mostraron una tendencia apreciable a ser afectadas en su rendimiento de extracción por la concentración de AH sobre la fase C18, así como también monurón, diurón y los carbamatos baygón, carbofurano y carbarilo en C18, se ilustran en la figura 5.52.

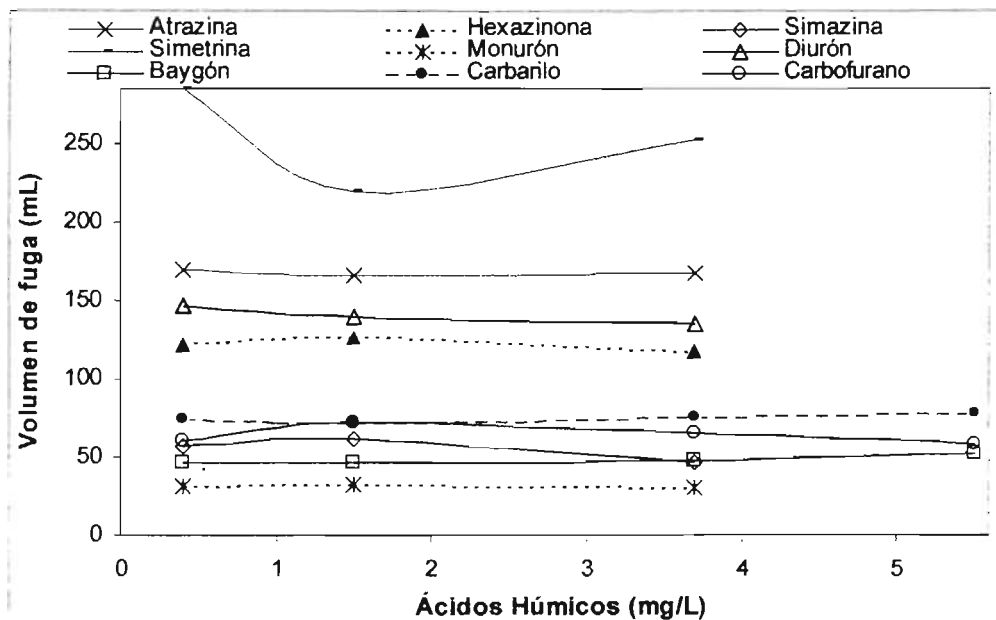


Figura 5.52. Curvas de volúmenes de fuga experimentales de 4 TRIAZINAS, 2 FENILUREAS y 3 CARBAMATOS en función del contenido de materia orgánica en la muestra aplicada a través de la fase estacionaria C18.

De acuerdo con las fuentes bibliográficas, se puede encontrar una posible explicación a los fenómenos de afectación del R% en presencia de materia orgánica: la formación de complejos analito-AH (referirse al apartado 3.3.1.2). Los diferentes comportamientos en C18 y PLRP-S para un mismo analito pueden deberse a los siguientes fenómenos: 1) sobre la fase C18, se forman complejos AH-analito que se fugan durante la preconcentración de la misma forma que lo haría el analito solo sin complejarse (caso de agua pura), es decir, no hay cambio en los valores de R%; 2) sobre la fase PLRP-S, los complejos AH-analito se fugan en mayor grado que el analito solo (caso del agua pura) porque la interacción de los anillos aromáticos de los grupos funcionales fenólicos de los AH con la red polimérica de la fase PLRP-S es menor y por tanto, durante la preconcentración en presencia de AH ocurre una fuga mayor del analito complejoado con AH, dependiente de la concentración. Así pues, también pudo haber cierta retención de los AH en sílice C18, disminuyendo el número de sitios activos para la retención de los analitos y por lo tanto provocando la fuga en volúmenes más cortos. Este fenómeno se corroboró al observar que el adsorbente presentó una coloración ámbar (característica de los AH) después de su uso.

El argumento que podría explicar por qué los R% en la fase C18 para los carbamatos y las fenilureas sí se afectaron a diferencia de las triazinas, descansa en posibles diferencias estructurales en la complejación de los pesticidas con los AH. Si la complejación AH-carbamato ocurriera, pero en menor grado que la complejación AH-triazina, se explicaría que los AH interaccionaran más con los grupos silanol de la fase C18, de tal manera que al no encontrarse los AH asociados a los carbamatos, éstos fugarían más que las triazinas por tener menos sitios disponibles de adsorción en la superficie del adsorbente. En el caso del adsorbente PLRP-S, el efecto negativo en los recobros pudo deberse a que los complejos AH-carbamato interaccionaron más débilmente con la fase polimérica que como lo hicieron sobre C18, por lo tanto se dio una fuga mayor.

Otro argumento que apoya esta teoría es que, si en los AH predominan los grupos aromáticos y polares fenólicos, esto facilita su interacción (electrones  $\pi-\pi$ ) y complejación principalmente con triazinas, las cuales también poseen dobles ligaduras en el anillo triazínico de su estructura básica (ver anexo 1), mientras que no todos los carbamatos tienen un anillo aromático. El compuesto 3-OH carbofurano por ejemplo, sí tiene un anillo aromático además de un grupo -OH polar que podría interaccionar con los grupos polares de los AH formando puentes de hidrógeno, lo cual explicaría que el  $V_f$  en C18 registrado para este compuesto se haya incrementado en presencia de AH con respecto al valor en agua pura, y que se viera afectado considerablemente en su R% al incrementar la concentración de AH en ambas fases de acuerdo con los argumentos anteriores (cuadros 5.4 y 5.5). Un razonamiento similar explicaría el comportamiento análogo de la 2-OH atrazina. Por su parte, el compuesto Baygón también tiene un grupo aromático pero no cuenta con algún sustituyente libre estéricamente y factible de formar puentes de H con los AH para que se compleje con éstos, lo que explica la no afectación de los R% observada en

presencia de AH para este compuesto tanto en C18 como en PLRP-S (cuadros 5.4 y 5.5) de acuerdo con los argumentos anteriores.

Lo anterior confirma la naturaleza compleja de las interacciones de AH-analito-adsorbente y da indicio de la importancia de estudiar a fondo los posibles complejos entre AH y carbamatos, triazinas y fenilureas, lo que contribuiría a entender mejor y posiblemente predecir de manera confiable el desempeño de la EFS en un diseño experimental con aguas naturales. En la actualidad pocos estudios se han realizado a este respecto y, para confirmar las hipótesis que se formularon anteriormente, se requerirían de ensayos más específicos y sofisticados que obviamente no están incluidos en los objetivos del presente trabajo.

### 5.3.3 MUESTRAS ACUOSAS NATURALES

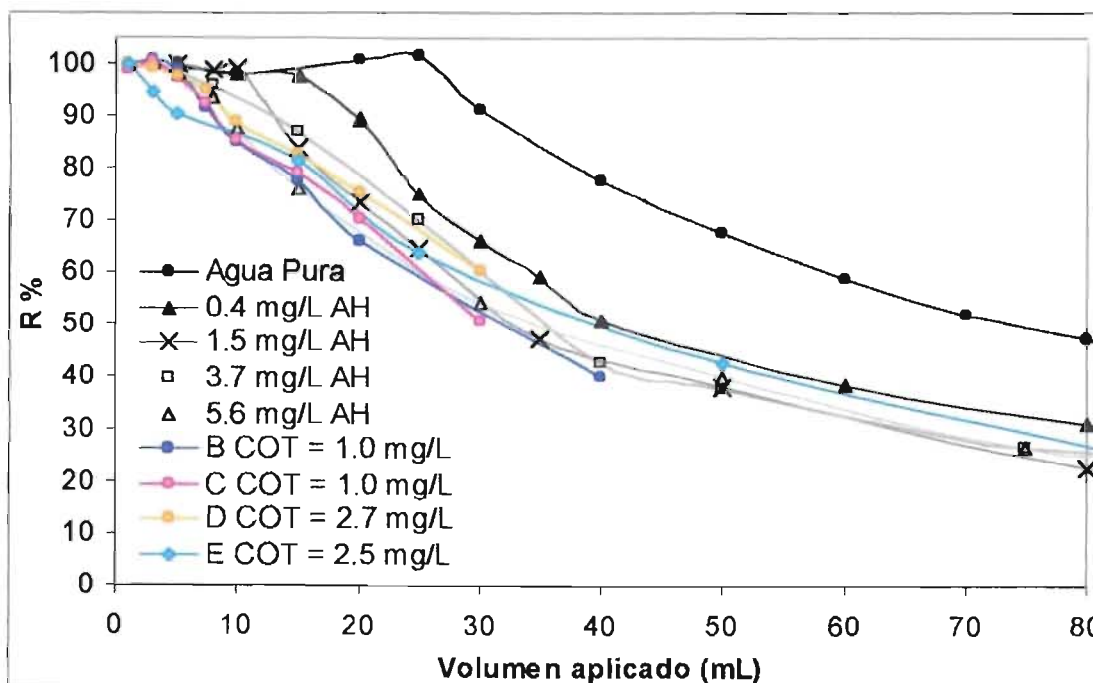
Con el objeto de conocer el contenido de materia orgánica disuelta (MOD) en diferentes muestras acuosas naturales y realizar comparaciones en los rendimientos obtenidos para los pesticidas con las muestras sintéticas con AH, las muestras naturales también fueron sometidas a la prueba de COT como se describió en el capítulo 4, los resultados se reportan en el cuadro 5.6. Se observa que las muestras presentaron un amplio intervalo en la concentración de carbono orgánico total.

**Cuadro 5.6** Carbono orgánico total (COT) en las muestras acuosas naturales.

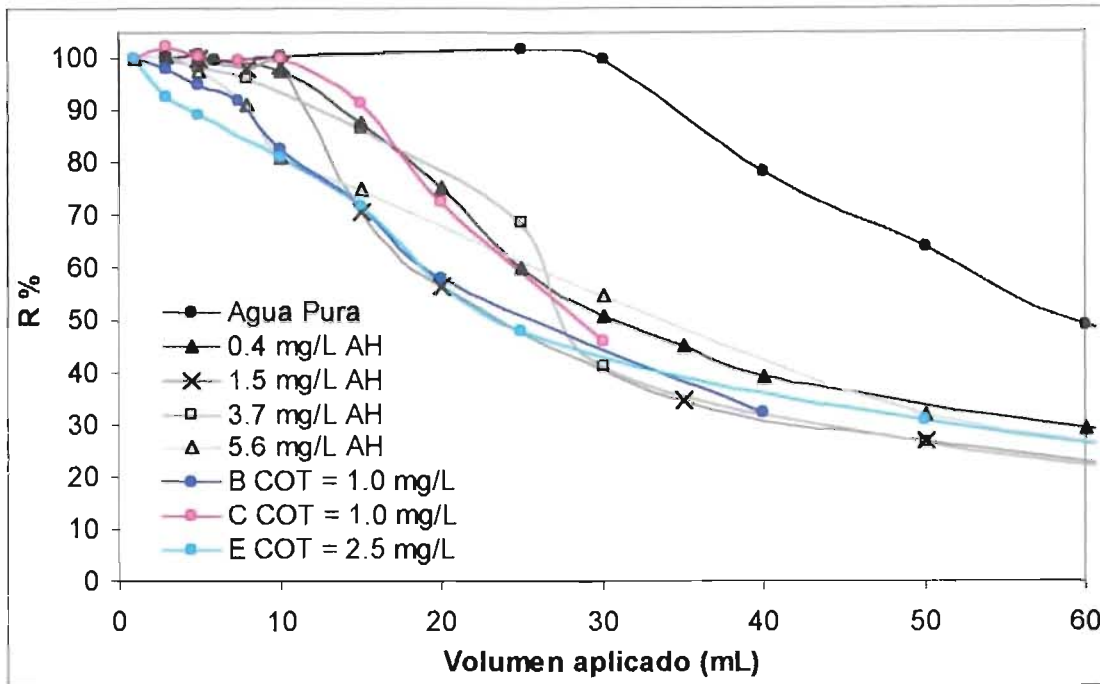
Letra de identificación	Tipo de muestra	COT (mg/L)
A	Agua de Manantial	0.5
B	Agua Subterránea	1.0
C	Agua Mineral	1.0
D	Agua de Grifo	2.7
E	Agua de Río	2.5
F	Agua de Río	2.3
G	Agua de Presa	4.2
H	Agua de Lago	4.4
I	Agua de Lago	4.3
J	Agua de Lago	6.4

En las figuras 5.53 a 5.55 se presentan las gráficas de las curvas de rendimiento de extracción de oxamilo, metomilo y DIA en agua pura sobre fase PLRP-S, junto con las muestras sintéticas con AH a diferentes concentraciones y las obtenidas en las muestras naturales B, C, D y E, según se describe en el apartado 4.5.2.

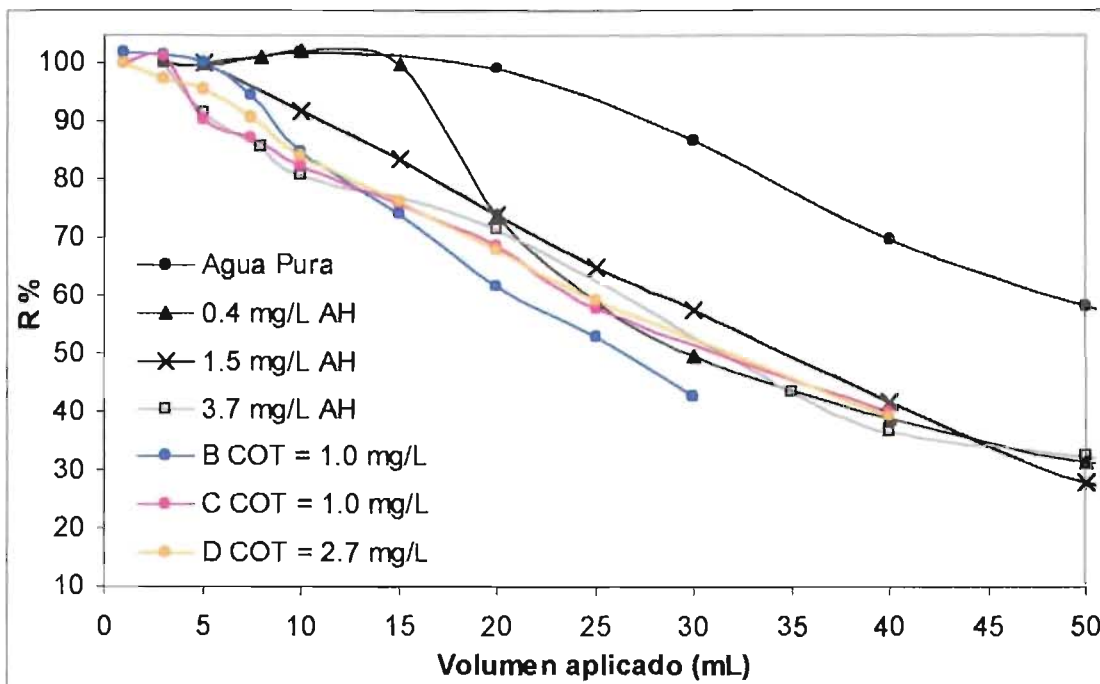
En primera instancia, puede observarse de las gráficas que en general las curvas de  $R\% = f(\text{volumen aplicado})$  obtenidas con las muestras naturales se ajustaron a la zona donde se registraron las curvas con las muestras sintéticas, es decir, por debajo de las curvas con el agua pura. Se determinó el volumen de fuga experimental de cada compuesto en cada curva y se comparó con el volumen de fuga calculado al interpolar el valor de COT de las muestras naturales en las curvas de regresión de la relación  $Vf_E = f(\text{contenido de AH})$  presentadas en la sección anterior. Estos datos se muestran en el cuadro 5.7, donde también se incluyen los coeficientes de correlación ( $R^2$ ) de las curvas de ajuste de acuerdo con el tipo de regresión realizado.



**Figura 5.53.** Curvas de rendimiento porcentual de extracción de OXAMILO en agua pura, en agua con ácidos húmicos a 4 niveles de concentración (escala de grises) y en 4 muestras de agua natural (color) adicionadas con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S.



**Figura 5.54.** Curvas de rendimiento porcentual de extracción de METOMILO en agua pura, en agua con ácidos húmicos a 4 niveles de concentración (escala de grises) y en 3 muestras de agua natural (color) adicionadas con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S.



**Figura 5.55.** Curvas de rendimiento porcentual de extracción de DEISOPROPILATRAZINA en agua pura, en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración (escala de grises) y en 3 muestras de agua natural (color) adicionadas con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S.

**Cuadro 5.7** Volúmenes de fuga interpolados y experimentales en aguas naturales para oxamilo, metomilo y deisopropilatrazina en PLRP-S

MUESTRA	COT (mg/L)	Vf (mL) INTERPOLADOS Y EXPERIMENTAL					
		Oxamilo		Metomilo		Deisopropilatrazina	
		Interpolado logaritmica R <sup>2</sup> =0.9934	Experimental	Interpolado lineal R <sup>2</sup> =0.9885	Experimental	Interpolado logaritmica R <sup>2</sup> =0.9933	Experimental
A	0.5	16.0	-	12.0	-	14.6	-
B	1.0	13.2	6.5	11.5	5.00	10.6	7.00
C	1.0	13.2	6.0	11.5	13.00	10.6	4.00
D	2.7	9.8	7.5	9.8	-	5.5	5.00
E	2.5	10.0	3.0	9.9	2.50	5.8	-
F	2.3	10.4	-	10.1	-	6.3	-
G	4.2	8.2	-	8.1	-	3.0	-
H	4.4	8.0	-	7.8	-	2.7	-
I	4.3	8.1	-	8.0	-	2.8	-
J	6.4	6.6	-	5.8	-	0.7	-

- = no determinado

Los volúmenes de fuga experimentales para el caso de muestras naturales no corresponden a los esperados de acuerdo con las correlaciones realizadas de  $V_{fE}$  en función del contenido de MOD. Todos los valores de  $V_{fE}$  en aguas naturales son menores al valor esperado excepto para el metomilo en la muestra C. Cabe destacar que la muestra cuyos valores son los más cercanos a los esperados es la D, que corresponde al agua de grifo. Por lo tanto, se deduce que la disminución en el rendimiento o recobro al preconcentrar muestras reales reportada en la bibliografía, no se debe solamente a la presencia de los AH en las muestras, sino también a otro tipo de compuestos interferentes, entre ellos pueden considerarse a otros contaminantes, los iones inorgánicos (algunos de ellos presentes en concentraciones mayores que los contaminantes), detergentes o surfactantes iónicos, etc., que pudieran estar presentes en las muestras naturales.

En las figuras 5.56 y 5.57 se muestran en colores los puntos correspondientes al rendimiento obtenido para 3-hidroxycarbofurano y DEA a volumen aplicado fijo con las muestras A, E, F, G, H, I y J sobre fase PLRP-S, con el fin de verificar si caen en las curvas de rendimiento en presencia de AH correspondientes o cercanas a su nivel de MOD presentadas en la sección anterior.



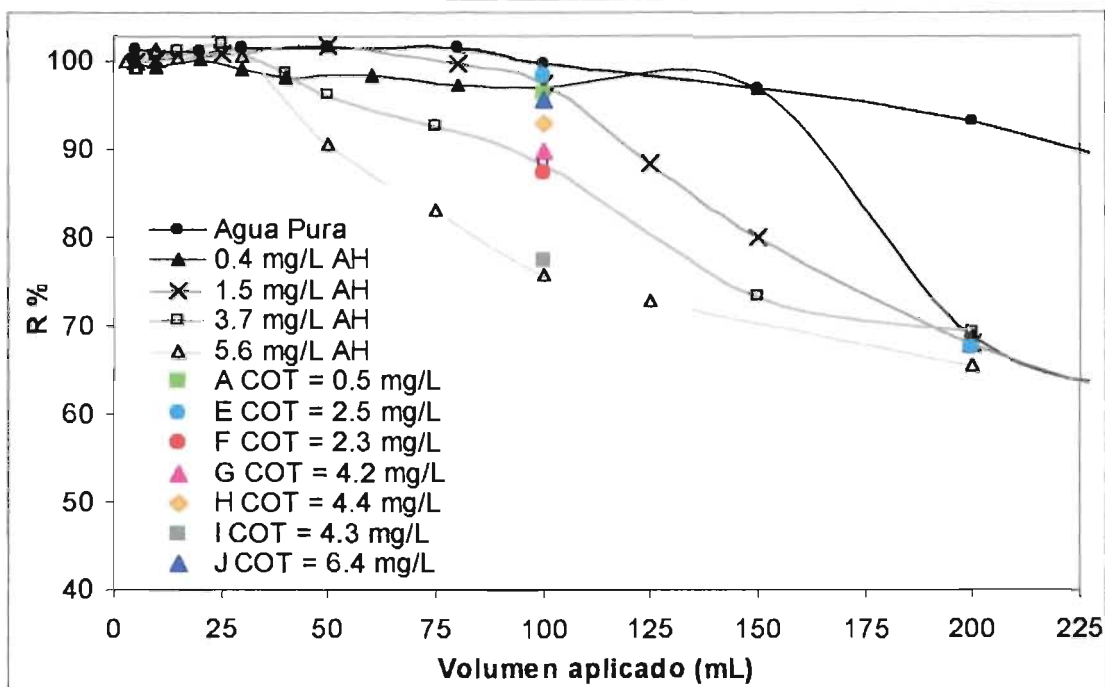


Figura 5.56. Curvas de rendimiento porcentual de extracción de 3-HIDROXICARBOFUANO en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 4 niveles de concentración (escala de grises), y rendimientos puntuales de extracción en 7 muestras de 100 mL de agua natural y 1 de 200 mL (color) adicionadas con 0.4  $\mu$ g de compuesto sobre fase PLRP-S.

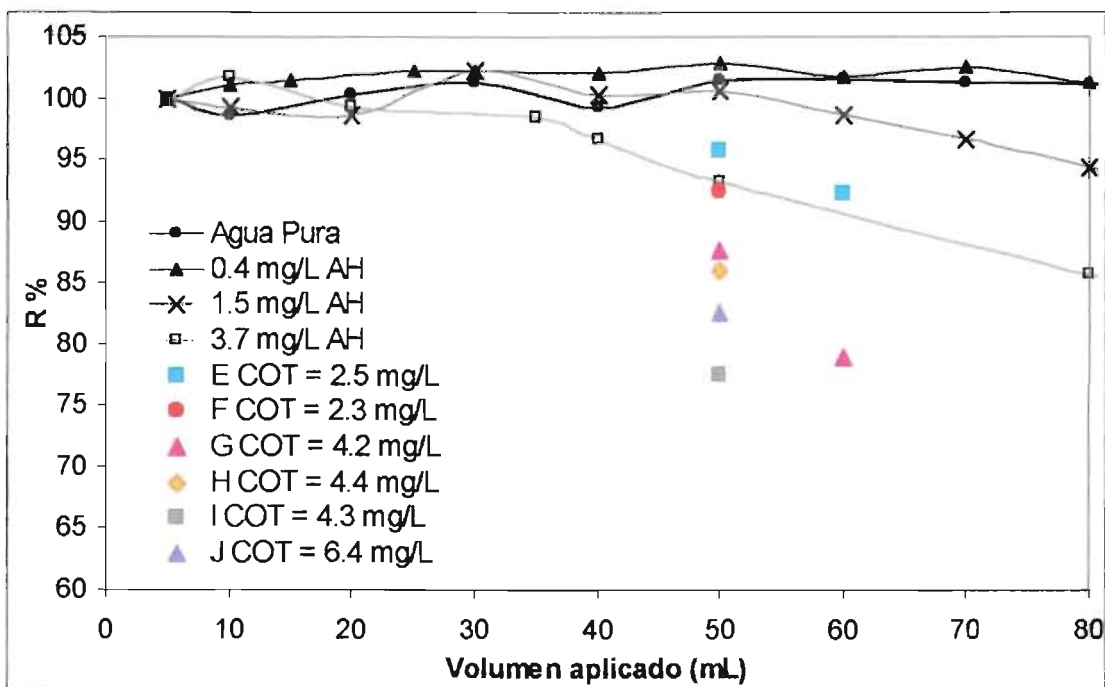


Figura 5.57. Curvas de rendimiento porcentual de extracción de DESETILATRAZINA en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración (escala de grises), y rendimientos puntuales de extracción en 6 muestras de 50 mL y 2 de 60 mL agua natural (color) adicionadas con 0.4  $\mu$ g de compuesto sobre fase PLRP-S.

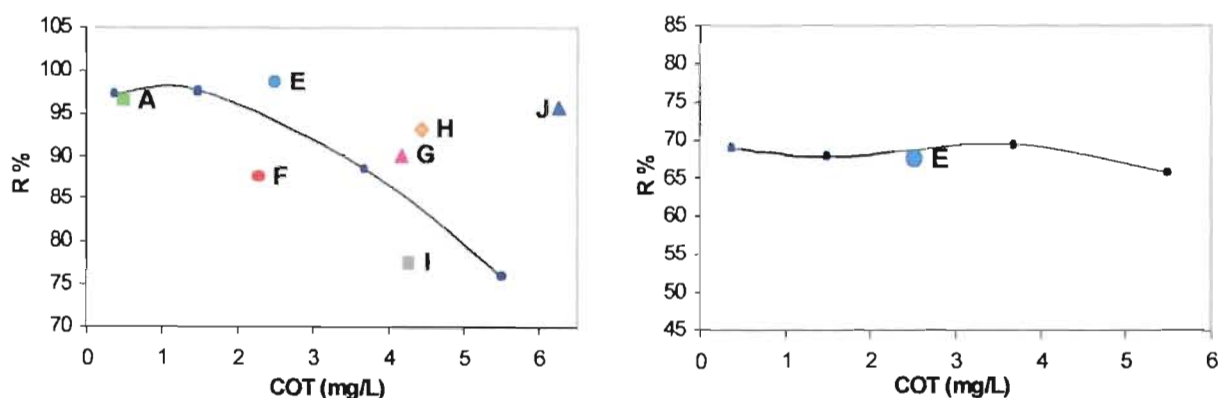
Lo ideal al estudiar los volúmenes de muestra natural aplicada para determinar R% de 3-OH carbofurano y DEA, hubiera sido obtener las curvas completas como en el caso de los plaguicidas más polares, desafortunadamente esto no se realizó dado que se contaba con un volumen de muestra limitado. Para interpretar más fácilmente las gráficas anteriores, se presenta en el cuadro 5.8 los R% obtenidos con la muestra de agua pura, sintéticas (a diferentes concentraciones de AH) y las muestras naturales. Se han ordenado las distintas muestra en orden creciente del valor de COT, para facilitar la comparación y verificar las concordancias entre lo obtenido y lo esperado.

Al observar los datos, se puede decir que aunque los valores de R% no se ajustaron perfectamente al valor esperado de acuerdo con los resultados con las muestras sintéticas, se puede afirmar que en general los datos sí se aproximan aunque la dispersión es mayor. Algunos valores de R% son superiores a lo esperado, considerando la tendencia a la baja en función del aumento en la MOD (muestra H y J para el 3-OH carbofurano). En estas muestras tendría que considerarse la influencia de la presencia de otros componentes como los detergentes o tensoactivos provenientes de la actividad humana. Cabe notar que estas muestras de aguas superficiales estaban en contacto muy cercano con asentamientos humanos importantes.

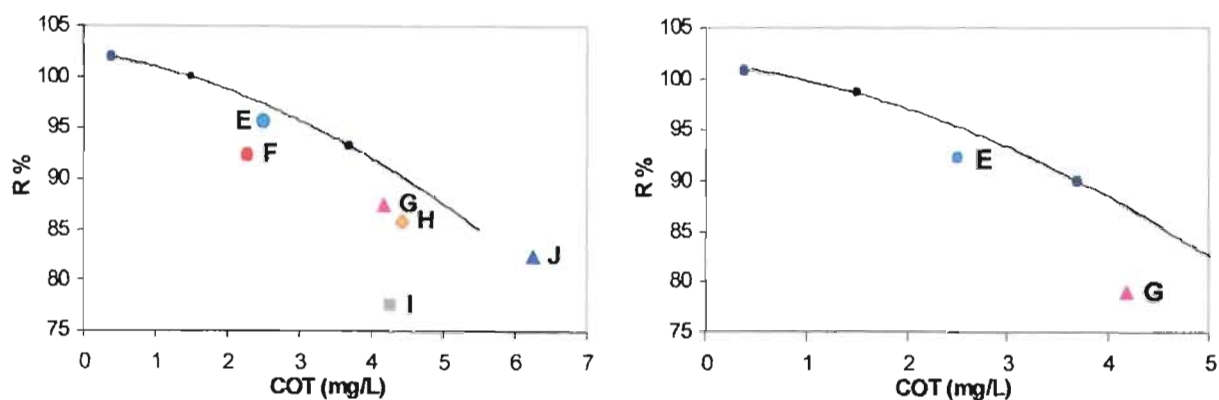
**Cuadro 5.8** Rendimientos porcentuales obtenidos para 3-OH Carbofurano y Desetilatrazina al percolar los volúmenes ensayados en las muestras naturales y los rendimientos correspondientes a las muestras sintéticas y agua pura.

MUESTRA	COT (mg/L)	RENDIMIENTO PORCENTUAL R% (según volumen percolado)			
		3-OH CARBOFURANO		DESETILATRAZINA	
		100 mL	200 mL	50 mL	60 mL
Agua pura	-	<b>99.9</b>	<b>93.2</b>	<b>101</b>	<b>101</b>
Sintética	0.4	<b>97.2</b>	<b>69</b>	<b>102</b>	<b>101</b>
A	0.5	96.5	-	-	-
Sintética	1.5	<b>97.7</b>	<b>67.9</b>	<b>100</b>	<b>98.6</b>
F	2.3	87.6	-	92.4	-
E	2.5	98.6	67.7	95.7	92.2
Sintética	3.7	<b>88.6</b>	<b>69.3</b>	<b>93.3</b>	<b>90</b>
G	4.2	90.1	-	87.6	79.0
I	4.3	77.5	-	77.6	-
H	4.4	93.3	-	86.0	-
Sintética	5.6	<b>75.9</b>	<b>65.6</b>	-	-
J	6.4	95.8	-	82.5	-

En las figuras 5.58 y 5.59 se observan de manera gráfica los datos de R% y COT del cuadro 5.8 para 3-hidroxicarbofurano y para DEA, respectivamente. En general se observó buen ajuste de los R% de volúmenes fijos de muestras naturales a los esperados por las muestras sintéticas. El R% disminuye al aumentar el valor de COT tanto en las muestras sintéticas (curva negra) como en las muestras naturales (puntos aislados). En los datos del cuadro 5.8 también puede notarse una clara disminución en R% al pasar de 100 mL a 200 mL de muestra como sucede en las curvas completas. La DEA también bajó sus R% en función de COT al pasar de 50 a 60 mL de volumen percolado. Así, se vuelve a demostrar el efecto negativo sobre R% de la MOD.



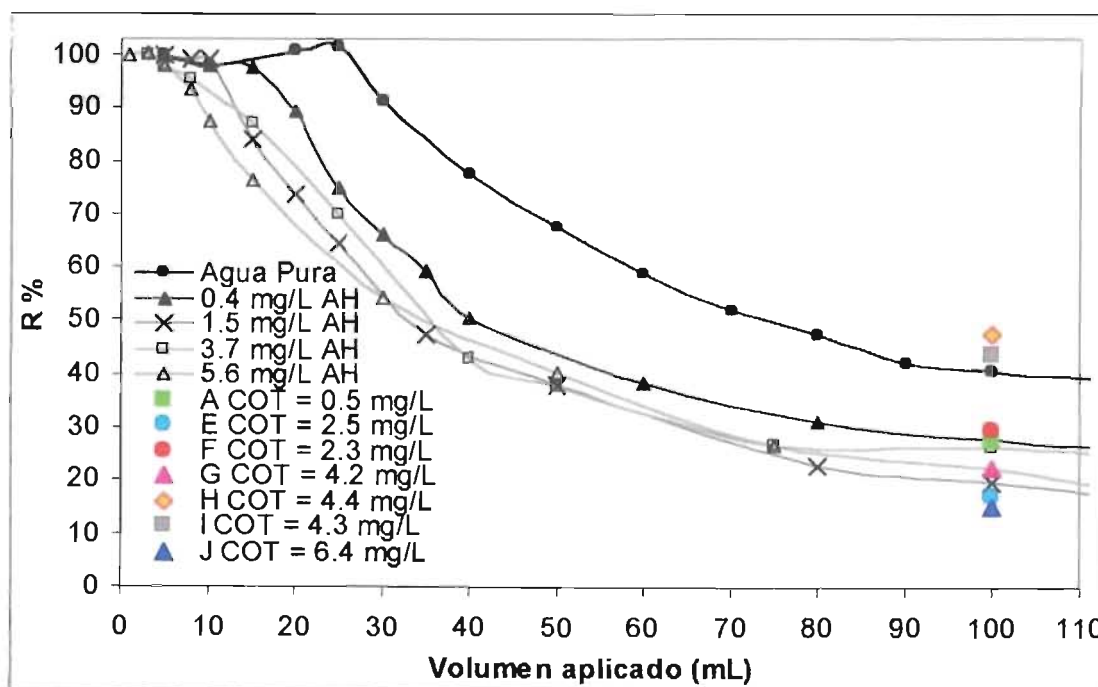
**Figura 5.58** Valores de rendimiento porcentual (R%) de 3-OH CARBOFURANO para un volumen fijo de 100 mL (izquierda) y de 200 mL (derecha), en función del carbono orgánico total (COT) de las muestras sintéticas (línea) y las muestras reales (puntos aislados). Simbología igual que en figura 5.56.



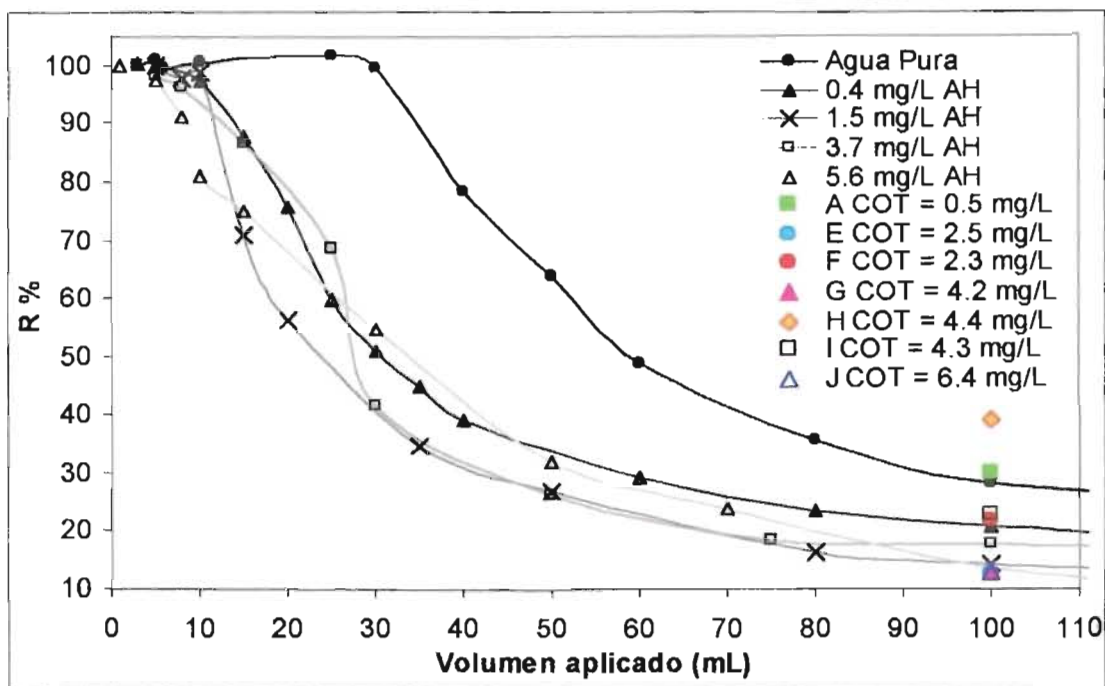
**Figura 5.59** Valores de rendimiento porcentual (R%) de DESETILATRAZINA para un volumen fijo de 50 mL (izquierda) y de 60 mL (derecha), en función del carbono orgánico total (COT) de las muestras sintéticas (línea) y las muestras reales (puntos aislados). Simbología igual que en figura 5.57.

La muestra E presentó valores de R% para DEA muy aproximados a lo esperado y para 3-OH carbofurano se acercó bastante. En este caso, aunque se trató de una muestra con un COT relativamente alto (2.5 mg/L), proviene del río San Rafael (Chapa de Mota, Edo. de Méx.) cuyo grado de contaminación aún no es muy alto (las aguas se encuentran aún límpidas y se practica la pesca), el que quizá no sea el caso de la muestra F (río Chuinalapan) que, aunque también es de río y con un valor de COT menor, es posible que contenga otro tipo de contaminantes inorgánicos interferentes de importancia para el estudio de la EFS. De esto se desprende la importancia de estudiar también el efecto de la materia inorgánica presente en las muestras naturales sobre la EFS, así como su caracterización más completa (pH y conductividad *in situ*).

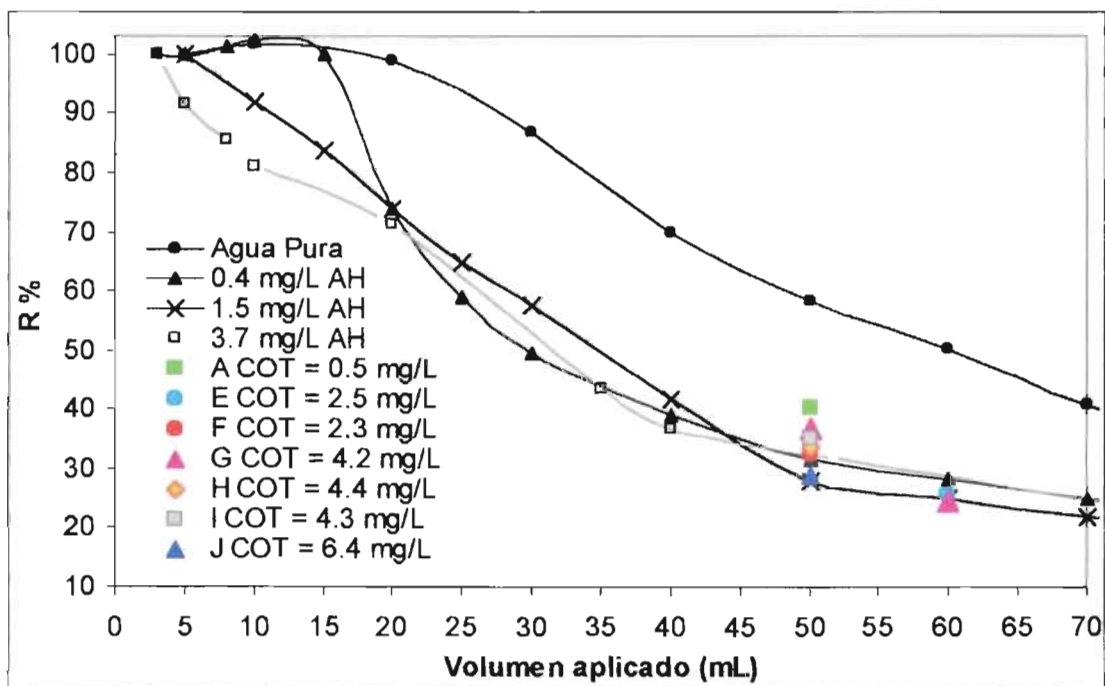
Como consecuencia de haber inyectado mezclas, también se registraron datos de R% a los mismos volúmenes fijos para oxamilo, metomilo y DIA. Estos puntos se presentan en color sobrepuestos a las curvas de R% del agua sintética a diferentes concentraciones de AH y del agua pura (figuras 5.60 a 5.62).



**Figura 5.60.** Curvas de rendimiento porcentual de extracción de OXAMILO en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 4 niveles de concentración (escala de grises), y rendimientos puntuales de extracción en 7 muestras de 100 mL de agua natural (color) adicionadas con 0.4 µg de compuesto sobre fase PLRP-S.



**Figura 5.61.** Curvas de rendimiento porcentual de extracción de METOMILO en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 4 niveles de concentración (escala de grises), y rendimientos puntuales de extracción en 7 muestras de 100 mL de agua natural (color) adicionadas con 0.4 µg de compuesto sobre fase PLRP-S.



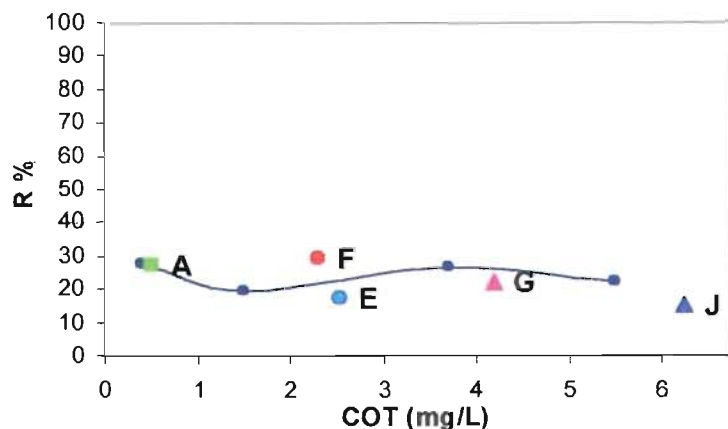
**Figura 5.62.** Curvas de rendimiento porcentual de extracción de DEISOPROPILATRAZINA en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración (escala de grises), y rendimientos puntuales de extracción en 7 muestras de 50 mL y 2 de 60 mL de agua natural (color) adicionadas con 0.4 µg de compuesto sobre fase PLRP-S.

Para interpretar más fácilmente las gráficas de  $R\% = f(\text{volumen percolado})$  para oxamilo, metomilo y DIA en PLRP-S, en el cuadro 5.9 se reagrupan sus  $R\%$  en agua pura, en las muestras sintéticas y en las naturales. En este cuadro se observó un muy buen ajuste global de los puntos ensayados en muestras reales con los puntos correspondientes a las aguas sintéticas de valor en COT parecido, lo que confirma la validez de éstas, sin dejar de lado que en esta ocasión los volúmenes ensayados se ubicaron en la parte final o "cola" de las curvas de  $R\% = f(\text{volumen aplicado})$ , donde la mayoría de los datos se estabilizan. Es decir, que los puntos se localizan en la "cola" de la curva donde idealmente, los volúmenes de muestra corresponden a la máxima cantidad que puede ser preconcentrada en el sistema de extracción.

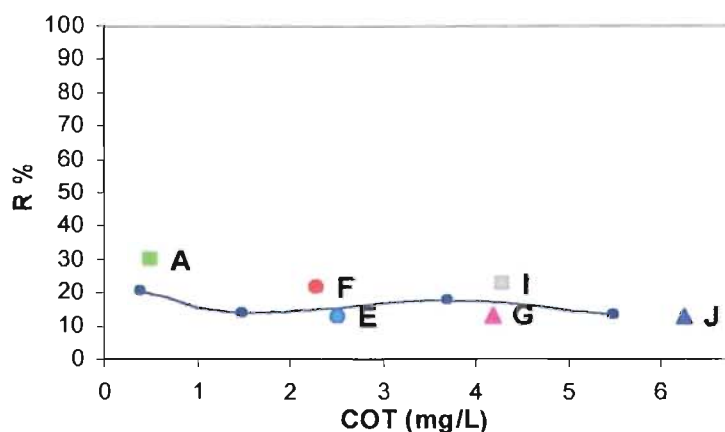
En las figuras 5.63, 5.64 y 5.65 se reportan de manera gráfica los datos del cuadro 5.9 de  $R\%$  a volumen fijo en función del COT para oxamilo, metomilo y DIA, respectivamente. Se observa muy buen ajuste de los puntos de  $R\%$  experimentales en muestras de agua natural con la línea o tendencia marcada por los  $R\%$  de muestras sintéticas. También se observa la tendencia constante del  $R\%$ , ya que los volúmenes ensayados fueron mayores al  $V_f$  y cercanos a  $V_m$ . La dispersión puede deberse al error experimental y a la compleja matriz que representan las muestras de agua superficial natural.

**Cuadro 5.9** Rendimientos porcentuales obtenidos sobre PLRP-S para oxamilo, metomilo y DIA al aplicar los volúmenes ensayados en las muestras naturales y los rendimientos correspondientes a las muestras sintéticas y agua pura.

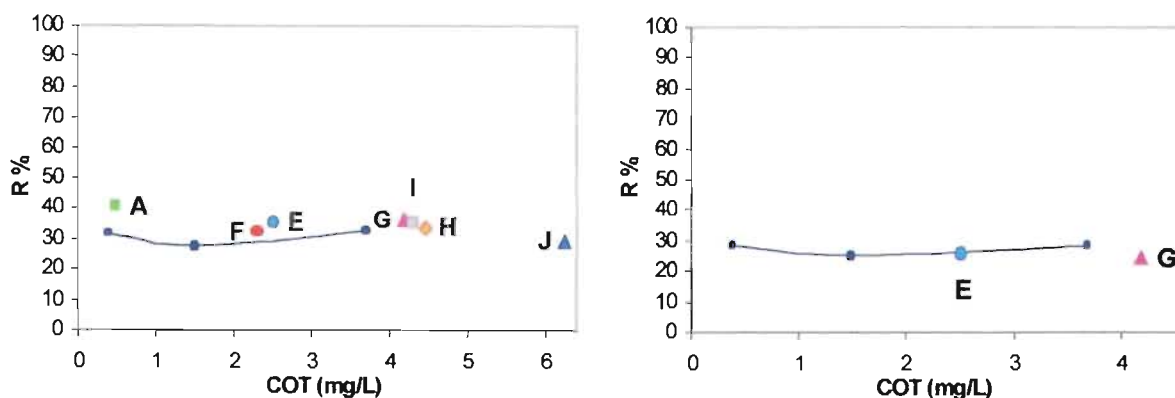
MUESTRA	COT (mg/L)	RENDIMIENTO PORCENTUAL $R\%$ (según volumen aplicado)			
		Oxamilo	Metomilo	Deisopropilatrizona	
		100 mL	100 mL	50 mL	60 mL
Agua pura	-	<b>40.6</b>	<b>28.3</b>	<b>58.2</b>	<b>50.2</b>
Sintética	0.4	<b>27.6</b>	<b>20.9</b>	<b>31.5</b>	<b>28.4</b>
A	0.5	27.4	29.9	40.2	-
Sintética	1.5	<b>19.6</b>	<b>14.4</b>	<b>27.8</b>	<b>25.0</b>
F	2.3	29.6	21.7	32.3	-
E	2.5	17.2	12.9	35.2	25.45
Sintética	3.7	<b>26.4</b>	<b>17.7</b>	<b>32.5</b>	<b>28.0</b>
G	4.2	22.3	13.4	36.6	24.4
I	4.3	43.6	22.8	35.1	-
H	4.4	47.5	39.1	33.8	-
Sintética	5.6	<b>22.3</b>	<b>13.8</b>	-	-
J	6.4	15.3	13.1	29.1	-



**Figura 5.63** Valores de rendimiento porcentual (R%) de OXAMILO para un volumen fijo de 100 mL, en función del carbono orgánico total (COT) de las muestras sintéticas (línea) y las muestras reales (puntos aislados). Simbología igual que en figura 5.60.



**Figura 5.64** Valores de rendimiento porcentual (R%) de METOMILO para un volumen fijo de 100 mL, en función del carbono orgánico total (COT) de las muestras sintéticas (línea) y las muestras reales (puntos aislados). Simbología igual que en figura 5.61.



**Figura 5.65** Valores de rendimiento porcentual (R%) de DEISOPROPILATRAZINA para un volumen fijo de 50 mL (izquierda) y 60 mL (derecha), en función del carbono orgánico total (COT) de las muestras sintéticas (línea) y las muestras reales (puntos aislados). Simbología igual que en figura 5.62.

Se encontraron algunos datos que presentaron una mayor dispersión (no integrados en las gráficas) y que correspondieron a las muestras H (lago de Catemaco) para oxamilo y metomilo, así como la muestra I (cascada El salto) para oxamilo; sin embargo, estas dispersiones parecen aceptables si se observa la ubicación de estos puntos (I y H) en las curvas de  $R\% = f(\text{volumen})$  de las figuras 5.62 y 5.63. Es posible que las dispersiones encontradas con estas muestras se deban a su propia naturaleza, de hecho son muestras con contenido muy alto de MOD (4.3 y 4.5 mg/L COT, respectivamente), sin embargo, si se observó un buen ajuste con estas muestras para el caso de la DIA, que es una triazina, aunque llama la atención que se hayan observado estas dispersiones para ambos carbamatos.



---

## CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES

- ◆ Este estudio que incluye diferentes niveles de ácidos húmicos y un grupo variado de pesticidas, no se había realizado antes. Se encontró un efecto negativo en el rendimiento de extracción en fase sólida de los analitos estudiados dependiendo de la presencia y concentración de ácidos húmicos en las muestras acuosas y que se dirige más notablemente hacia los compuestos más polares como son: oxamilo, metomilo, 3-hidroxicarbofurano, deisopropilatrazina y desetilatrazina.
- ◆ Se encontraron diferencias en la afectación del rendimiento de extracción entre los tres grupos de pesticidas estudiados, disparidades debidas posiblemente a las interacciones con los AH, de naturaleza estructural, y que por consiguiente radican en la polaridad y en las interacciones electrónicas.
- ◆ Se encontraron posibles evidencias de la existencia de complejos ácidos húmicos-pesticida que interfieren en el desempeño de la extracción en fase sólida en muestras acuosas con un contenido de materia orgánica disuelta variable.
- ◆ La presencia de materia orgánica disuelta por si sola no explica las afectaciones encontradas en el rendimiento y desempeño de adsorbentes en la extracción en fase sólida para los compuestos estudiados en aguas naturales. Es necesario estudiar también el efecto de la materia inorgánica como son sales, surfactantes, etc.
- ◆ Para continuar con este tipo de estudios es necesario entonces obtener más datos sobre la influencia de la materia orgánica e inorgánica en la desviación de los valores del rendimiento de extracción con respecto a los obtenidos con agua purificada y desmineralizada para compuestos orgánicos con polaridades variadas. El conjunto de estos datos podría proporcionar elementos para encontrar factores de corrección en función de la concentración de materia orgánica e inorgánica.

Estos factores serían de gran utilidad para realizar predicciones de extracción en fase sólida para el desarrollo de los métodos analíticos de preparación de muestras acuosas para la determinación de microcontaminantes.

## CAPÍTULO 7. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, C., Borrull, F., Marcé, R.M. (1996) On-line and off-line solid-phase extraction with styrene-divinylbenzene-membrane extraction disks for determining pesticides in water by reversed-phase liquid chromatography-diode array detection. *J. Chromatogr. A* 754:77-84.
- Alvarado Cruz, M.I. (2003) Influencia de la cantidad de adsorbente y el volumen de muestra en los parámetros de la extracción en fase sólida de contaminantes orgánicos en agua. Tesis de licenciatura en Química. Facultad de Química, UNAM. México D.F.
- Báez, M.E., Rodríguez, M., Lastra, O., Contreras, P. (1997) Solid phase extraction of organophosphorus, triazine, and triazole-derived pesticides from water samples. A critical study. *J. High Resol. Chromatogr.* 20:591-596.
- Barceló, D. (1993) Environmental Protection Agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in water. *J. Chromatogr. A* 643: 117-143.
- Barceló, D., Hennion, M.C. (1997) Trace determination of pesticides and their degradation products in water, Elsevier, Amsterdam, p. 249.
- Bernal, M. (2000) Determinación simultánea de plaguicidas carbamatos en muestras de acuíferos provenientes de una zona agrícola. Tesis Maestría en Ciencias Químicas. Fac. de Química, UNAM. México D.F.
- Bodor, N., Huang, M. An extended version of a novel method for the estimation of partition coefficients. *J. Pharmaceutical Sci.* 81:272-281
- Braumann, T. (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
- Braumann, T., Grimme, H. (1981) Determination of hydrophobic parameters for pyridazinone herbicides by liquid-liquid partition and reversed-phase high-performance liquid chromatography *J. Chromatogr.* 206: 7-15
- Braumann, T., Weber G., Grimme, H. (1983) Quantitative structure-activity relationships for herbicides. Reversed-phase liquid chromatographic retention parameter, log  $k_w$ , versus liquid-liquid partition coefficient as a model of the hydrophobicity of phenylureas, s-triazines and phenoxy-carbonic acid derivatives. *J. Chromatogr. A* 261:329-343
- Carneiro, M.C., Puignou, L., Galceran, M.T. (2000) Comparison of silica and porous graphitic carbon as solid-phase extraction materials for the analysis of cationic herbicides in water by liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Anal. Chim. Acta* 408:263-269
- Chiron, S., Barceló, D. (1993) Determination of pesticides in drinking water by on-line solid-phase disk extraction followed by various liquid chromatographic systems. *J. Chromatogr. A* 645:125-134
- Chiron, S., Dupas, S., Scribe, P., Barceló, D. (1994) Application of on-line solid-phase extraction followed by liquid chromatography-thermospray mass spectrometry to the determination of pesticides in environmental waters. *J. Chromatogr. A* 665:295-305

- Coquart, V., Hennion, M.C. (1991) Interference removal in the organic trace-level analysis of aqueous environmental samples by on-line liquid chromatographic preconcentration techniques with two precolumns. *J. Chromatogr. A* 553:329-343
- Coquart, V., Hennion, M.C. (1992) Trace-level determination of polar phenolic compounds in aqueous samples by high-performance liquid chromatography and on-line preconcentration on porous graphitic carbon. *J. Chromatogr. A* 600:195-201
- Dean, J.R. (1998) Extraction methods for environmental analysis. Jhon Wiley & Sons, Chichester, England
- Di Corcia, A., Constantino A., Crescenzi, C., Samperi, R. (1999) Quantification of phenylurea herbicides and their free and humic acid-associated metabolites in natural waters. *J. Chromatogr. A* 852:465-474
- Di Corcia, A., Samperi, R., Marcomini, A., Stelluto, S. (1993) Graphitized carbon black extraction cartridges for monitoring polar pesticides in water. *Anal. Chem.* 65: 907-912
- Driscoll, M., Hassett, J., Fish, C. (1991) Extraction efficiencies of organochlorine compounds from Niagara River water. *Environ. Sci. Technol.* 25:1432-1439
- Driss, M.R., Hennion, M.C., Bouguerra, M.L. (1993) Determination of carbaryl and some organophosphorus pesticides in drinking water using on-line liquid chromatographic preconcentration techniques. *J. Chromatogr. A* 639:352-358
- Dupas, S., Guenu, S., Pichon, V., Montiel, A., Welte, B., Hennion, M.C. (1996) Long-term monitoring of pesticides and polar transformation products in ground water using automated online trace enrichment and liquid chromatography with diode array detection. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 65:53-68
- Ferrer, I., Barceló, D., Thurman, E.M. (1999) Double-Disk Solid-Phase Extraction: Simultaneous Cleanup and Trace Enrichment of Herbicides and Metabolites from Environmental Samples. *Anal. Chem.* 71: 1009-1015
- Goewie W.C., Brinkman, U., Frel, R. (1981) Trace enrichment of polar compounds on chemical bonded and carbonaceous sorbents and application to chlorophenols. *Anal. Chem.* 53:2072-2080
- Govers, H., Ruepert, C., Aiking, H. (1984) Quantitative structure-activity relationships for polycyclic aromatic hydrocarbons: Correlation between molecular connectivity, physico-chemical properties, bioconcentration and toxicity in *Daphnia pulex*. *Chemosphere* 13:227-236
- Guenu, S., Hennion, M.C. (1996) Evaluation of new polymeric sorbents with high specific surface areas using an on-line solid-phase extraction-liquid chromatographic system for the trace-level determination of polar pesticides. *J. Chromatogr. A* 737:15-24
- Hamisch, M., Möckel, H. J., Schulze, G. (1983) Relationship between log *Pow* shake-flask values and capacity factors derived from reversed-phase high-performance liquid chromatography for n-alkylbenzenes and some OECD reference substances. *J. Chromatogr. A* 282:315-332.
- Hennion, M.C. (1991) Sample handling strategies for the analysis of non-volatile organic compounds from environmental water samples. *Trends in Anal. Chem.* 10(10): 317-323.
- Hennion, M.C. (1998) Automation in multiresidue analysis of pesticides using on-line solid-phase extraction and liquid chromatography. *Analisis* 26(6): M131-M137
- Hennion, M.C. (1999) Solid-phase extraction: Method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 856:3-54.

- Hennion, M.C. (2000) Graphitized carbons for solid-phase extraction. *J. Chromatogr. A* 885:73-95
- Hennion, M.C., Cau-Dit-Coumes, C., 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
- Hennion, M.C., 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., Pichon, V. (1994) Solid-phase extraction of polar organic pollutants from water. *Environ. Sci. Technol.* 28(13):576A-583A
- Hennion, M.C., Scribe, P. (1993) Sample handling strategies for the analysis of organic compounds from environmental water samples, en *Environmental analysis techniques, applications and quality assurance*. Vol 13. Edited by Barceló, D. Elsevier Science Publishers. Amsterdam. Netherlands. pp: 23-77
- Hodgeson, J., Collins, J., Bashe, W. (1994) Determination of acidic herbicides in aqueous samples by liquid-solid disk extraction and capillary gas chromatography. *J. Chromatogr. A* 659:395-401
- Hogendoorn, E., Dijkman E., Bauman, B., Hidalgo, C., Sancho, V., Hernández, F. (1999) Strategies in using analytical restricted access media columns for the removal of humic acid in the trace analysis of acidic herbicides in water samples by coupled column liquid chromatography with UV detection. *Anal. Chem.* 71:1111-1118
- Hogendoorn, E., Van Zoonen, P. (2000) Recent and future developments of liquid chromatography in pesticide trace analysis. *J. Chromatogr. A* 892:435-453
- Hoop V. M., Van Leeuwen, H., Cleven, R. (1990) Study of the polyelectrolyte properties of humic acids by conductimetric titration. *Anal. Chim. Acta* 232: 141-148
- Howard, A.G. (1998) *Aquatic Environmental Chemistry*. Oxford University Press, New York.
- Huck, C.W., Bonn, G.K. (2000) Recent developments in polymer-based sorbents for solid-phase extraction. *J. Chromatogr. A* 885:51-72
- Ibáñez, M., Picó, Y., Mañes, J. (1998) Improving the solid-phase extraction of "quat" pesticides from water samples. Removal of interferences. *J. Chromatogr. A* 823:137-146
- Jandera, P., Kubat, J. (1990) Possibilities of determination and prediction of solute capacity factors in reversed-phase systems with pure water as the mobile phase. *J. Chromatogr. A* 500:281-299
- Jiménez, J.J., Bernal, J.L., del Nozal, M.J., Rivera, J.M. (1997) Determination of pesticide residues in waters from small loughs by solid-phase extraction and combined use of gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection and high-performance liquid chromatography with diode array detection. *J. Chromatogr. A* 778:289-300
- Jinno, K. (1984) The use of capacity factors with micro-HPLC as a descriptors in quantitative structure-activity relationships. *Anal. Lett.* 17:183-190
- Johnson, W., Fendinger, N., Plimmer, R. (1991) Solid-phase extraction of pesticides from water: Possible interferences from dissolved organic material. *Anal. Chem.* 63:1510-1513

- Kiso, Y., Li, H., Shigetoh, K., Kitao, T., Jinno, K. (1996) Pesticide analysis by HPLC using the direct injection method. *J. Chromatogr. A* 733:259-265
- Konda, L., Barroso, M., Morovjan, G., Csokan, P. (1999) High-performance liquid chromatography column switching applied to the trace determination of herbicides in environmental and drinking water samples. *J. Chrom. Sci.* 37(3):71-76.
- Lacorte S., Barceló, D. (2001) Pollutants in water by HPLC, en *Encyclopaedia of Chromatography*. Edited by Jack Cazes. Marcel Dekker, Inc., New York, USA, pp: 632-635
- Lacorte, S., Guiffard, I., Fraisse, D., Barceló, D. (2000) Broad spectrum analysis of 109 priority compounds listed in the 76/464/CEE council directive using solid-phase extraction and GC/EI/MS. *Anal. Chem.* 72:1430-1440
- Lacorte, S., Vreuls, J.J., Salau, J.S., Ventura, F., Barceló, D. (1998) Monitoring of pesticides in river water using fully automated on-line solid-phase extraction and liquid chromatography with diode array detection with a novel filtration device. *J. Chromatogr. A* 795:71-82
- Leenheer, J.A. (1994) Chemistry of Dissolved Organic Matter in Rivers, Lakes and Reservoirs. In *Environmental Chemistry of lakes and Reservoirs. Advances in Chemistry Series V 237*
- Legube, B. (1991) La matière organique des eaux naturelles. *Analisis* 19(2):i15-i17
- Lehtonen, T., Peuravuori, J., Pihlaja, K. (2000) Characterization of lake-aquatic humic matter isolated with two different sorbing solid techniques. *Anal. Chim. Acta* 424:91-103
- Lepont, C., Gunatillaka, A., Poole, G. (2001) Retention characteristics of porous graphitic carbon in reversed-phase liquid chromatography with methanol-water mobile phases. *Analyst* 126:1318-1325
- Li, N., Lee, H.K. (2001) Solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water. Negative effect of humic acid. *J. Chromatogr. A* 921:255-263
- Lim, C. (1992) Porous Graphitic Carbon in Biomedical applications, In *Advances in Chromatography. Vol 32* Edited by Giddings, C., Grushka, E., Brown, P. Marcel Dekker, Inc. New York
- Lin, C.F., Liu, S.H., Hao, O. (2001) Effect of functional groups of humic substances on UF performance. *Wat. Res.* 35 (10):2395-2402.
- Liska, I. (1993) On-line vs off-line solid-phase extraction in the determination of organic contaminants in water. Advantages and limitations. *J. of Chromatohgr. A* 655: 163-176
- Liska, I., Brouwer, E., Ostheimer, A., Lingeman, H., Brinkman, U., Geerdink, R., Muider, W. (1992) Rapid screening of a large group of polar pesticides in river water by on-line trace enrichment and column liquid chromatography. *Int. J. Anal. Chem.* 47:267-291.
- Malcolm, R. (1990) The uniqueness of humic substances in each of soil, stream and marine environments. *Anal. Chim. Acta* 232:19-30
- Masqué, N., Galia, M., Marcé, R.M., Borrull, F. (1998) New chemically modified polymeric resin for solid-phase extraction of pesticides and phenolic compounds from water. *J. Chromatogr. A* 803:147-155
- Masque, N.; Marce, R.; Borrul, F. (1998) Chemical removal of humic substances interfering with the on-line solid-phase extraction-liquid chromatography determination of polar water pollutants. *Cromatographia* 48(3/4): 231-236



- Mattern, G.C., Louis, J.B., Rosen, J.D. (1991) Multipesticide determination in surface water by gas chromatography/chemical ionization/mass spectrometry/ion trap detection. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 74(6):982-986
- Mayer, M., Poole, C., Henry, M. (1995) Sampling characteristics of octadecylsiloxane-bonded silica particle-embedded glass fiber discs for solid-phase extraction. *J. Chromatogr. A* 695:267-277
- Mayer, M., Poole, S., Poole, C. (1995) Retention characteristics of octadecylsiloxane-bonded silica and porous polymer particle-loaded membranes for solid-phase extraction. *J. Chromatogr. A* 697:89-99
- McLaughlin, R.A., 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
- Miller, K.G., Poole, C.F. (1994) Methodological approach for evaluating operational parameters and the characterization of a popular sorbent for solid-phase extraction by high pressure liquid chromatography. *J. High Resolut. Chromatogr.* 17:125
- Mills, G.R. (1998) Application of an on-line liquid chromatography system for the determination of polar herbicides in drinking water within a routine laboratory. *J. Chromatogr. A* 813:63-70
- Mogadati, P., Louis, J., Rosen, J. (1999) Multiresidue Determination of pesticides in High-Organic-Content Soils by Solid-Phase Extraction and Gas Chromatographic-Mass Spectrometry. *J. AOAC. Int.* 82(3):705-715
- Noble, A. (1993) Partition coefficients (n-octanol-water) for pesticides. *J. Chromatogr. A* 642:3-14
- Norberg, J., Thordarson, E., Mathiasson, L., Jönsson, J. (2000) Microporous membrane liquid-liquid extraction coupled on-line with normal phase liquid chromatography for the determination of cationic surfactants in river and waste water. *J. Chromatogr. A* 869:523-529
- Pichon, V. (1998) Multiresidue solid phase extraction for trace analysis of pesticides and their metabolites in environmental water. *Analisis* 26(6):M91-M98
- Pichon, V. (2000) Solid-phase extraction for multiresidue analysis of organic contaminants in water. *J. Chromatogr. A* 885:195-215
- Pichon, V., Cau Dit Coumes, C., Chen, L., Guenu, S., Hennion, M.C. (1996) Simple removal of humic and fulvic acid interferences using polymeric sorbents for the simultaneous solid-phase extraction of polar acidic, neutral and basic pesticides. *J. Chromatogr. A* 737:25-33
- Pichon, V., Charpak, M., Hennion, M.C. (1998) Multiresidue analysis of pesticides using new laminar extraction disks and liquid chromatography and application to the French priority list. *J. Chromatogr. A* 795:83-92
- Pichon, V., Chen, L., Guenu, S., Hennion, M.C. (1995) Comparison of sorbents for the solid-phase extraction of the highly polar degradation products of atrazine (including ammeline, ammelide and cyanuric acid) *J. Chromatogr. A* 711:257-267
- Pihlstrom, P., Hellstrom, A., Axelsson, V. (1997) Gas chromatography analysis of pesticides in water with off-line solid-phase extraction. *Anal. Chim. Acta* 356:155-163
- Pinto, G., Jardim, I. (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, C., Gunatilleka, A.D., Sethuraman, R. (2000) Contributions of theory to method development in solid-phase extraction. *J. Chromatogr. A* 885:17-39
- Poole, C., Poole, S., Seibert, D., Chapman, Ch. (1997) Determination of kinetic and retention properties of cartridge and disk devices for solid-phase extraction. *J. Chromatogr. A* 689:245-259
- Rekker, R.F. (1977) The hydrophobic fragmental constant.. Pharmaco Chemistry Library Vol. 1 Elsevier Publishing Company, Amsterdam.
- Rossi, D.T., Zhang, N. (2000) Automating solid-phase extraction: current aspects and future prospects. *J. Chromatogr. A* 885: 97-113
- Rubinson, K; Rubinson, J. (2001) Análisis Instrumental. Prentice Hall. Madrid, España.
- Sabik, H., Jeannot, R. (1998) Determination of organonitrogen pesticides in large volumes of surface water by liquid-liquid and solid-phase extraction using gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection and liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 818:197-207
- Sabik, H., Jeannot, R.; Rondeau, B. (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
- Schoenmakers, P., Billiet, H., De Galan L. (1983) Description of solute retention over the full range of mobile phase compositions in reversed-phase liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 282:107-121
- Seibert, D.S., Poole, C.F. (1998) A general model for the optimization of sample processing conditions by solid-phase extraction applied to the isolation of estrogens from urine. *J. High. Resolut. Chromatogr.* 21:481-490
- SEMARNAP. (1996) Lo que usted debe saber sobre los plaguicidas. Serie plaguicidas No. 1. D.F., Méx.
- Seol, Y., Lee, L. (2000) Effect of dissolved organic matter in treated effluents on sorption of atrazine and prometryn by soils. *Soil Sci.Soc.Am.J.* 64:1976-1983
- Sicbaldi, F., Del Re, A.M. Relationships of pesticide octanol/water partition coefficients to their physicochemical properties. *Reviews of Environmental Contamination and toxicology.* 133:59-93
- Skoog, D.A. (2001) Principios de análisis instrumental. Mc Graw Hill, 5a edición, Madrid.
- Slobodnik, J., Louter, A., Vreuls, J., Liska, I., Brinkman, U. (1997) Monitoring of organic micropollutants in surface water by automated on-line trace-enrichment liquid and gas chromatographic systems with UV diode-array and mass spectrometric detection. *J. Chromatogr. A* 768:239-258
- Snyder, L.I., Kirkland, J.J., Glajch, J. (1997) Practical HPLC method development. 2a ed. John Wiley & Sons. New York.
- Stan, H.J., Klaffenbach, P. (1991) Determination of thermolabile urea pesticides after derivatization with HFBA using GC-ECD and confirmation by means of GC-MSD. *Fresenius's J. Anal. Chem.* 339:40-45
- Stevenson, F.J. (1994) Humus Chemistry. Genesis. Composition. Reactions. 2a ed. John Wiley & Sons. New York.
- Subra, P., Hennion, M.C., Rosset, R. (1988) Recovery of organic compounds from large-volume aqueous samples using on-line liquid chromatographic preconcentration techniques. *J. Chromatogr. A* 456:121-141

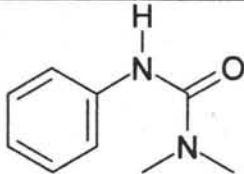
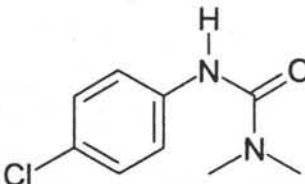
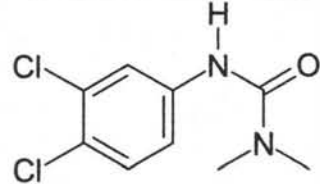
- 
- Tan, K.H. (2003) Humic matter in soil and the environment. Principles and controversies. Marcel Dekker Inc., New York.
- Thurman, E.M., Malcolm, R. L., Aiken G. R. (1978) Prediction of capacity factors for aqueous organic solutes adsorbed on a porous acrylic resin. *Anal. Chem.* 50:775-779
- Tipping, E. (2002) Cation binding by humic substances. Cambridge University Press, United Kingdom.
- Tolosa, I., Douy, B., Carvalho, F.P. (1999) Comparison of the performance of graphitized carbon black and poly(styrene-divinylbenzene) cartridges for the determination of pesticides and industrial phosphates in environmental waters. *J. Chromatogr. A* 864:121-136
- Valor, I, Moltó, J.C., Apraiz, D., Font, G. (1997) Matrix effects on solid-phase microextraction of organophosphorus pesticides from water. *J. Chromatogr. A* 767: 195-203
- Vial, J., Hennion, M.C., Fernández-Alba, A., Agüera, A. (2001) Use of porous graphitic carbon coupled with mass detection for the analysis of polar phenolic compounds by liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 937:21-29
- Weigel, S., Bester, K., Hühnerfuss, H. (2001) New method for rapid solid-phase extraction of large-volume water samples and its application to non-target screening of North Sea water for organic contaminants by GC-MS. *J. Chromatogr. A* 912:151-161
- Wells, M., Yu, L. (2000) Solid-phase extraction of acidic herbicides. *J. Chromatogr. A* 885:237-250
- Zapf, A., Heyer, R., Stan, H. (1995) Rapid micro liquid-liquid extraction method for trace analysis of organic contaminants in drinking water. *J. Chromatogr. A* 694:453-461



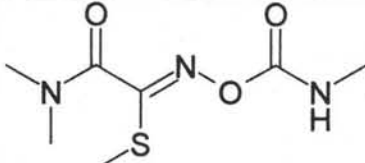
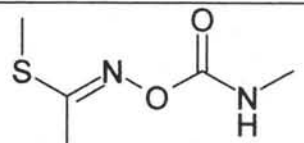
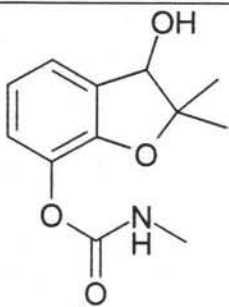
## CAPITULO 8. ANEXOS

## ANEXO 1. ESTRUCTURAS Y SOLUBILIDAD DE LOS COMPUESTOS ESTUDIADOS

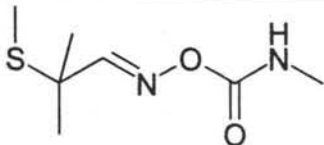
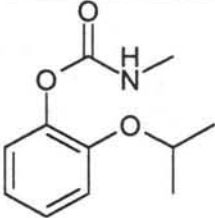
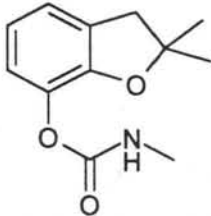
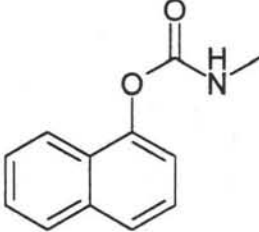
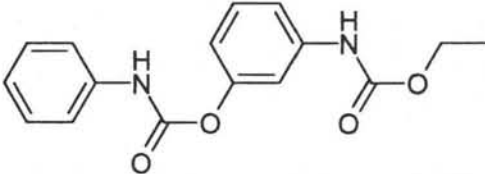
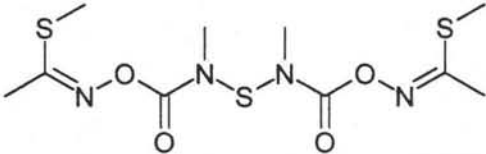
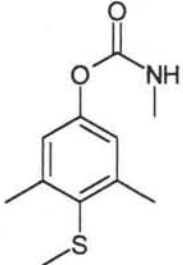
Familia de las Fenilureas

NOMBRE	ESTRUCTURA	Solubilidad (25 ° C) mg/100 mL agua
Fenurón		385
Monurón		23
Diurón		4.2

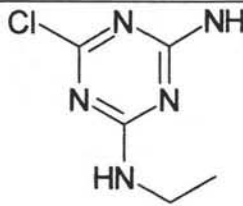
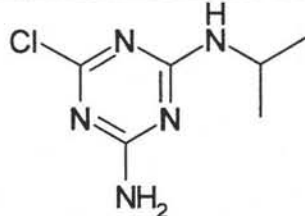
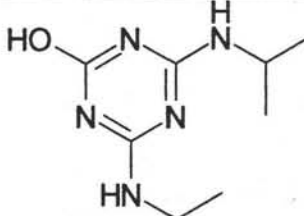
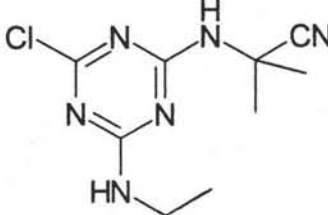
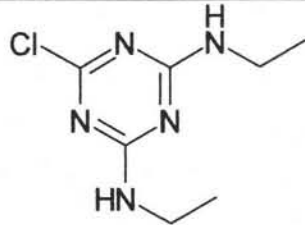
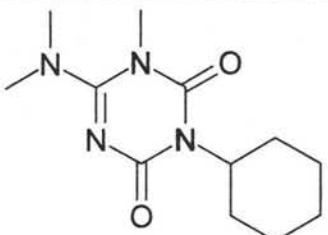
Familia de los Carbamatos

NOMBRE	ESTRUCTURA	Solubilidad (25 ° C) g/100 mL agua
Oxamilo		28
Metomilo		5.8
3-OH Carbofurano		No reportado

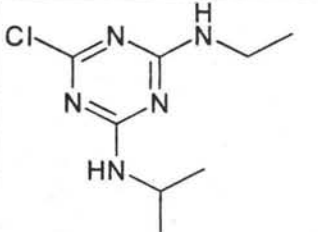
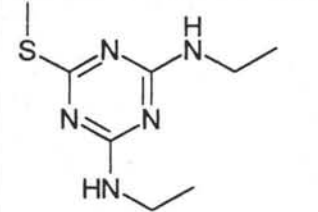
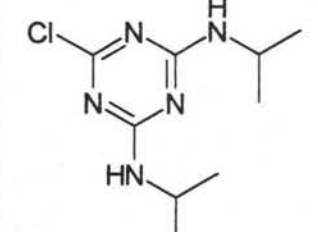
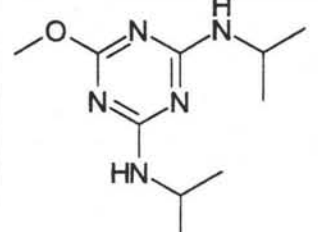
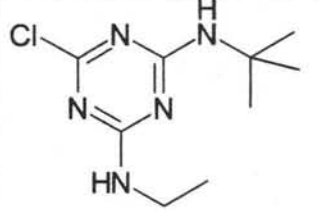
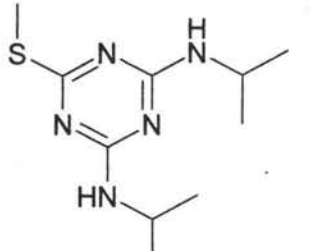
## Familia de los Carbamatos (Continuación)

NOMBRE	ESTRUCTURA	Solubilidad (25 °C) mg/100 mL agua
Aldicarb		493
Baygón		200 (20 °C)
Carbofurano		70
Carbarilo		12 (30 °C)
Desmedifam		0.9
Tiodicarb		3.5
Metiocarb		2

## Familia de las triazinas

NOMBRE	ESTRUCTURA	Solubilidad (25 ° C) mg/100 mL agua
Deisopropilatrazina		320
Desetilatrazina		67
2-OH Atrazina		0.6 (pH 13) 23 (pH 2)
Cianazina		17.1
Simazina		0.5 (20 °C)
Hexazinona		3300

## Familia de las triazinas (Continuación)

NOMBRE	ESTRUCTURA	Solubilidad (20 ° C) mg/100 mL agua
Atrazina		3.3
Simetrina		45
Propazina		0.5
Prometón		62
Terbutilazina		0.85
Prometrina		3.3

## ANEXO 2. DETERMINACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO TOTAL (COT)

El COT es la expresión directa del contenido carbónico en una muestra incluyendo la demanda bioquímica de oxígeno y la demanda química de oxígeno, es independiente del estado de oxidación de la materia orgánica y no mide otros elementos orgánicos enlazados, tales como H y N, ni tampoco el carbono inorgánico que contribuye a la demanda química de oxígeno. Para determinar la cantidad de carbono orgánico, las moléculas orgánicas deben romperse en unidades de carbono sencillo y se convierten en una sola forma molecular que se pueda medir cuantitativamente. Una forma de lograr esto es empleando oxidantes químicos para convertir el carbono orgánico en CO<sub>2</sub>, el cual se mide directamente con un detector adecuado como un analizador de infrarrojo o puede ser titulado químicamente.

La determinación de COT en las muestras acuosas sintéticas y naturales empleadas en este estudio se realizó mediante un Analizador de Carbono (Shimadzu mod. 5050, Instituto de Ingeniería, UNAM), por el método específico de combustión – infrarrojo. Este método es adecuado para muestras con un contenido de COT  $\geq 1$  mg/L, valor que de hecho corresponde al límite de detección.

Las muestras acidificadas previamente con ácido fosfórico concentrado hasta pH 1-2 (para convertir el carbono inorgánico en CO<sub>2</sub> gaseoso) y filtradas con membrana de nitrato de celulosa de tamaño de poro 0.45  $\mu\text{m}$  (Sartorius, Germany), se sometieron a purga durante 10 minutos con O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, aire o cualquier gas libre de CO<sub>2</sub> y de hidrocarburos para eliminar el CO<sub>2</sub> disuelto. De esta manera, la determinación de COT cuantificó en realidad el carbono orgánico disuelto y no purgable total.

Posteriormente las muestras se homogeneizan, se diluyen como sea necesario para adecuarse a una curva patrón previamente realizada con un estándar de biftalato de potasio anhidro C<sub>8</sub>H<sub>5</sub>KO<sub>4</sub> de concentración 1mg/mL en medio ácido (pH  $\leq 2$ ) con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ó H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Una porción se inyecta en una cámara térmica de reacción, empacada con óxido de cobalto como catalizador oxidante. El agua se evapora y el carbono orgánico se oxida a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. El CO<sub>2</sub> es acarreado con O<sub>2</sub> ó aire puros libres de CO<sub>2</sub> e hidrocarburos para medirlo por medio de un analizador IR no dispersivo.

**ANEXO 3. CUADRO DE VALORES DE LOG k'w EXTRAPOLADOS POR REGRESION LINEAL Y CUADRATICA PARA CADA PLAGUICIDA SOBRE FASE C18.**

COMPUESTO	REGRESIÓN LINEAL REGRESIÓN CUADRÁTICA	
	log k'w	
FENILUREAS		
Fenurón	1.598	1.951
Monurón	2.386	2.890
Diurón	3.118	3.646
CARBAMATOS		
Oxamilo	1.471	1.589
Metomilo	0.987	1.539
3-OH carbofurano	1.699	2.331
Aldicarb	2.133	2.386
Baygón	2.253	2.865
Carbofurano	2.456	3.244
Carbarilo	2.549	3.426
Desmedifam	3.763	4.864
Tiodicarb	2.511	2.535
Metiocarb	3.646	4.599
TRIAZINAS		
Deisopropilatrazina	1.347	1.893
Desetilatrastina	1.831	2.298
2-OH atrastina	2.107	2.497
Cianastina	2.886	3.434
Simastina	2.431	3.155
Hexastinona	2.824	3.154
Atrastina	2.930	3.497
Simetrina	2.969	3.078
Propastina	3.614	4.075
Prometón	3.510	5.082
Terbutilastina	3.381	3.627
Prometrina	3.485	5.743

**ANEXO 4. CUADRO DE VALORES DE LOG k'w EXTRAPOLADOS POR REGRESIÓN LINEAL Y CUADRÁTICA PARA CADA PLAGUICIDA SOBRE FASE PLRP-S.**

COMPUESTO	REGRESIÓN LINEAL REGRESIÓN CUADRÁTICA	
	log k'w	
<b>FENILUREAS</b>		
Fenurón	2.614	3.234
Monurón	3.542	4.399
Diurón	4.394	6.016
<b>CARBAMATOS</b>		
Oxamilo	2.019	2.793
Metomilo	2.098	2.659
3-OH carbofurano	2.676	3.643
Aldicarb	3.218	4.106
Baygón	3.739	5.031
Carbofurano	3.915	5.317
Carbarilo	4.335	5.743
Desmedifam	5.837	8.252
Tiodicarb	4.497	6.475
Metiocarb	5.202	6.591
<b>TRIAZINAS</b>		
Deisopropilatrazina	2.371	2.838
Desetilatrazina	2.869	3.565
2-OH atrazina	2.546	3.177
Cianazina	3.883	4.973
Simazina	3.731	4.741
Hexazinona	3.663	4.743
Atrazina	4.301	5.302
Simetrina	4.343	5.584
Propazina	4.985	6.084
Prometón	4.751	6.103
Terbutilazina	5.107	6.152
Prometrina	5.817	7.615

**ANEXO 5. CUADRO DE VALORES DE  $R^2$  PARA LAS REGRESIONES LINEALES Y CUADRÁTICAS DE LAS CURVAS  $\log k'w = f$  (% MeOH EN FASE MÓVIL) DE CADA COMPUESTO SOBRE C18 Y SOBRE PLRP-S.**

COMPUESTO	$R^2$			
	FASE C18		FASE PLRP	
	REGRESIÓN LINEAL	REGRESIÓN CUADRÁTICA	REGRESIÓN LINEAL	REGRESIÓN CUADRÁTICA
FENILUREAS				
Fenurón	0.9935	0.9990	0.9945	0.9997
Monurón	0.9962	0.9993	0.9966	0.9998
Diurón	0.9970	0.9991	0.9962	0.9997
CARBAMATOS				
Oxamilo	0.9823	0.9985	0.9830	0.9997
Metomilo	0.9705	0.9994	0.9878	0.9999
3-OH Carbofurano	0.9768	0.9996	0.9898	0.9997
Aldicarb	0.9895	0.9994	0.9957	0.9998
Baygón	0.9953	0.9996	0.9949	0.9997
Carbofurano	0.9885	0.9982	0.9943	0.9997
Carbarilo	0.9920	0.9996	0.9964	0.9998
Desmedifam	0.9874	0.9971	0.9978	0.9995
Tiodicarb	0.9977	0.9981	0.9942	0.9997
Metiocarb	0.9875	0.9966	0.9986	0.9998
TRIAZINAS				
Deisopropilatrazina	0.9974	0.9994	0.9930	0.9997
Desetilatrazina	0.9958	0.9969	0.9943	0.9999
2-OH Atrazina	0.9921	1	0.9895	0.9997
Cianazina	0.9877	0.9995	0.9963	0.9999
Simazina	0.9950	0.9971	0.9969	0.9998
Hexazinona	0.9856	0.9996	0.9955	0.9998
Atrazina	0.9987	0.9997	0.9985	0.9999
Simetrina	0.9999	0.9993	0.9986	0.9995
Propazina	0.9975	0.9989	0.9982	0.9996
Prometón	0.9934	0.9995	0.9973	0.9996
Terbutilazina	0.9970	0.9979	0.9987	0.9999
Prometrina	0.9919	0.9999	0.9983	0.9994



---

**ANEXO 6. VALORES PROMEDIO DE LOG P DE LOS COMPUESTOS ESTUDIADOS**

## Familia de las Fenilureas

<b>NOMBRE</b>	<b>Log P</b>
Fenurón	1.67
Monurón	2.30
Diurón	2.93

## Familia de los Carbamatos

<b>NOMBRE</b>	<b>Log P</b>
Oxamilo	0.30
Metomilo	1.24
3-OH Carbofurano	2.06
Aldicarb	2.12
Baygón	1.90
Carbofurano	2.83
Carbarilo	3.18
Desmedifam	3.79
Tiodicarb	1.91
Metiocarb	3.34

## Familia de las triazinas

<b>NOMBRE</b>	<b>Log P</b>
Deisopropilatrazina	1.36
Desetilatrazina	1.85
2-OH Atrazina	2.09
Cianazina	2.51
Simazina	2.40
Hexazinona	2.15
Atrazina	2.82
Simetrina	2.90
Propazina	3.36
Prometón	3.57
Terbutilazina	3.27
Prometrina	3.56

## ANEXO 7. GRAFICAS EXPERIMENTALES Y TEÓRICAS DE $R\% = f(\text{volumen aplicado})$

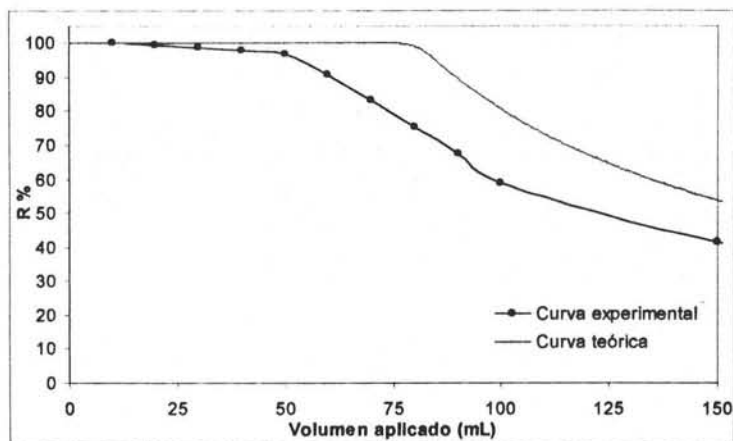


Figura 7.1 Curva de rendimiento porcentual de extracción de FENURÓN en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4 mg de compuesto sobre fase PLRP, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000 \log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática

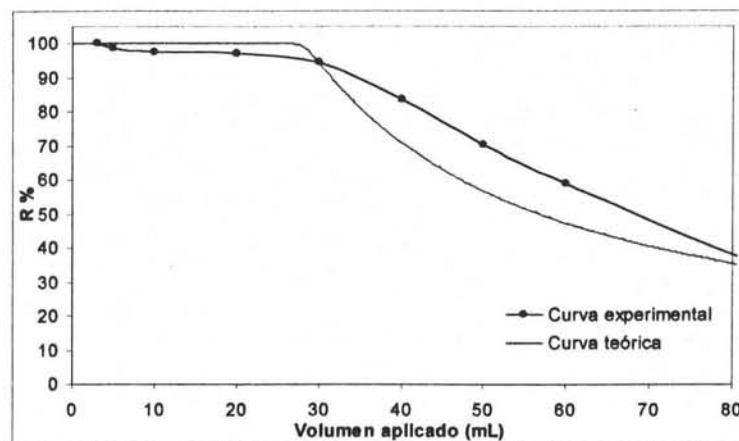


Figura 7.2. Curva de rendimiento porcentual de extracción de MONURON en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

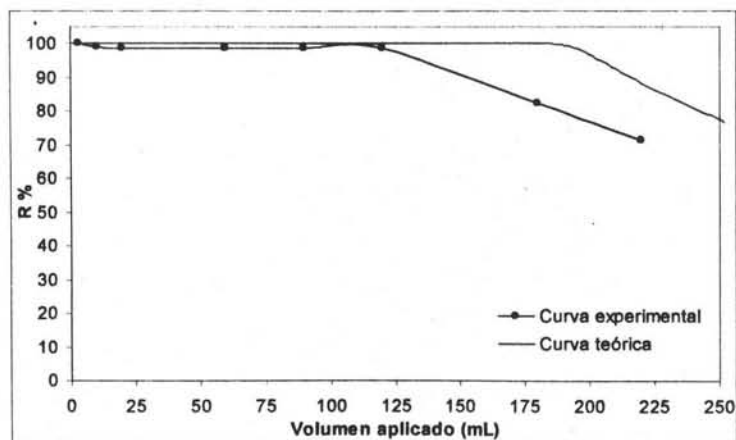


Figura 7.3. Curva de rendimiento porcentual de extracción de DIURÓN en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

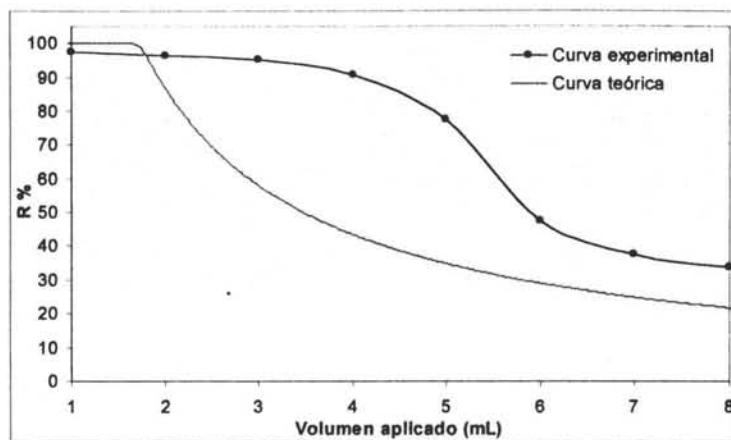


Figura 7.4. Curva de rendimiento porcentual de extracción de OXAMILO en agua grado cromatográfico adicionada con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

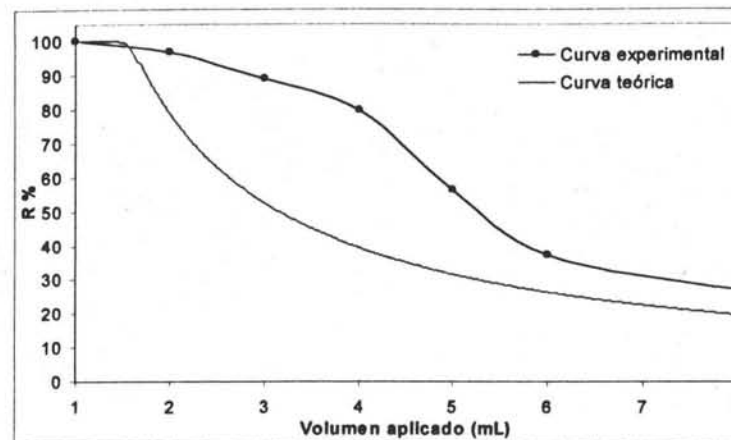


Figura 7.5. Curva de rendimiento porcentual de extracción de METOMILO en agua grado cromatográfico adicionada con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

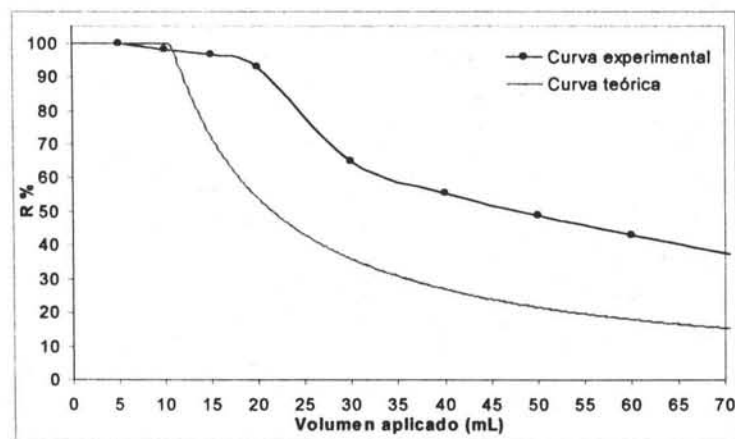


Figura 7.6. Curva de rendimiento porcentual de extracción de ALDICARB en agua grado cromatográfico adicionada con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

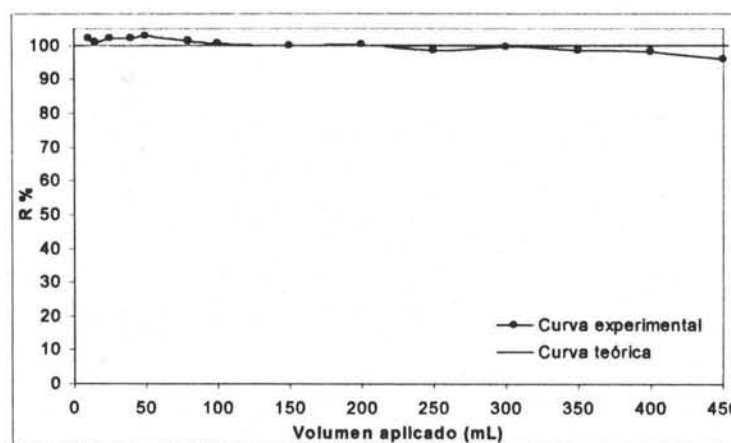


Figura 7.7. Curva de rendimiento porcentual de extracción de ALDICARB en agua grado cromatográfico adicionada con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

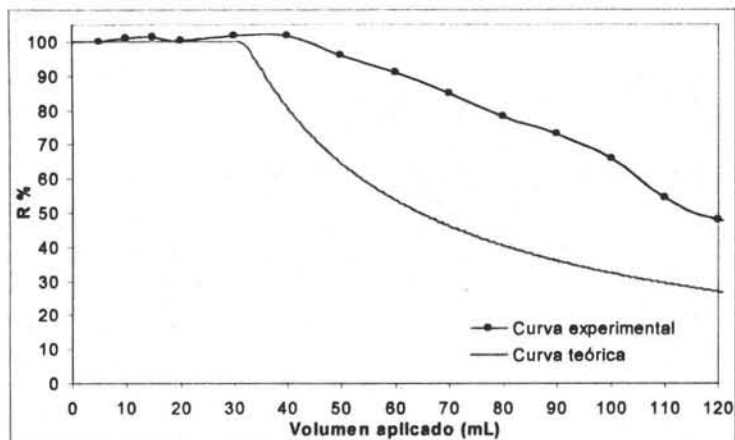


Figura 7.8. Curva de rendimiento porcentual de extracción de BAYGÓN en agua grado cromatográfico adicionada con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

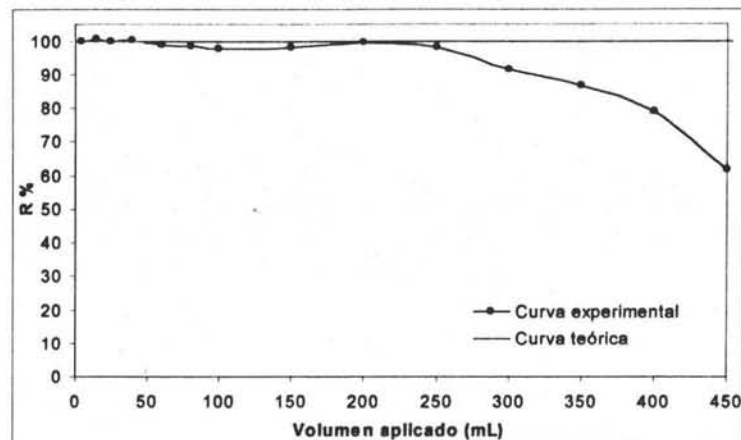


Figura 7.9. Curva de rendimiento porcentual de extracción de BAYGÓN en agua grado cromatográfico adicionada con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$   $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

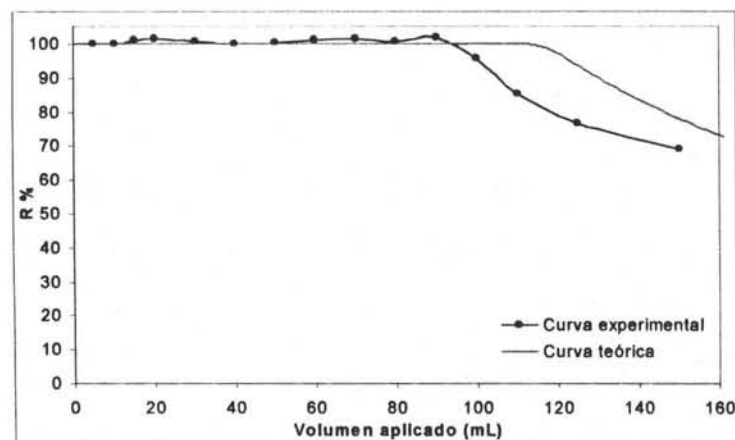


Figura 7.10. Curva de rendimiento porcentual de extracción de CARBARILO en agua grado cromatográfico adicionada con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

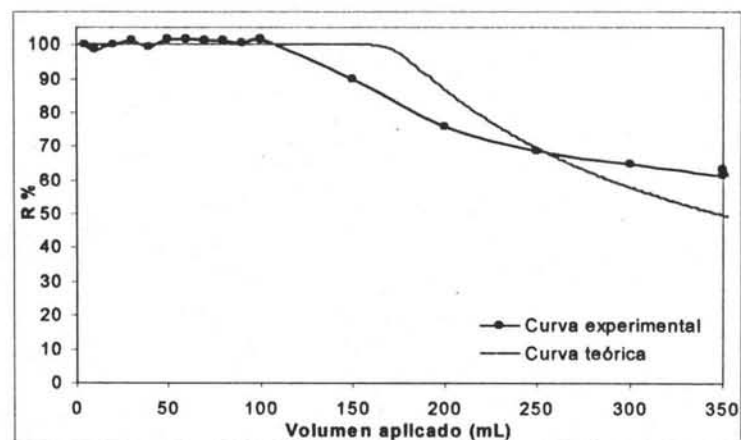


Figura 7.11. Curva de rendimiento porcentual de extracción de DESETILATRAZINA en agua grado cromatográfico adicionada con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$   $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

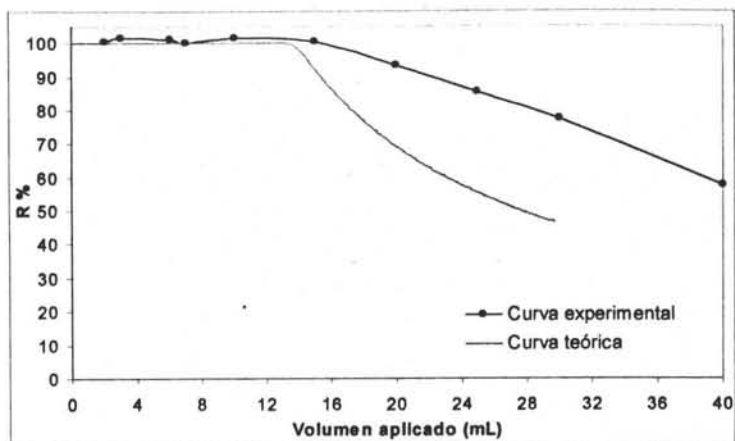


Figura 7.12. Curva de rendimiento porcentual de extracción de 2-HIDROXIATRAZINA en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

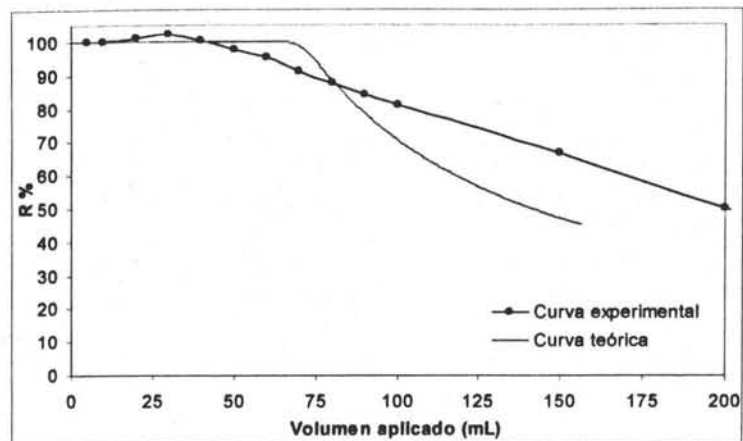


Figura 7.13. Curva de rendimiento porcentual de extracción de 2-HIDROXIATRAZINA en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$   $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

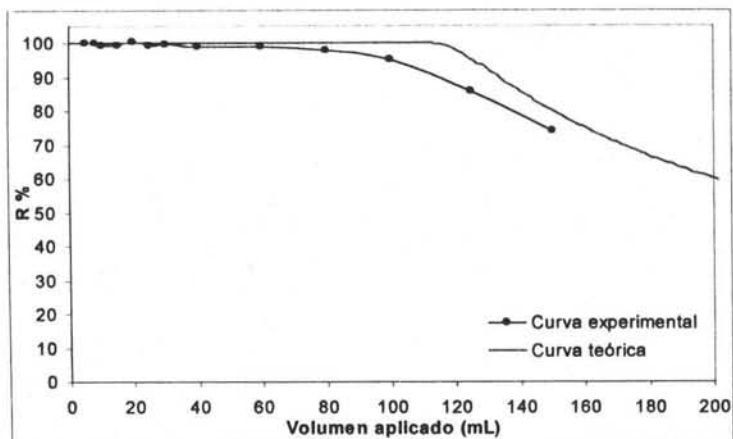


Figura 7.14. Curva de rendimiento porcentual de extracción de CIANAZINA en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

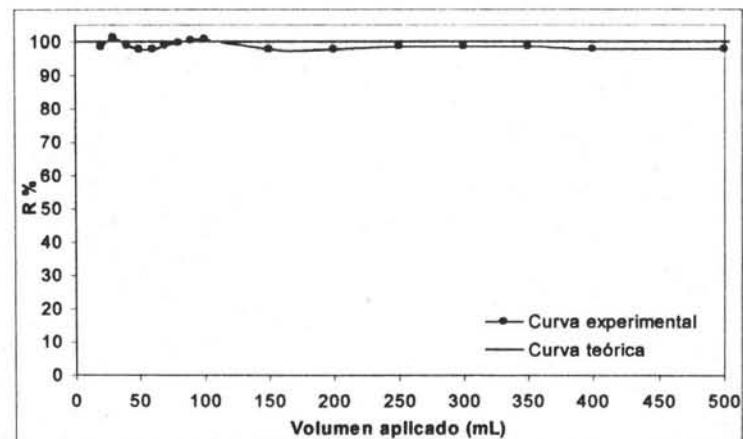


Figura 7.15. Curva de rendimiento porcentual de extracción de CIANAZINA en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$   $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

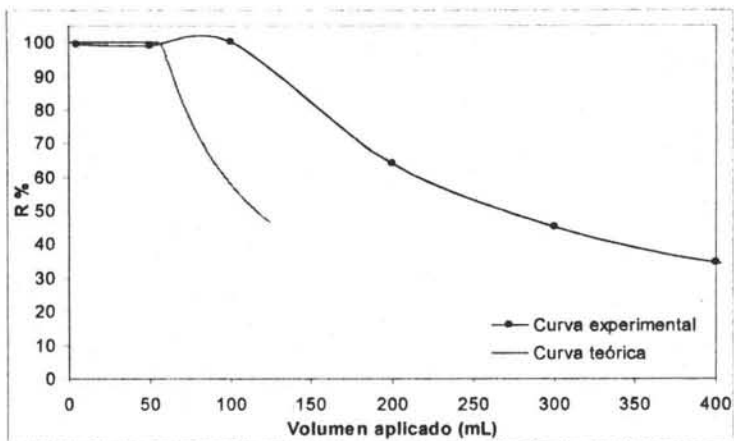


Figura 7.16. Curva de rendimiento porcentual de extracción de HEXAZINONA en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4 µg de compuesto sobre fase C18, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$  y  $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

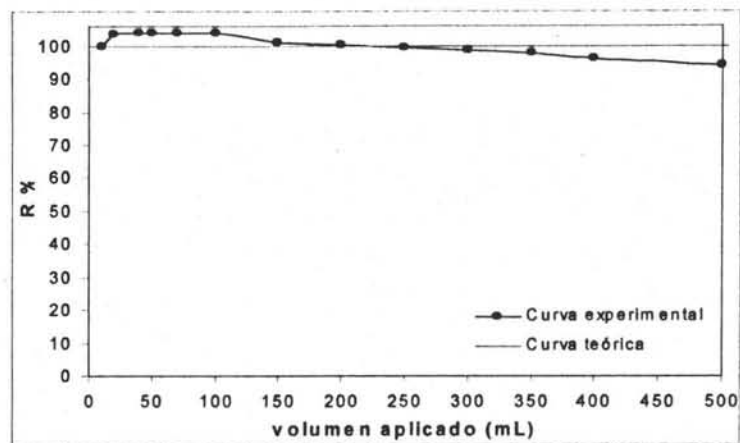


Figura 7.17. Curva de rendimiento porcentual de extracción de HEXAZINONA en agua grado cromatográfico adicionada con 0.4 µg de compuesto sobre fase PLRP, comparada con la curva teórica obtenida con un programa de cómputo para  $N = 1000$   $\log k'w$  obtenido de la extrapolación cuadrática.

## ANEXO 8. GRÁFICAS EXPERIMENTALES DE $R\% = f(\text{volumen aplicado})$ EN AGUA PURA Y MUESTRAS SINTÉTICAS

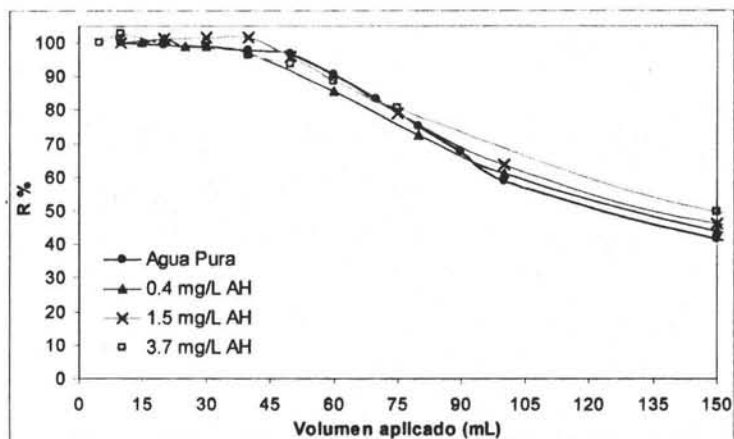


Figura 8.1. Curva de rendimento percentual de extração de FENURÓN en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S.

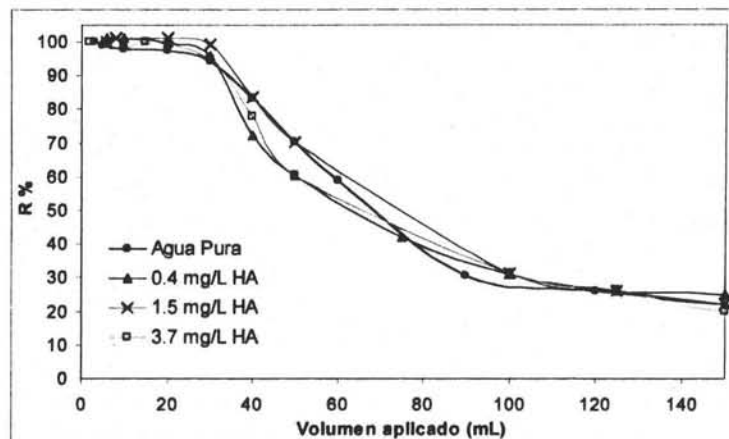


Figura 8.2. Curva de rendimento percentual de extração de MONURÓN en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.

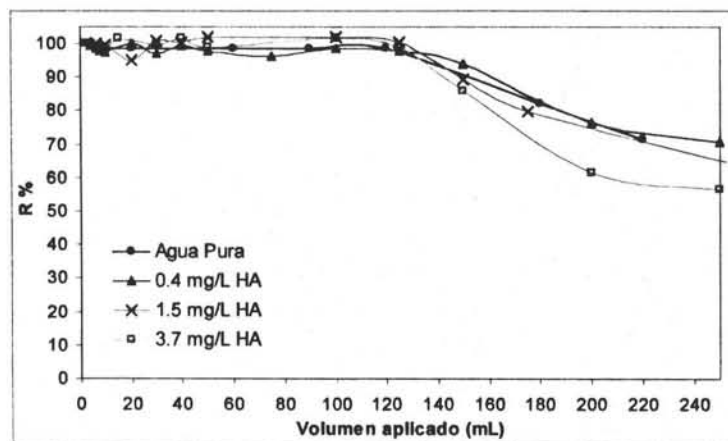


Figura 8.3. Curva de rendimento percentual de extração de DIURÓN en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.

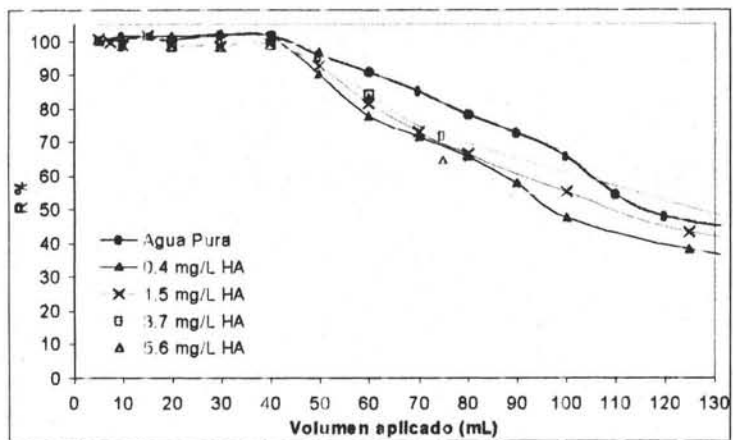


Figura 8.4. Curva de rendimiento porcentual de extracción de BAYGÓN en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 4 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.

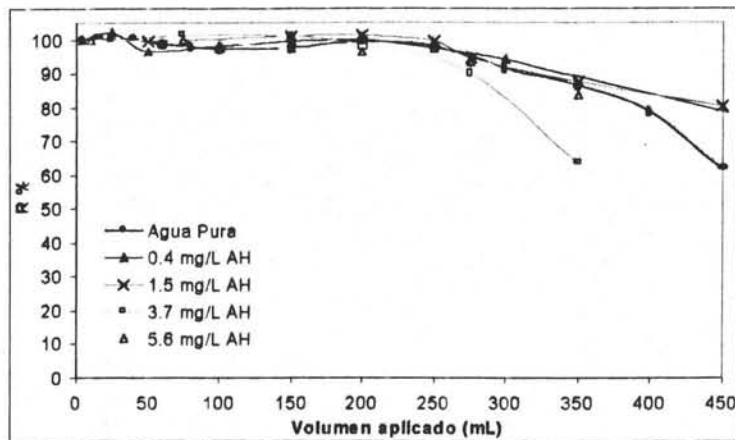


Figura 8.5. Curva de rendimiento porcentual de extracción de BAYGÓN en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 4 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase PLRP-S.

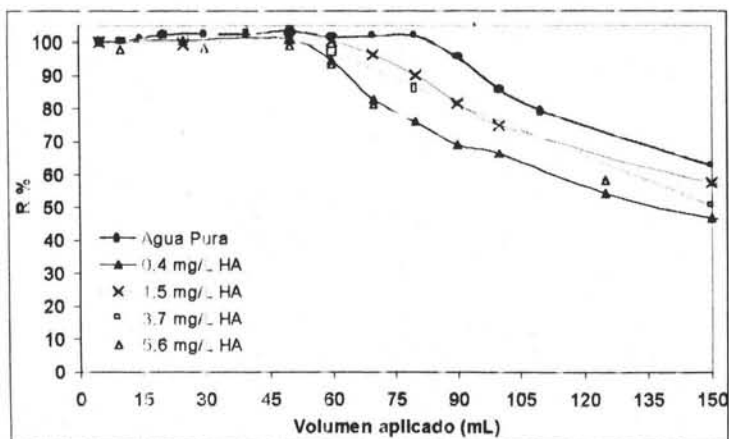


Figura 8.6. Curva de rendimiento porcentual de extracción de CARBOFURANO en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.

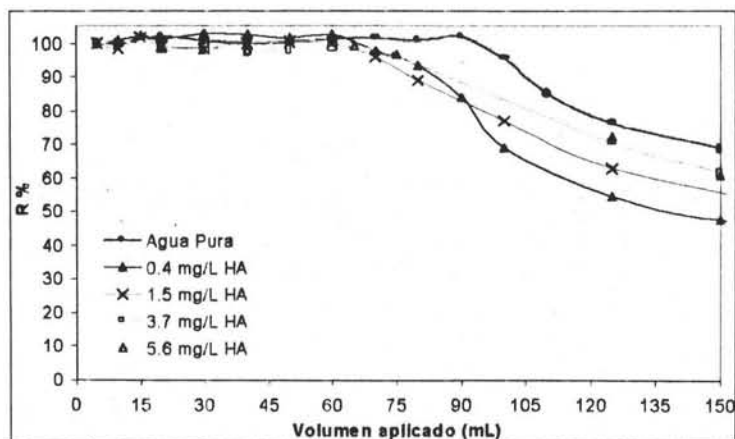


Figura 8.7. Curva de rendimiento porcentual de extracción de CARBARILO en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.



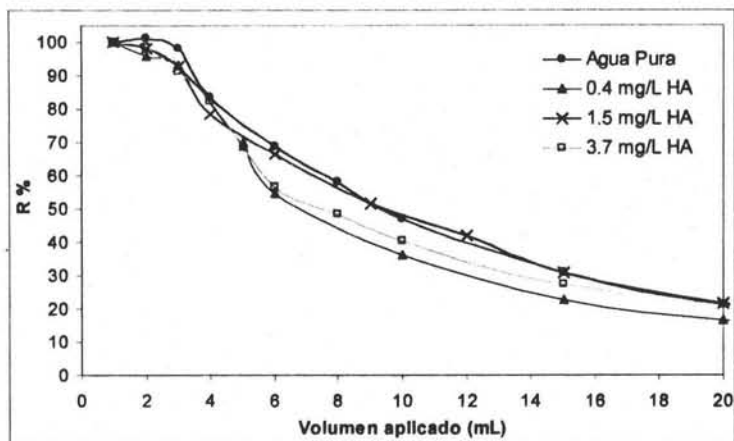


Figura 8.8. Curva de rendimiento porcentual de extracción de DEISOPROPILATRAZINA en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.

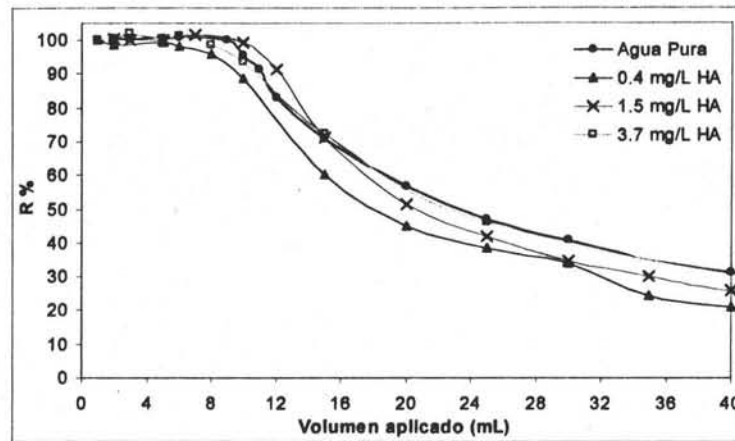


Figura 8.9. Curva de rendimiento porcentual de extracción de DESETILATRAZINA en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.

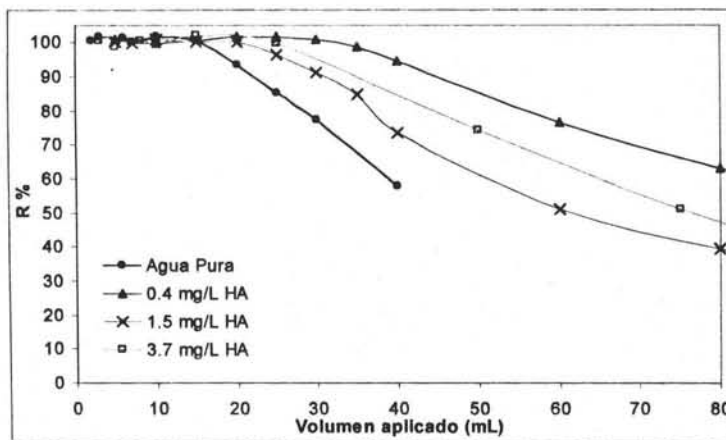


Figura 8.10. Curva de rendimiento porcentual de extracción de 2-HIDROXIATRAZINA en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.

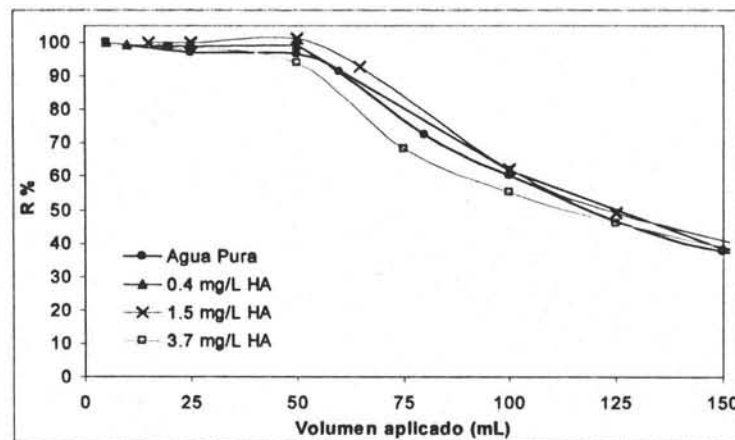
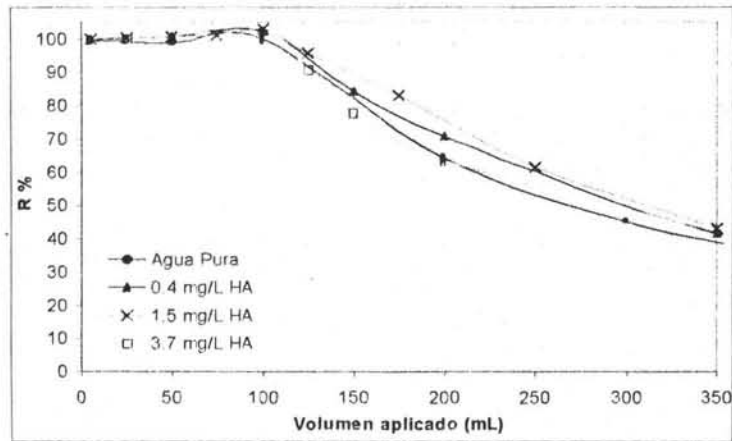
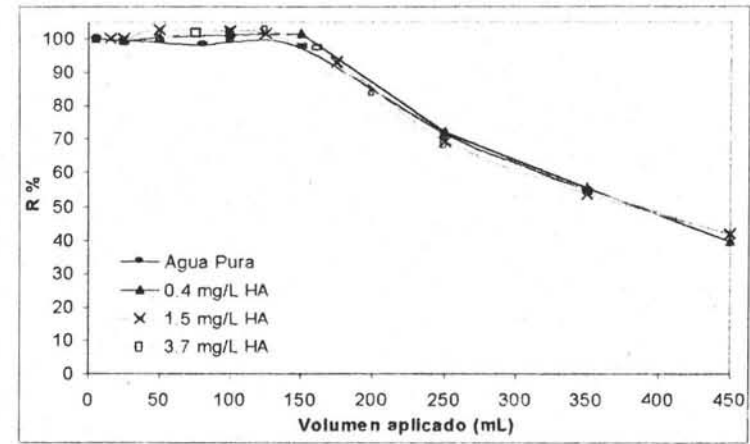


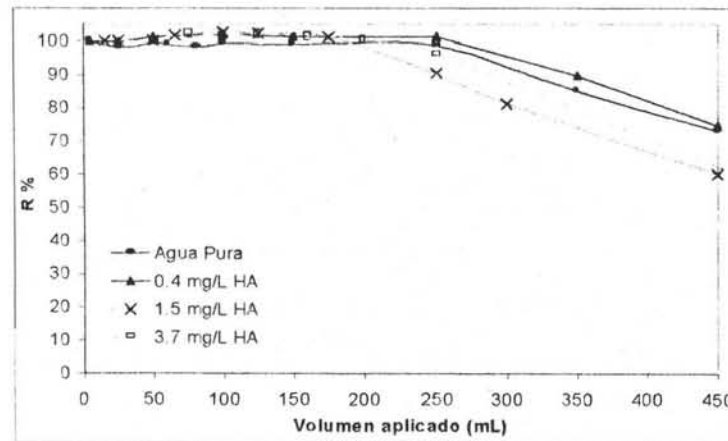
Figura 8.11. Curva de rendimiento porcentual de extracción de SIMAZINA en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con  $0.4 \mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.



**Figura 8.12.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de HEXAZINONA en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.



**Figura 8.13.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de ATRAZINA en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.



**Figura 8.14.** Curva de rendimiento porcentual de extracción de SIMETRINA en agua pura y en agua con ácidos húmicos a 3 niveles de concentración adicionadas con 0.4  $\mu\text{g}$  de compuesto sobre fase C18.