



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

IMPLEMENTACIÓN DE UNA TÉCNICA ANALÍTICA PARA LA
DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS EN AGUA DE
LLUVIA POR MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPME)
Y CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG).

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA:

ALEJANDRA EVARISTO LÓPEZ



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE	Profesor	Francisco Rojo Callejas
VOCAL	Profesora	Josefina Elizalde Torres
SECRETARIO	Profesora	Rocío García Martínez
1er. SUPLENTE	Profesor	Adrián de Santiago Zárate
2° SUPLENTE	Profesora	Patricia Díaz Arista

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA

CENTRO DE CIENCIAS DE LA ATMÓSFERA

POSGRADO DE LA FACULTAD DE QUÍMICA

ASESOR DEL TEMA

Dra. Rocío García Martínez.

SUPERVISOR TÉCNICO

M. en C. Elba Rojas Escudero.

SUSTENTANTE

Alejandra Evaristo López.

A mi amada Universidad.

Por brindarme la oportunidad de forjarme como estudiante y persona desde Iniciación Universitaria.

A tí Mamita.

Por todos esos gritos a las 5 am "despierta se te hará tarde," por ese sándwich para ir a clase, por tu amor y comprensión durante este duro camino, gracias por ser mi apoyo siempre.

A tí Papi.

Por la fortaleza que siempre me inculcaste, por siempre dirigirme por el buen camino.

A mí Gusano y mí Cuñís Cuñís.

Por ser siempre los mejores ejemplos a seguir, por tanto amor que me dan.

A usted Dra. Rocío y Mta. Elba.

Por la confianza que me dieron desde el primer momento en que me conocieron y el apoyo al dejarme realizar este proyecto.

A mis Prís, Quique y Mony.

Por ser mis otros hermanos, por crecer juntos y todo el amor incondicional que me dan día a día, LOS QUIERO MUCHO.

A mis QA's, Viviana, Cínthya y Nicté.

Gracias amigas por compartir tantos años juntas y por todas las experiencias compartidas, LAS QUIERO GORDITAS.

A tí Suleíma.

Por ser mi inseparable amiga durante la carrera, tanto esfuerzo ya dió resultados.

A tí David.

Por correr estos últimos km´s de la carrera en la Universidad a mi lado, por darme tú apoyo en cada momento y por ahora correr esta vida juntos. GRACIAS

A mis amigos, Diana, Cristina, Arturo, Jorge, Aldo y Fernando.

Gracias amigos, por compartir tantos momentos en Iniciación Universitaria, pero sobre todo por la paciencia y comprensión que me tuvieron en este largo camino de la Universidad.

A la vida.

Gracias por tantas enseñanzas, por esas altas y bajas que día a día me hacen más fuerte y feliz.

La historia muestra que muchísimas ideas surgieron cuando una persona salió de las fronteras de la razonabilidad.

Edward de Bono

INDICE

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

1.1 Introducción	1
------------------------	---

CAPÍTULO 2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos generales	3
-------------------------------	---

2.2 Objetivos particulares	3
----------------------------------	---

CAPÍTULO 3. ANTECEDENTES

3.1 La atmósfera	4
------------------------	---

3.2 Lluvia ácida	5
------------------------	---

3.3 Compuestos Orgánicos Volátiles (COV)	7
--	---

3.4 Ácidos Carboxílicos y Dicarboxílicos	8
--	---

3.5 Reacciones Fotoquímicas.....	10
----------------------------------	----

3.6 Origen de los ácidos carboxílicos y dicarboxílicos	10
--	----

3.7 Microextracción en Fase Sólida (SPME)	11
---	----

3.8 Cromatografía de Gases (CG)	14
---------------------------------------	----

CAPÍTULO 4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Sistema Cromatográfico	16
----------------------------------	----

4.2 Reactivos	16
---------------------	----

4.3 Extracción por la técnica de SPME.....	17
--	----

4.3.1 Fibra	18
-------------------	----

4.3.2 Tiempo de extracción	18
----------------------------------	----

4.3.3 Temperatura de extracción.....	18
--------------------------------------	----

4.3.4 Posición de la fibra	18
4.3.5 Tiempo de desorción	18
4.4 Validación del método SPME.....	19
4.4.1 Curva de calibración.....	19
4.4.2 Límite de Detección (LD) y Límite de Cuantificación (LQ)	20
4.4.3 Porcentaje de recobro	20
4.4.4 Muestras enriquecidas	20
CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y ANÁLISIS	
5.1 Sistema de Cromatografía de Gases.....	23
5.2 Extracción por la técnica de SPME	27
5.2.1 Fibra de extracción	27
5.2.2 Perfil del tiempo de extracción	28
5.2.3 Temperatura de extracción.....	30
5.2.4 Posición de la fibra	32
5.3 Validación del sistema	33
5.3.1 Curvas de calibración	33
5.3.2 Precisión del sistema.....	37
5.3.3 Muestras enriquecidas	39
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES.....	42
CAPÍTULO 7. BIBLIOGRAFÍA.....	43

RELACIÓN DE TABLAS

	CAPÍTULO 3	PÁG.
Tabla 1	Propiedades fisicoquímicas de cinco ácidos orgánicos	9
	CAPÍTULO 4	
Tabla 2	Selección de temperatura en el análisis cromatográfico	15
Tabla 3	Intervalos de las concentraciones de los ácidos orgánicos para realizar las curvas de calibración.	14
Tabla 4	Datos de muestras reales analizadas.	21
	CAPÍTULO 5	
Tabla 5	Tiempos de retención de los ácidos orgánicos.	26
Tabla 6	Características de las fibras de extracción utilizadas en SPME	27
Tabla 7	Ecuaciones de la recta para cada ácido y sus despejes correspondientes para el cálculo de las concentraciones reales.	36
Tabla 8	Precisión del sistema. Coeficiente de correlación, Límite de detección (LD), Límite de cuantificación (LQ) y Porcentaje de recobro (%R).	37
Tabla 9	Comparación de los tiempos de retención de los estándares y las muestras enriquecidas de los cinco ácidos orgánicos	39
Tabla 10	Áreas bajo la curva de los cinco ácidos orgánicos	40
Tabla 11	Concentraciones obtenidas del análisis de las muestras enriquecidas	41

RELACIÓN DE FIGURAS

	CAPÍTULO 3	PÁG.
Figura 1	Sistema para SPME	12
Figura 2	Proceso SPME; a) Absorción b) Desorción	13
Figura 3	Cromatógrafo de gases.	14
	CAPÍTULO 4	
Figura 4	Cromatógrafo de gases	15
Figura 5	Columna capilar.	15
Figura 6	Sistema de extracción.	17
	CAPÍTULO 6	
Figura 7	Cromatograma del ácido acético	23
Figura 8	Cromatograma del ácido propiónico	24
Figura 9	Cromatograma del ácido butanóico	24
Figura 10	Cromatograma del ácido maléico	25
Figura 11	Cromatograma del ácido hexanóico	25
Figura 12	Cromatograma de los cinco ácidos orgánicos volátiles	26
Figura 13	Cromatogramas de la evaluación de las tres fibras para la técnica de SPME	28

RELACIÓN DE GRÁFICAS

CAPÍTULO 5		PÁG.
Gráfica 1	Perfil del tiempo de extracción para los ácidos acético, propiónico y butanólico.	29
Gráfica 2.	Perfil del tiempo de extracción para los ácidos maléico y hexanólico.	30
Gráfica 3.	Efecto de la temperatura en la técnica de SPME	31
Gráfica 4.	Efecto de la temperatura en la precisión de los datos.	31
Gráfica 5.	Efecto de la posición de la fibra dentro del vial durante la extracción por SPME.	32
Gráfica 6.	Linealidad del ácido acético	33
Gráfica 7.	Linealidad del ácido propiónico	34
Gráfica 8.	Linealidad del ácido butanólico	34
Gráfica 9.	Linealidad del ácido maléico	35
Gráfica 10	Linealidad del ácido hexanólico	36

ABREVIATURA

COV /VOC	Compuesto Orgánico Volátil
SPE	Extracción en Fase Sólida
SPME	Microextracción en Fase Sólida
CG	Cromatografía de Gases
CGC	Cromatografía de Gases Capilar
mL	Mililitro
µg	Microgramo
L	Litro
HP	Hewlett Packard
DIF	Detector de Ionización de Flama
°C	Grados Celcius
min	Minutos
µL	Microlitro
CAR/PDMS	Carbowax/Polidimetilsiloxano
PDMS/DVB	Polidimetilsiloxano/Divinilbenceno
DVB/CAR/PDMS	Divinilbenceno/Carbowax/Polidimetilsiloxano
LD	Límite de Detección
LQ	Límite de Cuantificación

ABREVIATURAS

%R	Porcentaje de Recobro
mM	Milimolar
τ	T de student
α	Porcentaje de error
s	Desviación estándar
n	Número de datos
CT	Concentración Teórica
CE	Concentración Experimental
TV	Taxco el Viejo
BV	Bella Vista
mm	Milímetros
tr	Tiempo de Retención
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia
r	Coefficiente de Correlación
M1	Muestra 1
M2	Muestra 2
M3	Muestra 3

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

En los últimos siglos los seres humanos han desarrollado muchas maneras para explotar la tierra y sus recursos, acción que ha generado consecuencias como la contaminación del agua y la mala calidad del aire en las grandes áreas urbanas. Por ejemplo, en la ciudad de México, lugar en dónde se ha deteriorado tanto la calidad del aire que se ha vuelto peligrosa para la salud, los residuos se han dispersado en la tierra o han sido enterrados en ella, dejando un legado de veneno para las generaciones futuras.

En la actualidad uno de los principales desafíos que enfrenta la población del mundo es la preservación del Planeta Tierra como un lugar hospitalario para todas las formas de vida.

La degradación ambiental ha sido reconocida como un problema mundial durante las últimas décadas, por lo cual, varias naciones han empezado a tomar medidas, dirigidas a reducir la contaminación del agua, el aire y la tierra.

Se denominan Compuestos Orgánicos Volátiles (COV) y semi-volátiles, a aquellos compuestos orgánicos capaces de volatilizarse a temperatura ambiente. Dentro de este grupo se encuentran los ácidos carboxílicos y dicarboxílicos, que son compuestos orgánicos solubles en agua, de bajo peso molecular, alta polaridad y alta presión de vapor, características que les otorgan una importante influencia en las propiedades físicas y químicas de la atmósfera (Stanley, 2007; Ho, 2006).

Este grupo de compuestos son estudiados en diferentes áreas de investigación, por ejemplo, en la industria alimenticia, en aguas residuales y en la industria ganadera como un problema latente para la humanidad (Alanis 2008, 2010; Shao, 1999; Larreta; 2006)

En el pasado, el análisis de COV se realizaba por extracción líquido-líquido utilizando por mucho tiempo una gran cantidad de solventes. En la actualidad algunas técnicas se basan en la misma metodología pero es más común utilizar la extracción por Soxhlet. En los últimos años, la extracción líquido-líquido está siendo sustituida por la técnica de extracción en fase sólida (SPE) usando una gran variedad de diferentes sorbentes. La optimización selectiva de esta técnica fue alcanzada usando el análisis específico de sorbentes para diferentes clases de compuestos. La SPE es un método simple que utiliza poco tiempo en su realización a comparación del clásico método líquido-líquido. La más reciente modificación a la SPE es la ya utilizada Micro extracción en Fase Sólida (SPME) que fue introducida a la batería de pruebas analíticas basada en una fase líquida inmovilizada frecuentemente utilizada para el análisis de muestras acuosas (Eisert, 1996).

Para la determinación de los COV ya es empleada la (SPME), como una herramienta útil para muestras en fase líquida o gaseosa, y en la extracción de los ácidos orgánicos (Scheppers, 1999).

Publicaciones anteriores han logrado realizar la extracción, separación y análisis de estos compuestos en diferentes matrices principalmente en la industria alimenticia, controlando los factores que afectan directamente a la técnica (Eisert, 1996; Scheppers, 1999).

Para identificar las áreas geográficas en donde se necesita actuar de manera inmediata en los trabajos de reducción de contaminantes, es necesario que la Química Atmosférica determine las zonas que se encuentran dañadas y la proporción del daño. Es por esto que en este trabajo nos damos a la tarea de diseñar un método analítico para determinar la presencia y concentración de los ácidos orgánicos como marcadores de contaminación ambiental. Dentro de esta área de investigación, el químico analítico se encuentra con el obstáculo de analizar estos contaminantes en concentraciones a nivel de "trazas", por lo cual, es muy importante determinar los límites de detección y cuantificación para cada técnica.

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

2.1 Objetivo General.

El objetivo de este trabajo es desarrollar un método para cuantificar los ácidos carboxílicos y dicarboxílicos de bajo peso molecular en agua de lluvia por Microextracción en Fase Sólida (SPME) y Cromatografía de Gases (CG) para monitorear estos compuestos como marcadores de contaminación ambiental en México.

2.2 Objetivos Particulares.

- Establecer las condiciones de análisis cualitativo y cuantitativo por Cromatografía de Gases Capilar (CGC) de los ácidos orgánicos: Acético, Propiónico, Butanóico, Maléico y Hexanóico.
- Evaluar y establecer las condiciones óptimas para la extracción por el sistema SPME.
- Validar la metodología para implementarla en la cuantificación de ácidos carboxílicos y dicarboxílicos como una técnica de rutina en el análisis de la contaminación ambiental en agua de lluvia.
- Identificar posibles interferencias correspondientes a la matriz en estudio (lluvia).

CAPÍTULO 3

ANTECEDENTES

3.1 La atmósfera.

La Química Atmosférica comprende el estudio de la atmósfera contaminada y no contaminada. Las especies químicas gaseosas atmosféricas se pueden clasificar de la siguiente manera: Óxidos inorgánicos, oxidantes, reductores, compuestos orgánicos, especies orgánicas oxidadas, especies fotoquímicamente activas y especies reactivas inestables. Además, tanto las partículas sólidas como líquidas en los aerosoles atmosféricos y nubes, desempeñan un papel importante en la química atmosférica como fuente de especies gaseosas, como sitio para las reacciones en la superficie y como cuerpos para las reacciones en fase acuosa (Reid, 2002).

La atmósfera es una delgada capa protectora de gases mezclados que cubre la tierra, está constituida por 78.1% de nitrógeno, 21.0% de oxígeno, 0.9% de argón y 0.03% de dióxido de carbono (Fishman, 2003). Es la fuente de CO₂ para plantas y de O₂ para la respiración.

Otra función de la atmósfera, después de ser nuestro escudo protector contra la radiación solar, es la regulación de la temperatura de la tierra reabsorbiendo mucha de la radiación infrarroja que es reemitida hacia el espacio y así evita las temperaturas extremas. En el ciclo hidrológico la atmósfera juega un papel muy importante debido a que transporta agua de los océanos y mares a la tierra actuando así como una enorme destilería alimentada por la energía solar (Fishman, 2003).

El agua atmosférica puede estar presente como vapor (humedad), líquido (lluvia) o hielo (nieve). Para lograr que el vapor de agua se condense para llegar a formar lluvia o nieve la temperatura debe reducirse hasta el punto de rocío y deben estar presentes núcleos de condensación que son sustancias higroscópicas como sales, gotas de ácido sulfúrico o algunos materiales orgánicos (Fishman, 2003).

En la atmósfera el agua líquida se encuentra presente principalmente en las nubes, las cuales se forman cuando el aire que asciende ya no puede sostener agua en forma de vapor y el agua forma gotas muy pequeñas de aerosol. Las nubes son importantes porque absorben y reflejan la radiación solar. Algunos procesos químicos atmosféricos ocurren en solución en el interior de las gotas líquidas de las nubes (Fishman, 2003).

La formación de lluvia a partir de las gotas muy pequeñas de agua que constituyen las nubes tarda algo más de un minuto por condensación, estas gotas no son lo suficientemente grandes para caer en forma de precipitación, por lo cual, deben chocar unas con otras para formar gotas del tamaño de la lluvia (Manahan, 2007).

3.2 Lluvia Ácida.

El depósito atmosférico, es la cantidad de cualquier contaminante suspendido en la atmósfera que se deposita en la superficie de la tierra, si desciende por acción del viento o de la fuerza de gravedad se denomina depósito seco y si desciende por acción de algún tipo de precipitación meteorológica se denomina depósito o lluvia ácida (Alarcón, 2012).

La lluvia ácida se forma al reaccionar la humedad de la atmósfera con el dióxido de azufre (SO_2) y los óxidos de nitrógeno (NO_x) u otros contaminantes, como algunos compuestos orgánicos, influenciados por la temperatura y la radiación solar (Alarcón, 2012).

Se define como lluvia ácida aquella precipitación que presenta un $\text{pH} < 5.6$, esta definición considera que el agua presente en la atmósfera en forma de pequeñas gotas, ya tiene acidez. A diferencia de lo que comúnmente se define como disolución ácida (aquella que posee un valor de $\text{pH} < 7.0$) (Alarcón, 2012).

La saturación del agua presente en la atmósfera con determinados gases que se encuentran en forma natural, tales como el bióxido de carbono (CO_2), el nitrógeno (N_2) y el oxígeno (O_2) conlleva a la formación de otros compuestos que le imparten características ácidas como es el caso del bióxido de carbono (CO_2). Este gas al

reaccionar con el agua da lugar a la formación de ácido carbónico (H_2CO_3) (Alarcón, 2012).

Si los valores de pH de la lluvia son superiores a 5.6, se puede considerar la incorporación de depósitos secos y la disolución de partículas alcalinas, tales como carbonatos (Alarcón, 2012).

No se ha demostrado aún que la lluvia ácida ocasione efectos nocivos directos en los seres humanos, para que esto suceda tendrían que presentarse valores de pH en el agua de lluvia mucho más bajos de lo que actualmente se registran. Los riesgos potenciales de la salud se identifican por la presencia de los contaminantes precursores de la lluvia ácida, es decir los óxidos de nitrógeno (NO_x) y los óxidos de azufre (SO_x), dichos compuestos pueden provocar y agravar enfermedades respiratorias y del corazón, sus derivados en materia particulada como los sulfatos y los nitratos contribuyen a la degradación de la visibilidad y generar mayores impactos en la salud pública por ser material particulado muy fino (Alarcón, 2012).

Los efectos que la lluvia ácida ocasiona se detectan en los sistemas acuáticos, tales como arroyos, lagos y pantanales. La precipitación en los bosques, campos, edificios y caminos, pasa a formar parte del volumen de lluvia que fluye hacia éstos sistemas. La mayoría de lagos y arroyos tienen un pH entre 6 y 8, aunque algunos son naturalmente ácidos aun sin los efectos de la lluvia ácida (Alarcón, 2012).

La lluvia ácida afecta primordialmente a los cuerpos de agua sensibles, situados en cuencas cuyos suelos tienen una capacidad limitada para neutralizar compuestos ácidos (Alarcón, 2012).

En áreas con poca capacidad de amortiguamiento a los cambios de pH, la lluvia ácida disuelve algunos metales presentes en los suelos, los cuales puede ser transportado a los lagos y arroyos cercanos y que son sumamente tóxico para muchas especies de organismos acuáticos (Alarcón, 2012).

Dada la interdependencia que existe entre los múltiples peces, plantas y otros organismos que viven en un ecosistema acuático, los cambios en los niveles de pH

pueden afectar a la biodiversidad. Consecuentemente, a medida que los lagos y arroyos se tornan más ácidos, van disminuyéndose los números y clases de peces y otros animales y plantas acuáticas que viven en esos sistemas acuáticos (Alarcón, 2012).

En los ecosistemas terrestres, los daños provocados por la lluvia ácida afectan principalmente a los árboles y las plantas, sin embargo, usualmente la lluvia ácida no acaba con la vegetación, sino que actúa de manera gradual haciendo más lento su crecimiento y favoreciendo el ataque de plagas y enfermedades. Se sabe que la lluvia ácida disuelve los nutrientes y minerales del suelo (calcio, magnesio, potasio) y luego los arrastra consigo antes de que los árboles y las plantas puedan usarlos para su desarrollo, al mismo tiempo en situaciones extremas, la lluvia ácida incrementa la acidez de los suelos, lo cual provoca cambios en su composición debido a la lixiviación de nutrientes y al arrastre de metales tóxicos como el cadmio, níquel, manganeso, plomo, mercurio y aluminio, lo cual daña a la vegetación y a los organismos que de ella se alimentan (Alarcón, 2012).

La lluvia ácida también afecta de forma directa el patrimonio cultural ya que daña edificios, monumentos históricos, estatuas y otras estructuras de importancia cultural cuya pérdida serían invaluable. El daño se presenta en los materiales que recubren o forman dichas estructuras, las cuales están compuestas principalmente de piedra caliza, material muy susceptible a la degradación por ácido. Así mismo contribuye al deterioro de las pinturas, de los revestimientos de los automóviles y la corrosión de los metales como el bronce (Alarcón, 2012).

3.3 Compuestos Orgánicos Volátiles (COV).

Las sustancias que tienden a ser transportadas por la atmósfera son las relativamente volátiles. Tales sustancias incluyen las que son gases bajo las condiciones ambientales normales como el NO o el CO. Se denominan compuestos orgánicos volátiles “COV” o “VOC” por sus siglas en inglés, a cierto número de compuestos orgánicos como la gasolina y los clorofluorocarburos. Los compuestos orgánicos menos volátiles, que

también pueden entrar en el aire se clasifican como compuestos orgánicos semi-volátiles.

La formación de *smog* fotoquímico está determinada por las emisiones de NO_x y COV (Harrison, 1999).

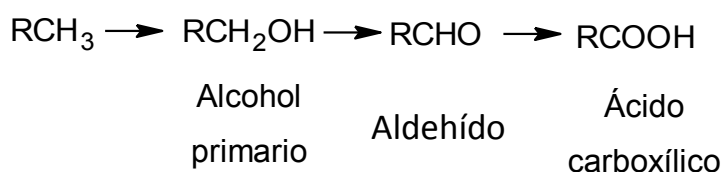
Los compuestos hidrofílicos, se disuelven fácilmente en el agua y se eliminan de la atmósfera por precipitación (lluvia).

Los COV son emitidos directamente a la atmósfera por una multiplicidad de fuentes como la quema de biomasa, la combustión de biocombustibles y combustibles fósiles y la emisión biogénica (Shanker, 2009). Estos compuestos también se producen a través de aerosoles orgánicos secundarios formados inicialmente por reacciones fotoquímicas (Oliveira, 2007; Sakugawa, 1995). La presencia de estos compuestos en el ambiente es indicador de una mezcla de fuentes de emisión y los procesos químicos generados en la atmósfera, por lo tanto pueden servir como marcadores útiles para la distribución de las fuentes y procesos químicos que implican carbonos orgánicos (Alanis, 2008).

3.4 Ácidos Carboxílicos y Dicarboxílicos.

Los ácidos carboxílicos y dicarboxílicos son un grupo de compuestos orgánicos solubles en el agua atmosférica, a estos compuestos se debe proporcionar gran importancia en su estudio debido a que juegan un papel importante en problemas climáticos globales y son los responsables en el equilibrio ácido-base en la atmósfera (Sanhueza, 2003). Debido a su bajo peso molecular, su alta polaridad, presión de vapor y su buena solubilidad en agua estos ácidos poseen una importante influencia en las propiedades físicas y químicas de la atmósfera (Ho, 2006).

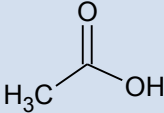
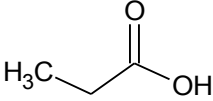
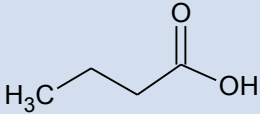
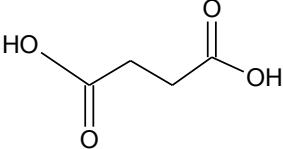
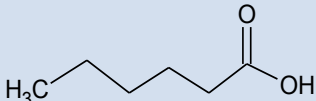
Los ácidos orgánicos se caracterizan por la presencia de un átomo de hidrógeno polarizado positivamente (McMurry, 2008). Son el grado máximo de oxidación del carbono en una combinación orgánica (Geissman, 1974).



Por el grupo carboxilo y su corta cadena de carbonos, estos ácidos poseen un carácter hidrofílico lo que los hace muy solubles en agua, por lo tanto en la atmósfera son removidos por la lluvia.

En la Tabla 1 se observan las propiedades fisicoquímicas de los cinco ácidos orgánicos en estudio.

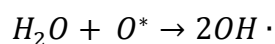
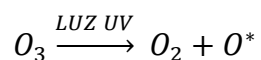
Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de cinco ácidos orgánicos.

Ácido	Fórmula molecular	Peso molecular (g/mol)	Densidad (g/ml)	Estructura
Acético	C ₂ H ₄ O ₂	60.1	1.05	
Propiónico	C ₃ H ₆ O ₂	74.1	0.99	
Butanóico	C ₄ H ₈ O ₂	88.1	0.964	
Maleíco	C ₄ H ₆ O ₄	116.1	-----	
Hexanóico	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.1	0.930	

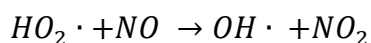
3.5 Reacciones Fotoquímicas.

La formación del ozono y la lluvia ácida como contaminantes secundarios se ve originada por procesos fotoquímicos complejos tanto en la fase gaseosa como en la fase acuosa de las gotas, tomando en consideración que estos compuestos pueden tener efectos adversos sobre el medio ambiente y la salud humana (Harrison, 1999; Oliveira, 2007).

Para comprender las reacciones fotoquímicas es fundamental considerar el efecto del sol, los fotones de la luz ultravioleta suministran el medio para que se inicien las reacciones químicas que de otra manera no tendrían lugar. La luz ultravioleta de una longitud de onda por debajo de 310 nm puede disociar el ozono, produciendo átomos de oxígeno excitados electrónicamente O^* que se dividen con mucha rapidez formando radicales hidroxilo $OH\bullet$ (Harrison, 1999).



Además de la disociación del ozono, el $OH\bullet$ proviene de la conversión de $HO_2\bullet$ y la fotólisis de aldehídos



Los radicales libres son extremadamente reactivos y tienen vidas muy cortas, sus concentraciones en la atmósfera son pequeñas, pero no por ello carecen de interés.

3.6 Origen de los ácidos carboxílicos y dicarboxílicos.

Se ha propuesto que el origen de los ácidos carboxílicos y dicarboxílicos es la degradación oxidativa de compuestos orgánicos volátiles antropogénicos y biogénicos por la acción de oxidantes troposféricos y la emisión de gases provenientes del tráfico primario (Ho, 2006; Shanker, 2009; Sakugawa, 1995).

Estudios previos de laboratorio indican que las reacciones de COV con OH• y ozono generan como productos ácidos orgánicos (Fisseha, 2009; Ho, 2006).

La vegetación y los suelos emiten estos ácidos, pero muy posiblemente la fuente natural más importante, en fase gaseosa sería la oxidación de hidrocarburos de origen biogénico. En fase acuosa, la oxidación de los aldehídos correspondientes podría jugar un rol significativo. Por otra parte, la reacción de los COV con el radical OH• es lenta, y su remoción de la atmósfera se produce casi exclusivamente por deposición (húmeda y seca), por todo lo anterior, existe el reporte que el origen de los ácidos carboxílicos y dicarboxílicos es en gran medida la oxidación fotoquímica de los COV biogénicos, emitidos por la vegetación (Sanhueza, 2003).

Se encuentra reportado en la literatura que la presencia de los ácidos carboxílicos como el ácido acético, propiónico, butanóico y hexanóico así como los ácidos dicarboxílicos como el ácido maleíco está relacionada con la emisión de fuentes primarias como la combustión, las emisiones biogénicas y el efecto oxidativo del ozono. (Fisseha, 2009).

Estudios previos indican que en grandes ciudades como Estados Unidos, Japón, el Norte de Europa y Asia los ácidos orgánicos se encuentran en abundancia en la fase acuosa y gaseosa de la troposfera, representando un gran porcentaje del total de carbono orgánico atmosférico. Con este antecedente y con lo reportado en la literatura, se cree que un alto porcentaje de la acidez de la precipitación pluvial se atribuye a la presencia de ácidos orgánicos en la atmósfera (Chebbi, 1996).

3.7 Microextracción en Fase Sólida (SPME).

La técnica de Microextracción en Fase Sólida (SPME) consiste en una fibra recubierta de una fase estacionaria dentro de una aguja, utilizando un sistema de regulación para la posición de la fibra, este sistema es empleado para la extracción de compuestos orgánicos en agua **Figura 1**.

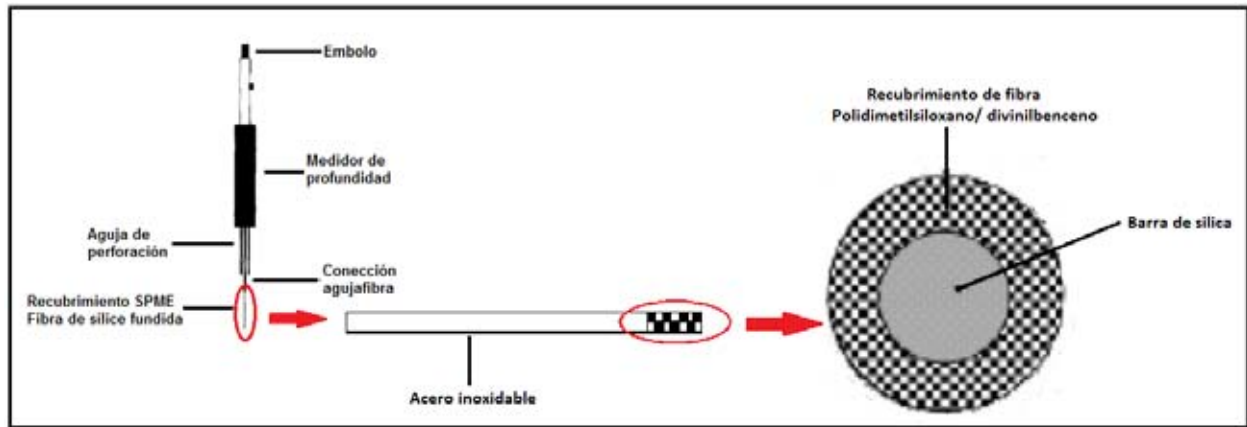


Figura 1. Sistema para SPME

La técnica de SPME consiste de dos etapas, la primera es la Adsorción de los solutos de interés (**Figura 2a**) por inmersión de la fibra dentro de la disolución, esta fibra está constituida por polímeros de diversas polaridades.

Las fibras pueden ser utilizadas en varios ciclos de extracción, dentro de un vial que puede contener entre 1 y 5 mL de disolución, en cada análisis. Esta metodología es utilizada en matrices sólidas, líquidas o gaseosas.

Existe una correlación entre la concentración del analito en la matriz y la cantidad adsorbida por la fibra ya que este sistema llega a un equilibrio durante la extracción.

La segunda etapa es la Desorción de los analitos (**Figura 2b**), en ésta la fibra se introduce en el inyector del cromatógrafo de gases. La temperatura del inyector provoca que los analitos sean desorbidos y pasen a la columna cromatográfica.

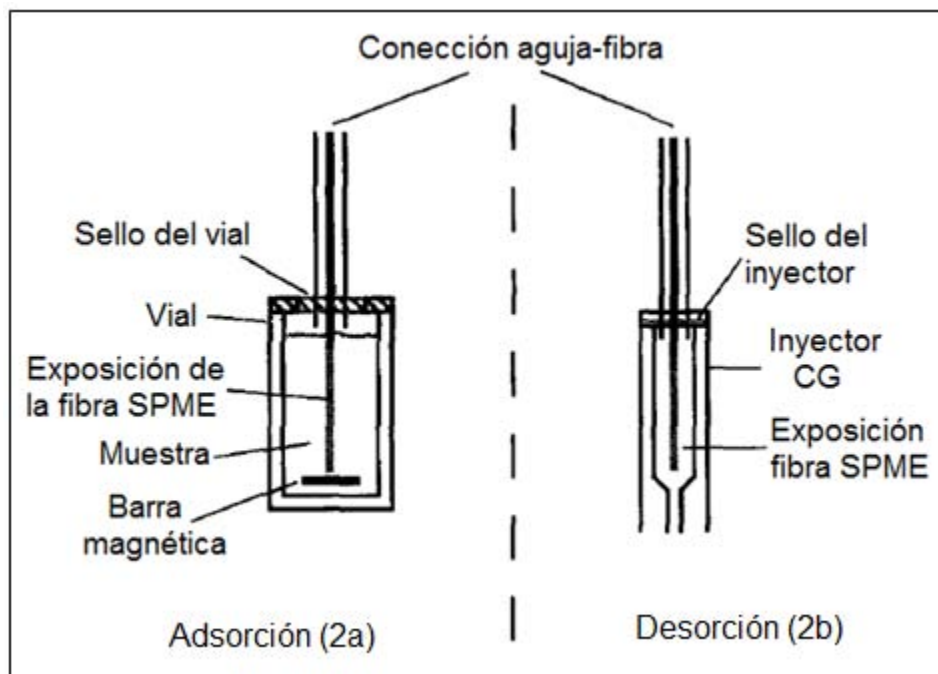


Figura 2. Proceso SPME; a) Adsorción b) Desorción (Eiser, 1996).

La técnica de SPME requiere optimizar las variables involucradas en los pasos de la extracción, la polaridad de la fibra, la temperatura, el volumen de la muestra, la posición de la fibra dentro del vial de la disolución y la velocidad de la agitación. En el caso de la desorción se controla la temperatura y el tiempo. La extracción del analito es completa cuando la concentración ha alcanzado el equilibrio de distribución entre ambas fases. Se ha demostrado que SPME es una técnica válida en la determinación de un gran grupo de compuestos en concentraciones a nivel de trazas ($\mu\text{g/L}$). Por ejemplo en el análisis rápido de explosivos, en compuestos semipolares en agua o en las impurezas orgánicas volátiles en productos farmacéuticos.

Para la determinación de los ácidos orgánicos ha sido utilizada la técnica de SPME, como una herramienta útil en muestras líquidas o gaseosas. Aunque existen ciertas desventajas con esta técnica, como son la reproducibilidad de la extracción entre fibras, inclusive del mismo lote de fabricación; el tiempo de vida media de la fibra y las constantes de reparto de los analitos. Por su tamaño y geometría cilíndrica la fibra de SPME es utilizada como una jeringa, características que facilitan que los analitos extraídos puedan ser analizados por Cromatografía de Gases (CG). (Scheppers, 1999)

3.8 Cromatografía de Gases (CG).

La cromatografía se describe como un proceso de separación por diferencia de migración de los componentes de una mezcla, transportados por la fase móvil y retenidos por la fase estacionaria. En relación con la fase móvil la cromatografía se divide en cromatografía de gases y de líquidos.

En la cromatografía de gases la fase estacionaria se encuentra dentro de un tubo capilar que puede tener silicones como base y estar modificada con diversos grupos funcionales, para dar como resultado una gran variedad de fases estacionarias clasificadas como no-polar, polaridad media y polar.

El proceso de separación está en función de las características de polaridad, estructura, tipo de enlace iónico o covalente del analito, su interacción con la fase móvil (gas acarreador) y la fase estacionaria (**Figura 3**).

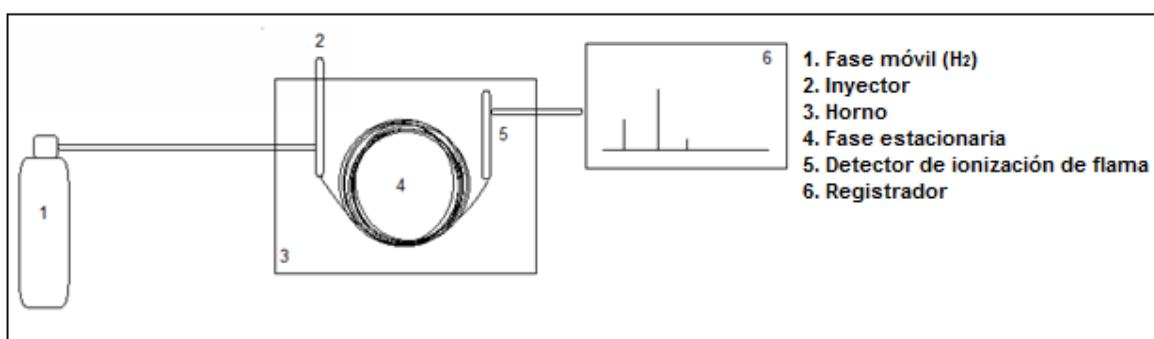


Figura 3. Cromatógrafo de gases.

Los detectores utilizados en Cromatografía de gases son de ionización de flama, captura de electrones, conductividad térmica y espectrometría de masas, entre otros.

En el detector de ionización de flama se producen partículas cargadas, las cuales son detectadas por su energía, que genera una corriente eléctrica y son traducidas por el detector como señal amplificada.

El análisis por Cromatografía de gases puede ser isotérmico, que utiliza temperatura constante o por gradiente de temperatura, en el que se modifica la temperatura en el horno cromatográfico durante la separación en función del tiempo de análisis.

CAPÍTULO 4

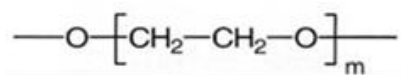
PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Sistema Cromatográfico

En el análisis cromatográfico se empleó un Cromatógrafo de Gases Hewlett Packard (HP) 5890 series II con Inyector “Split-splitless” (**Figura 4**). La columna capilar empleada fue Fused Silica Capilar CAT #007-FFAP (Quadrex Corporation, Woodbridge, USA) con dimensiones de 30 m X 0.25 mm DI x 0.25 µm de espesor de película (**Figura 5**). El detector fue un sistema de Ionización de flama (DIF).



Figura 4. Cromatógrafo de gases



Estructura Polietilenglicol



Figura 5. Columna capilar.

El sistema cromatográfico se determinó probando diferentes condiciones de análisis, isotérmico o rampa de temperatura (**Tabla 2**).

Tabla 2. Selección de temperatura en el análisis cromatográfico (Yazdanpanah, 2003; Hope, 2005).

Temperatura inicial (°C)	Rampa	Temperatura final (°C)	Tiempo final (minutos)	Temperatura del inyector (°C)	Temperatura del detector (°C)
130	Isotérmico	-----	-----	150	150
100	2°C por minuto	140	3	150	150
140	5°C por minuto	170	-----	200	200

Evaluando los tres programas de temperatura, se selecciona como el mejor iniciar en 140°C durante 1 minuto, rampa de temperatura de 5°C/min hasta 170°C. La temperatura del inyector y detector se mantuvieron en 200°C.

Para las inyecciones se utilizó una microjeringa de 10 µL (Hamilton Company, Reno Nevada, USA), de cada estándar se utilizó un volumen entre 0.6 y 1.6 µL dependiendo de la respuesta en el cromatograma, el análisis se realizó por duplicado.

4.2 Reactivos

Ácido Acético, Meyer, 99.7%; Ácido Propiónico, Meyer, 99.5%; Ácido Butanóico, J.T. Baker, 98.0%; Ácido Maléico, J.T. Baker, 99.0%; Ácido Hexanóico, Aldrich, 99.5%. Como medio de análisis y para el lavado de material se utilizó agua destilada. Los estándares de los ácidos orgánicos se prepararon a concentraciones conocidas, tanto en las inyecciones directas como para las extracciones por SPME.

4.3 Extracción por la técnica de SPME.

Se utilizó una mezcla de cinco estándares de ácidos orgánicos, Acético, Propiónico, Butanólico, Maléico, Hexanólico. Se introdujeron 3 mL de una mezcla de estos estándares en un vial con tapa de rosca de 4 mL, se colocó en una base de agitación magnética y se inició la extracción por SPME (**Figura 6**). La fibra extraída del vial se introduce al inyector del Cromatógrafo de Gases.

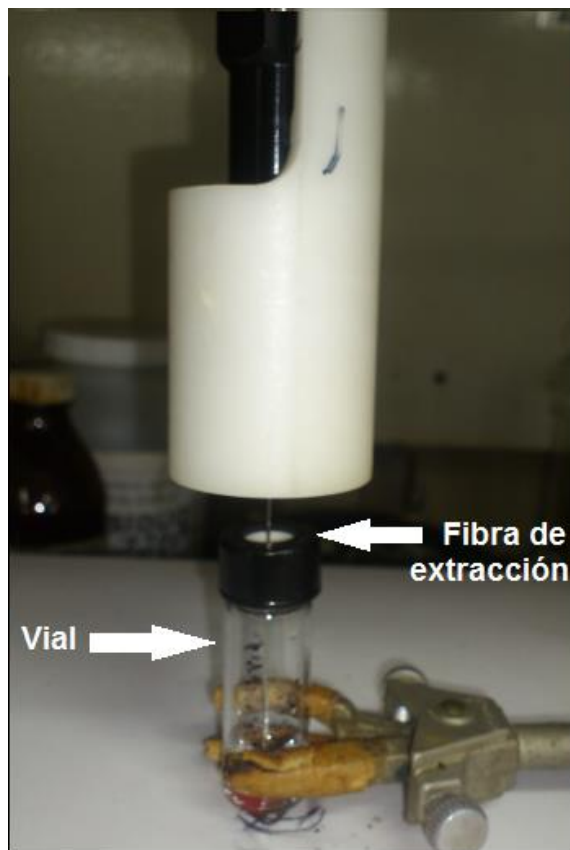


Figura 6. Sistema de extracción.

En base a la revisión bibliográfica, se desarrollaron una serie de experimentos para evaluar las mejores condiciones de extracción por SPME en el análisis de los COV: tres diferentes polaridades de las fibras, Fibra azul, (CAR/PDMS); Fibra rosa, (PDMS/DVB); Fibra gris (DVB/CAR/PDMS); dos temperaturas de extracción, temperatura ambiente ($25\pm 1^\circ\text{C}$) y 50°C ; tiempos de extracción de 1, 10, 15, 20 y 30 minutos; posición de la fibra dentro del vial, orilla y centro; y dos diferentes tiempos de desorción, 30 segundos y 1 minuto.

4.3.1 Fibra.

Se preparó una mezcla de los cinco ácidos orgánicos, se dividió en tres alícuotas que se sometieron a análisis por SPME, evaluando las tres fibras en estudio Fibra azul, (CAR/PDMS); Fibra rosa, (PDMS/DVB); Fibra gris (DVB/CAR/PDMS). A temperatura ambiente y 15 minutos de extracción. Este análisis se realizó por triplicado.

4.3.2 Tiempo de extracción.

Esta variable se analizó a temperatura ambiente. Se prepararon cinco disoluciones de la misma concentración, introduciendo al vial 3 mL de cada una, esta evaluación se realizó por duplicado, se introdujo la fibra previamente seleccionada dentro del vial y se programaron los cinco tiempos a ser evaluados 1, 5, 10, 15 y 30 minutos.

4.3.3 Temperatura de extracción.

Establecido el tiempo de extracción se evaluó la temperatura de extracción, temperatura ambiente y 50 °C. Se prepararon cinco disoluciones de la misma concentración y cada una se dividió en dos alícuotas de 3 mL. Para cada temperatura se realizaron diez experimentos.

4.3.4 Posición de la fibra.

La posición de la fibra se evaluó con la fibra, el tiempo y la temperatura de extracción previamente seleccionados. Se colocó un soporte para el vial y la posición de la fibra se movió en cada análisis, en a la orilla o al centro de la disolución.

4.3.5 Tiempo de desorción.

Esta variable fue evaluada con todos los parámetros previamente estudiados y establecidos como óptimos. Se introdujo la fibra después de la extracción por SPME dentro del inyector del Cromatógrafo de gases y se analizó el tiempo de 30 segundos y 1 minuto, como tiempos de desorción.

Al finalizar el análisis cromatográfico, se introdujo de nuevo la fibra al inyector y permaneció los 7 minutos que dura el programa de temperatura, se evaluaron estos segundos cromatogramas esperando no encontrar ninguna señal en ellos.

4.4 Validación del método SPME

Seleccionando las variables óptimas para la extracción por SPME y el análisis cromatográfico, se realizó la validación del método, el cual consistió en la determinación de la curva de calibración, el Límite de Detección (LD), el Límite de Cuantificación (LQ) y el porcentaje de recobro (%R) para cada ácido

4.4.1 Curvas de calibración.

Se realizó una mezcla inicial de los cinco ácidos con las concentraciones que se observan en la **Tabla 3**. A partir de ésta se realizaron diluciones secuenciales hasta identificar la concentración que nos generara una respuesta tres veces mayor a la observada por la línea base “ruido”. Estas diluciones se analizaron por la técnica de SPME en las condiciones óptimas antes seleccionadas.

Tabla 3. Intervalos de las concentraciones de los ácidos orgánicos para realizar las curvas de calibración.

Ácido orgánico	Concentración Inicial (mM)	Concentración final (mM)
Acético	17.4	0.349
Propiónico	6.6	0.134
Butanóico	1.1	0.022
Maléico	172.3	3.446
Hexanóico	0.032	0.0006

Los resultados se graficaron y se obtuvieron las ecuaciones de la recta con sus respectivos coeficientes de correlación.

4.4.2 Límite de Detección (LD) y Límite de Cuantificación (LQ).

Con la disolución de menor concentración de cada ácido orgánico, se realizó el cálculo del LD por medio de la Ecuación 1. Esta disolución se analizó por CG, ocho réplicas y mediante las ecuaciones de la recta obtenidas por las curvas de calibración se determinó su concentración como se observa más adelante.

$$LD = \frac{\tau * s}{\sqrt{n}} \dots\dots\dots \text{(Ecuación 1)}$$

Dónde:

τ = T de student ($\alpha = 0.05$ y 7 grados de libertad) (Miller, 2002)

s = Desviación estándar

n = Número de datos

Sustituyendo los datos en la Ecuación 1:

$$LD = \frac{1.8946 * s}{\sqrt{8}}$$

Obtenido el LD, se calculó el LQ el cual se determinó con la Ecuación 2.

$$LQ = 10 * LD \dots\dots\dots \text{(Ecuación 2)}$$

4.4.3 Porcentaje de recobro (%R).

Para determinar el %R se realizó una mezcla de los cinco ácidos con una concentración intermedia de la curva de calibración, se dividió en ocho alícuotas de 3 mL que se sometieron a la técnica de extracción SPME. Obtenidas las áreas de cada ácido, se

calculó su concentración por medio de la ecuación de la recta de las curvas de calibración como se observa más adelante.

Con la concentración teórica y el cálculo de la concentración experimental se obtuvo el %R por medio de la Ecuación 3.

$$\%R = \frac{CT}{CE} * 100 \dots\dots\dots(\text{Ecuación 3})$$

Dónde:

CT = Concentración teórica

CE = Concentración experimental

4.4.4 Muestras enriquecidas.

Se analizaron 6 muestras reales de lluvia, obtenidas de la temporada de precipitación del 2013 entre los meses de Junio, Julio y Agosto de las zonas de Taxco el Viejo (TV) y Bella Vista (BV) en el estado de Guerrero.

Tabla 4. Datos de muestras reales analizadas.

Muestra	Fecha	Volumen
TV-04	21-22 Junio 2013	27.4 mm
TV-09	9-11 Julio 2013	38.5 mm
TV-18	24-26 Agosto 2013	87.4 mm
BV-03	11 Junio 2013	16 mm
BV-10	9-13 Julio 2013	62 mm
BV-18	21 Agosto 2013	12.6 mm

A cada muestra se le realizó un tratamiento previo en el momento de su recolección filtrándolas y se conservaron en refrigeración hasta el momento de su análisis a 4°C.

Al momento del análisis, todas las muestras se sacaron de refrigeración y se esperó hasta que estuvieran a temperatura ambiente. Posteriormente, se mezclaron perfectamente en su envase original y se tomó una alícuota de 3 ml de cada una. Se sometieron a extracción por SPME y se analizaron por CG.

Obtenido el resultado se evaluó si se encontraban los ácidos en estudio y/o algún contaminante que pudiera interferir con el análisis.

Evaluadas las 6 muestras, se seleccionó una para ser enriquecida con los estándares de los cinco ácidos. Se prepararon 10 ml de la muestra a concentraciones que el analista desconocía y se sometieron a análisis tres alícuotas de la misma. Obtenidos los resultados se determinaron las concentraciones utilizando las ecuaciones de la recta previamente obtenidas para cada ácido como se observará en la sección de **validación del sistema** (5.3.1) **Tabla 8**.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS Y ANÁLISIS

5.1 Sistema Cromatográfico

En las **Figuras 7, 8, 9, 10 y 11** se presentan los cromatogramas de cada uno de los cinco ácidos orgánicos en estudio, con sus respectivos tiempos de retención.

Entre los parámetros cualitativos que se estudiaron para la selección de los cinco ácidos orgánicos a analizar, se encuentran la facilidad del manejo del reactivo, la resolución, la respuesta de la señal y su importancia como marcador ambiental (Sánchez, 2004).

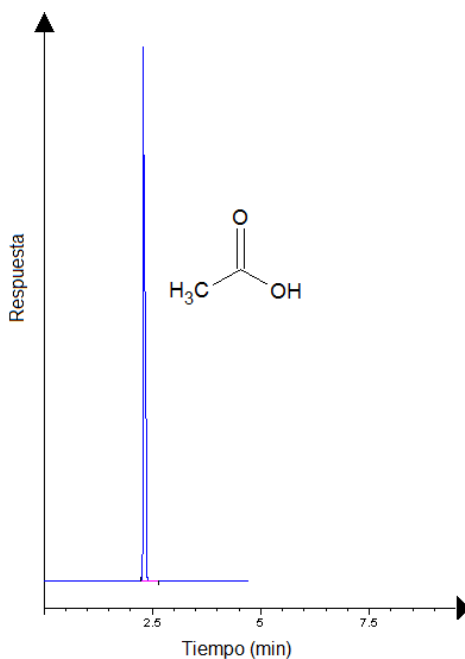


Figura 7. Cromatograma del ácido acético $t_r=2.2$ min

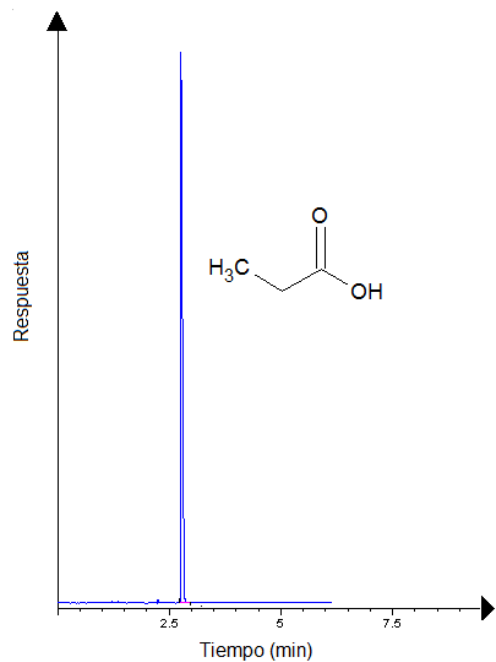


Figura 8. Cromatograma del ácido propiónico $t_r = 2.6$ min.

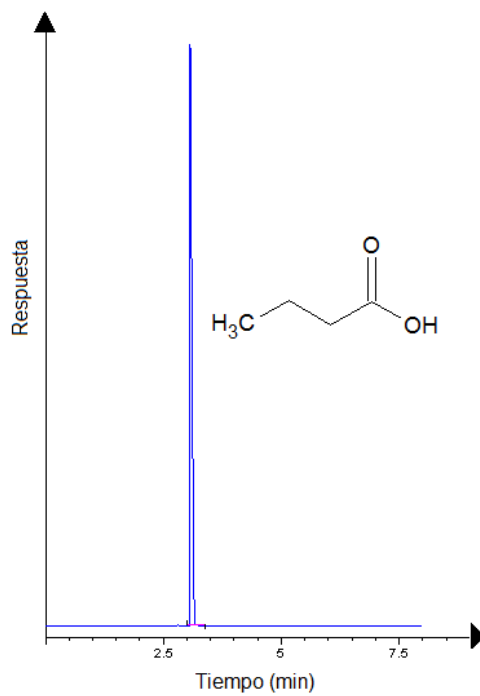


Figura 9. Cromatograma del ácido butanóico $t_r = 3.1$ min.

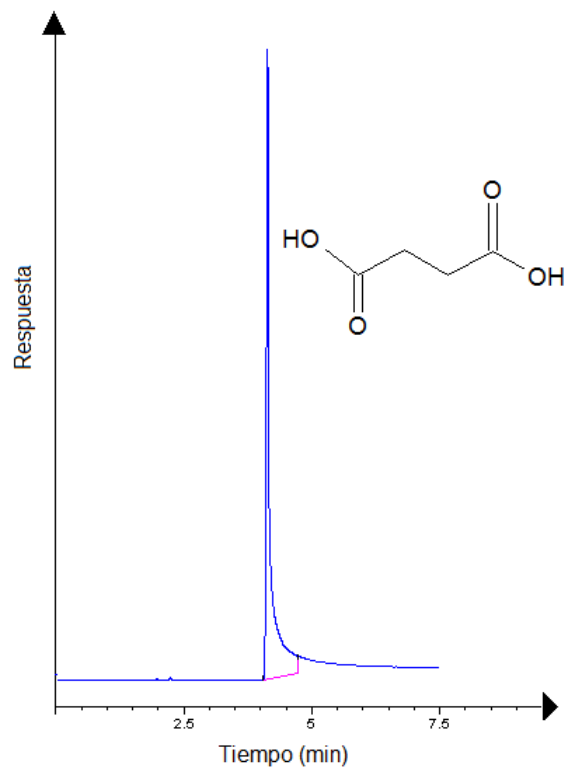


Figura 10. Cromatograma del ácido maléico $t_r = 3.9$ min.

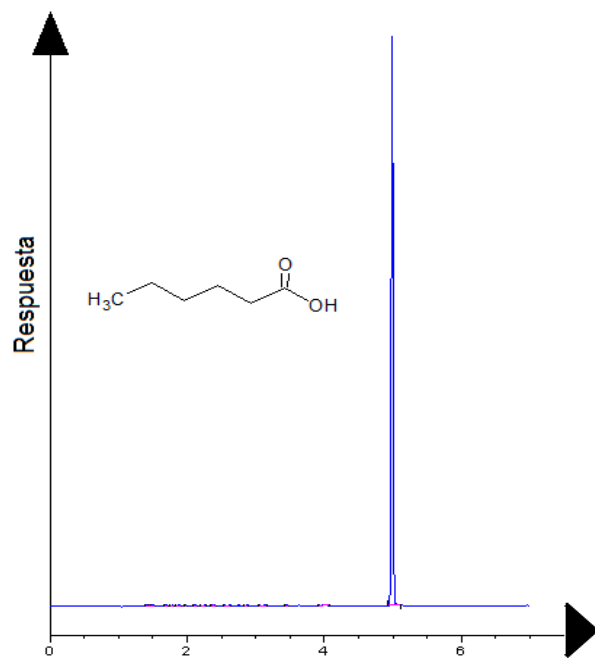


Figura 11. Cromatograma del ácido hexanóico $t_r = 4.9$ min.

Los tiempos de retención de los ácidos orgánicos obtenidos por inyección directa al cromatógrafo se muestran en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Tiempos de retención de los ácidos orgánicos.

Compuesto	Tiempo de retención (min)
Ácido acético	2.2
Ácido propiónico	2.6
Ácido butanóico	3.1
Ácido maléico	3.9
Ácido hexanóico	4.9

El cromatograma de una mezcla de estándares de los cinco ácidos orgánicos volátiles se muestra en la **Figura 12**. El protocolo analítico para la determinación de los ácidos fue aplicado en agua de lluvia como matriz de estudio que fue enriquecida con los estándares. En esta figura se puede observar que el pico cromatográfico del ácido maléico presenta un coleo, debido a la adsorción de este analito en la fibra y/o en la columna cromatográfica.

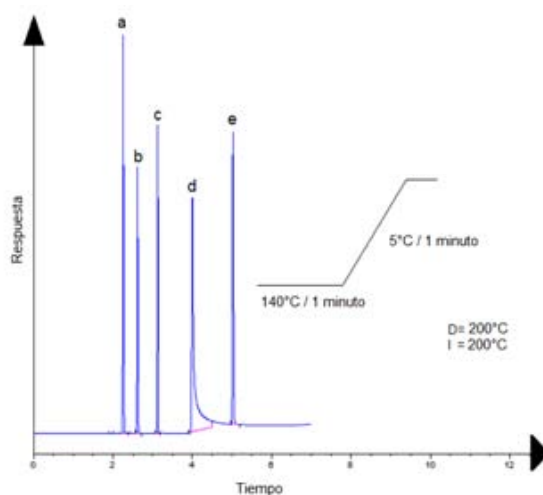


Figura 12. Cromatograma de los cinco ácidos orgánicos volátiles. a) Ácido acético; b) Ácido propiónico; c) Ácido butanóico; d) Ácido maléico; e) Ácido hexanóico.

5.2 Extracción por la técnica SPME

5.2.1 Fibras de extracción

Las fibras de extracción utilizadas se presentan en la **Tabla 6**, con sus respectivas características.

Tabla 6. Características de las fibras de extracción utilizadas en SPME (Piñeiro, 2008).

Material de extracción	Espesor	T máx (°C)	Vol. (µL)	Polaridad	Uso	Tipo
CAR/PDMS (Azul)	75 µm	340	0.436	Semipolar	GC	Parcialmente entrelazada
PDMS/DVB (Rosa)	65 µm	270	0.357	Semipolar	GC	Parcialmente entrelazada
	50 µm	-	0.415	Semipolar	HPLC	
DVB/CAR/PDMS (Gris)	50 µm	270	-	Semipolar	GC	Altamente entrelazada
	30 µm					

Los cromatogramas obtenidos como resultado de la evaluación de las tres fibras de SPME en estudio se, se presentan en la **Figura 13**; Carboxen / Polidimetilsiloxano (CAR/PDMS) Azul, Polidimetilsiloxano / Divinilbenceno (PDMS/DVB) Rosa, Divinilbenceno / Carboxen / Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) Gris.

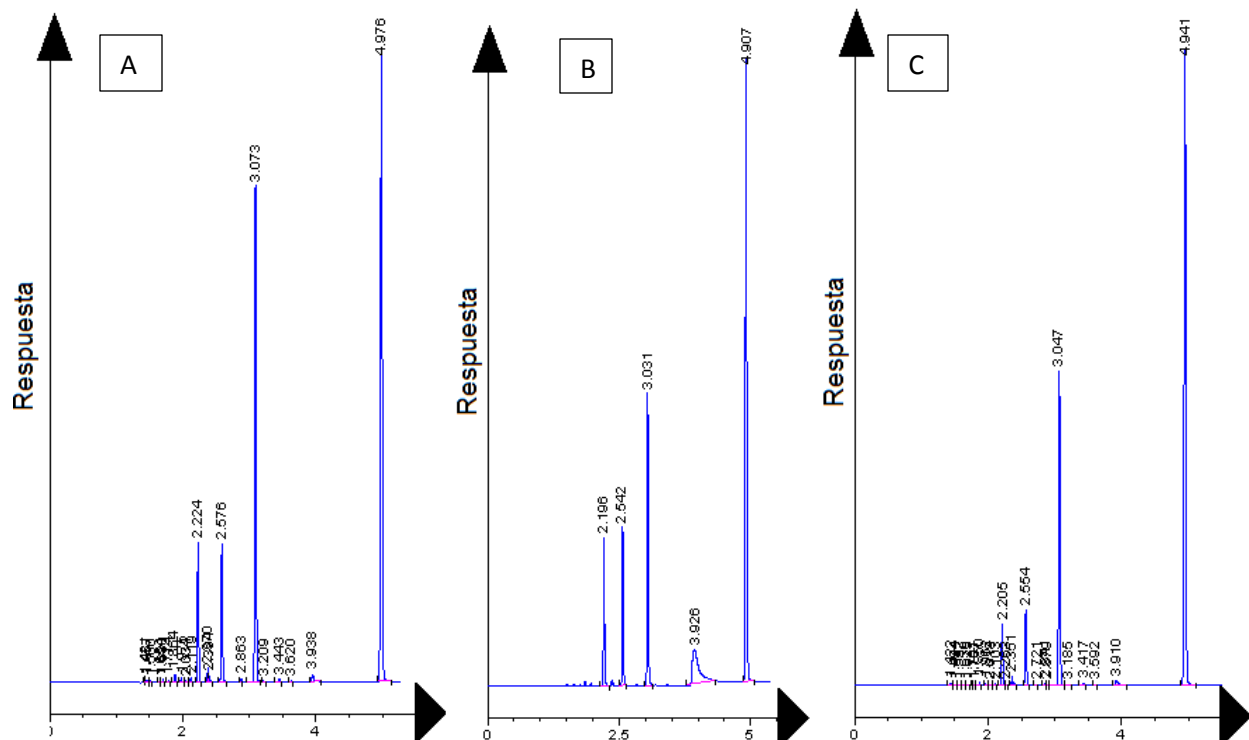


Figura 13. Cromatogramas que muestran la evaluación de las tres fibras para la técnica de SPME. A) CAR/PDMS (Fibra azul,); B) PDMS/DVB (Fibra rosa); C) DVB/CAR/PDMS (Fibra gris).

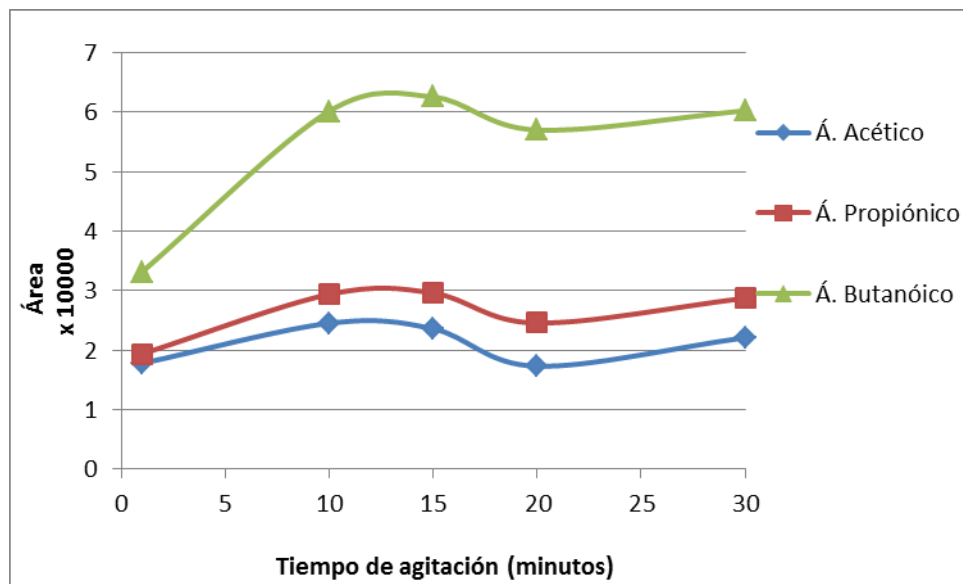
Analizando la fibra CAR/PDMS y la fibra DVB/CAR/PDMS (A y C) identificamos la presencia de un gran número de picos cromatográficos, adicionales a los picos de los cinco ácidos analizados. En ambas fibras también se observa que el pico del ácido maléico con tiempo de retención de 3.9 minutos presenta un valor de respuesta de área bajo, lo que nos indica que estas dos fibras no tienen una buena capacidad de extracción para este ácido. En comparación, la fibra PDMS/DVB (B) no presenta señales adicionales que puedan interferir con el análisis de los cinco analitos estudiados y para el ácido maléico se observa una respuesta mayor.

5.2.2 Perfil del tiempo de extracción.

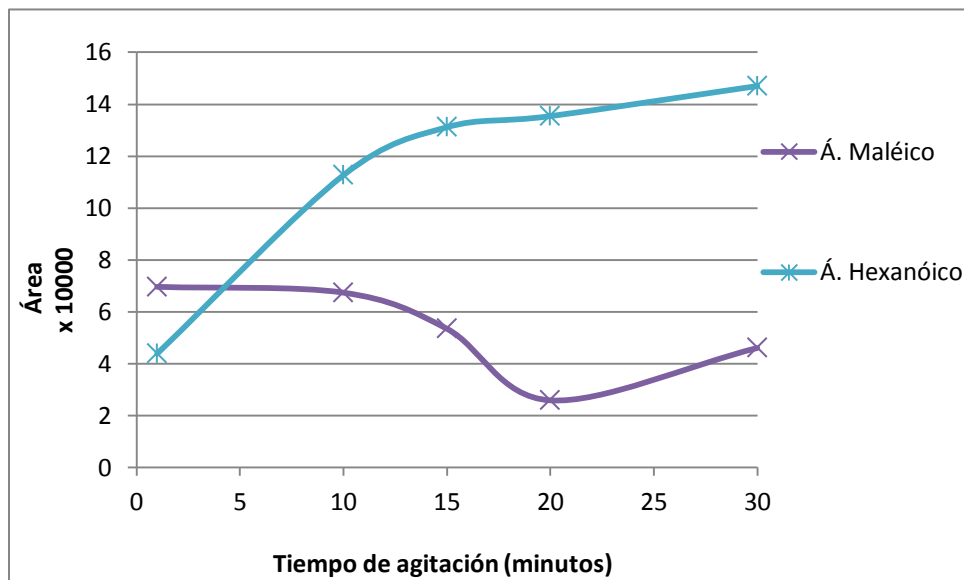
En función al perfil del tiempo de extracción se valúa la influencia del tiempo de exposición de la fibra con la muestra para optimizar el proceso. En las **Gráficas 1 y 2**, observamos el perfil del tiempo de extracción de los cinco analitos en donde

identificamos los comportamientos en los cinco niveles del tiempo de exposición de la fibra en la mezcla de los estándares.

Los ácidos, acético, propiónico y butanóico (**Gráfica 1**) logran el equilibrio de extracción a partir de los 15 minutos de contacto con la fibra y en agitación, mientras que el ácido hexanóico lo alcanza hasta los 30 minutos, es relevante el comportamiento del ácido maléico, ya que a tiempos de extracción altos la cantidad extraída decae notoriamente (**Gráfica 2**), este efecto puede ser atribuido al estado físico y químico del ácido, ya que es el único sólido y dicarboxílico.



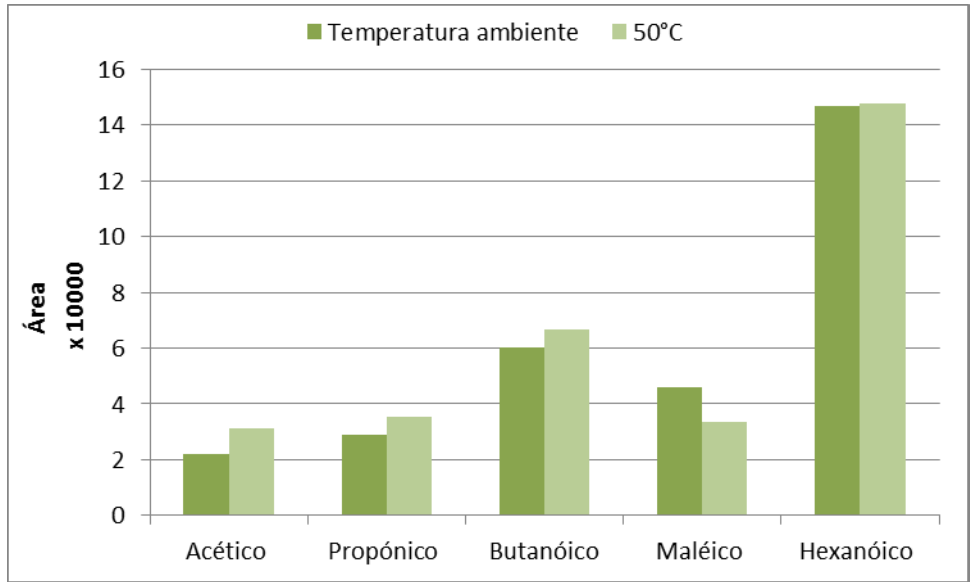
Gráfica 1. Perfil del tiempo de extracción para los ácidos acético, propiónico y butanóico.



Gráfica 2. Perfil del tiempo de extracción para los ácidos maléico y hexanóico.

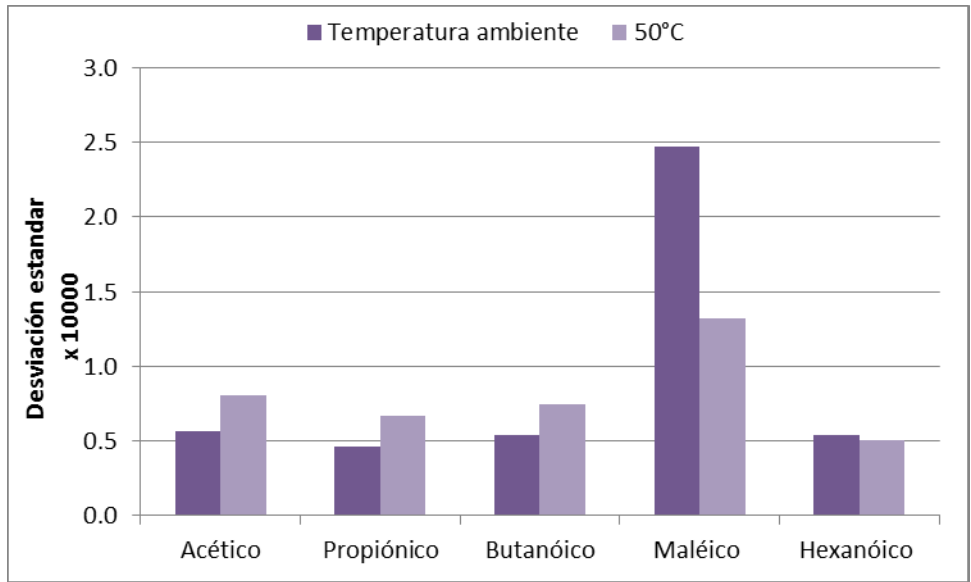
5.2.3 Temperatura de extracción.

La temperatura de extracción fue evaluada a dos niveles, temperatura ambiente ($25\pm 1^\circ\text{C}$) y 50°C . Estudios previos (Stack, 2000) indican que el efecto de la temperatura en la absorción de los analitos es importante, a mayor temperatura el tiempo que tardan en entrar en el equilibrio de concentraciones ambas fases (Fase SPME y la matriz) disminuye considerablemente. Evaluando este efecto la **Gráfica 3** nos muestra las temperaturas de extracción en función del área, que en el caso de los ácidos, acético, propiónico y butanóico, cumple este fenómeno, las áreas aumentan al aumentar la temperatura. En el caso del ácido hexanóico, se observa el mismo fenómeno pero en menor proporción. El ácido maléico presenta el fenómeno inverso, al aumentar la temperatura la concentración disminuye.



Gráfica 3. Efecto de la temperatura en la técnica de SPME

En base a estos resultados podríamos asignar la temperatura de 50°C como la óptima para el análisis, pero evaluando la desviación estándar de ambas temperaturas, como se muestra en la **Gráfica 4**, al aumentar la temperatura del sistema, la desviación estándar también aumenta, efecto que repercute directamente sobre la validación del método.

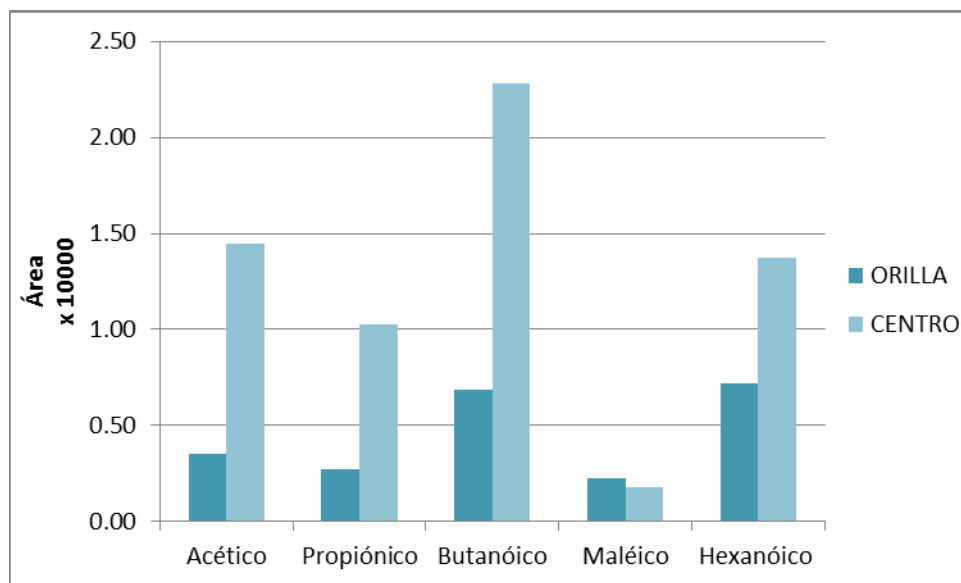


Gráfica 4. Efecto de la temperatura en la precisión de los datos.

Por lo anterior, la temperatura de análisis a la que se trabajó fue a temperatura ambiente (25°C).

5.2.4 Posición de la fibra

La posición de la fibra dentro del vial durante el tiempo de extracción es un factor importante a evaluar en la técnica de SPME. La **Gráfica 5** nos muestra el efecto de la posición de la fibra en el vial durante el tiempo de extracción.



Gráfica. 5. Efecto de la posición de la fibra dentro del vial durante la extracción por SPME.

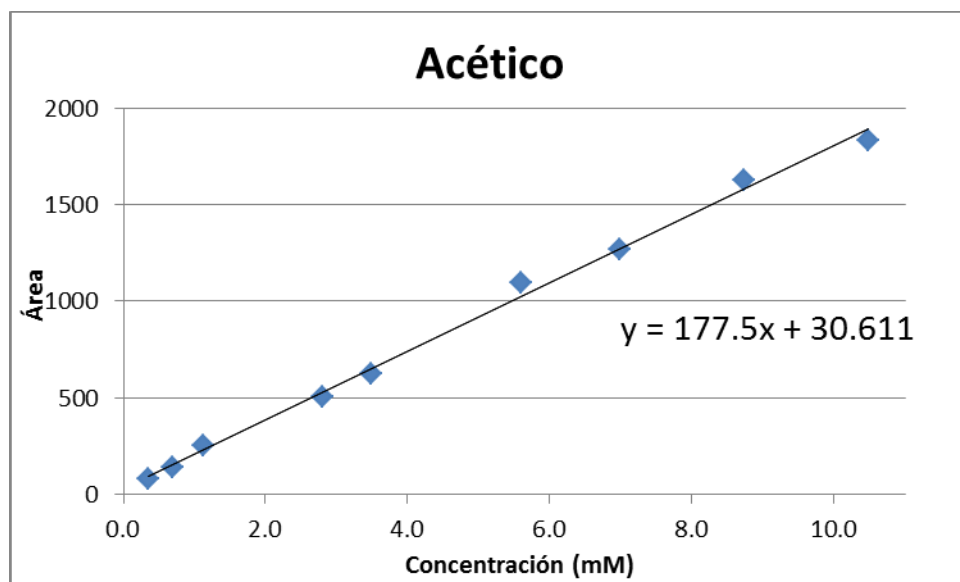
Analizando el efecto de esta variable, observamos que para los ácidos acético, propiónico, butanóico y hexanóico es conveniente colocar la fibra en la parte central del vial ya que aumenta considerablemente las áreas bajo la curva, este efecto podemos atribuirlo a que en el centro del vial se presenta mayor homogeneidad en la mezcla. En el caso del ácido maléico se identifica el efecto contrario pero la diferencia de las áreas es menor que en los otros cuatro ácidos

5.3 Validación del sistema.

5.3.1 Curvas de calibración.

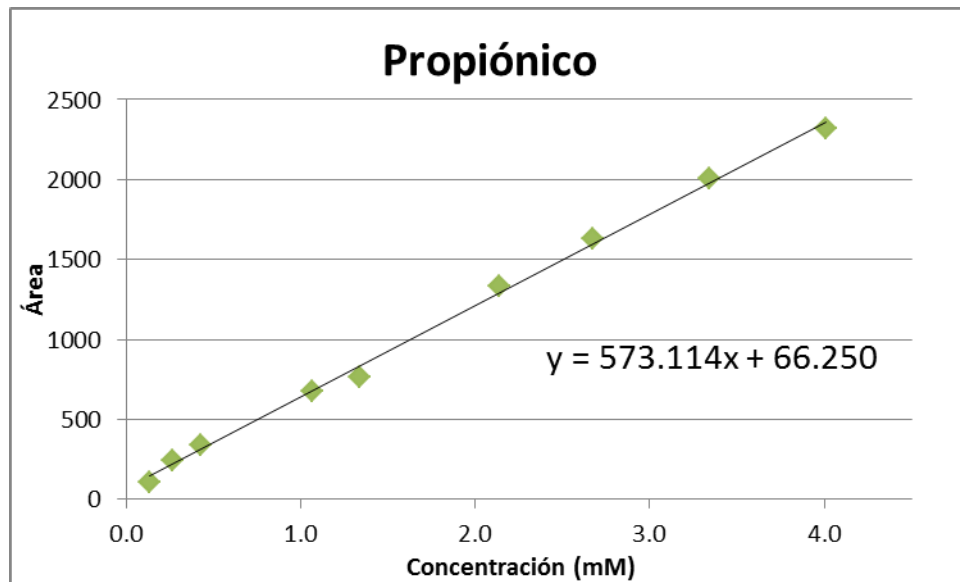
Para cada uno de los cinco ácidos se realizó una curva, las cuales se presentan a continuación:

La curva de calibración del ácido acético generada con nueve puntos se observa en la **Gráfica 6**, los cuales se ajustan de una manera adecuada a una recta en un intervalo de concentraciones de 0.35 a 10.5 mM.



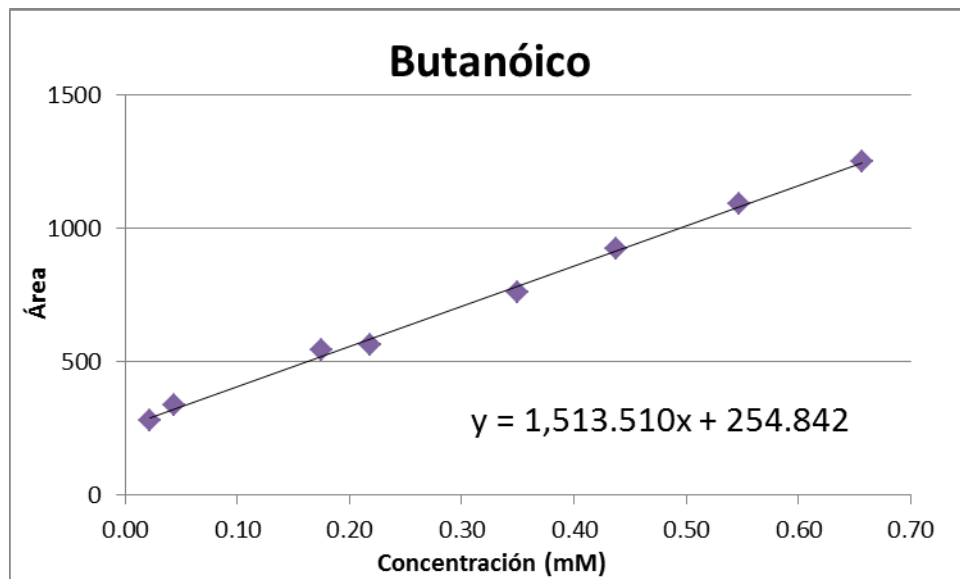
Gráfica 6. Linealidad del ácido acético

La linealidad del sistema para el ácido propiónico, **Gráfica 7**, se ajusta adecuadamente a una recta con nueve puntos en un intervalo de concentraciones de 0.13 a 4.0 mM.



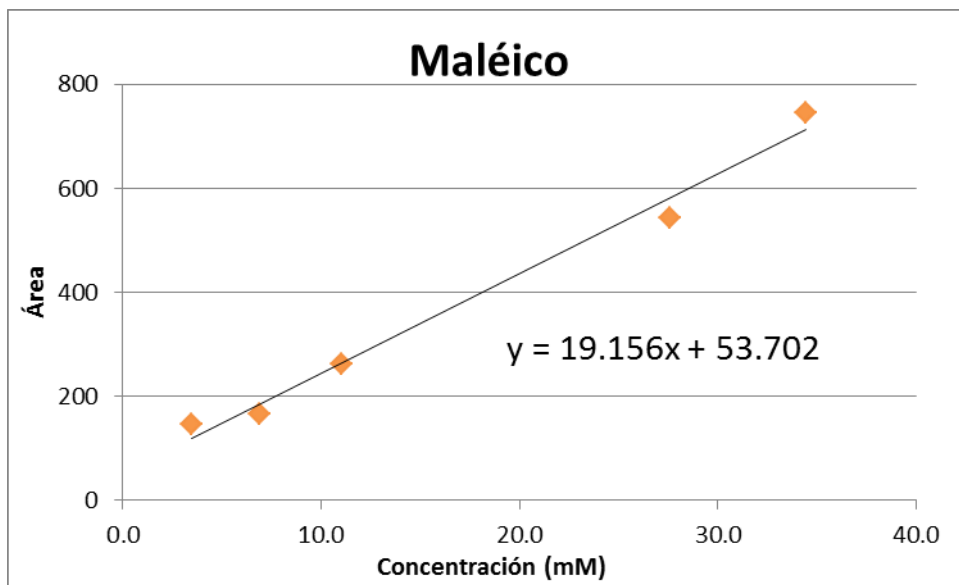
Gráfica 7. Linealidad del ácido propiónico

El ácido butanóico presenta una linealidad del sistema SPME que se mejor a una recta con ocho puntos que oscilan entre 0.022 a 0.66 mM, como se observa en la **Gráfica 8**.



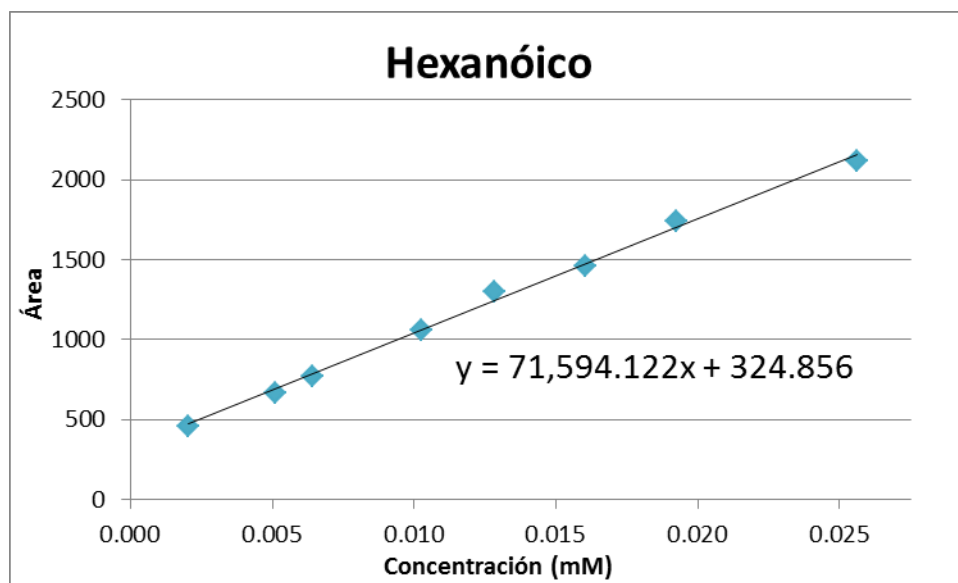
Gráfica 8. Linealidad del ácido butanóico

Para el ácido maléico se obtuvo la curva de calibración, que se presenta en la **Gráfica 9**, la cual presentó un menor ajuste a una línea recta con solo cinco puntos en un intervalo de concentraciones de 3.44 a 34.46 mM. Este efecto se observó debido al coqueo que presenta el ácido durante el proceso de separación por cromatografía y que durante el trabajo experimental no se logró homogeneizar la integración del área del pico cromatográfico, también se atribuye a su estado físico sólido, a la solubilidad y por lo tanto la cantidad que se puede detectar.



Gráfica 9. Linealidad del ácido maléico

Para el ácido hexanóico la **Gráfica 10** presenta su curva de calibración con ocho puntos, en el intervalo de concentraciones de 0.0021 a 0.025 mM. Este ácido es el que presenta una mejor respuesta en la extracción por SPME y en el sistema cromatográfico.



Gráfica 10. Linealidad del ácido hexanóico

Tabla 7. Ecuación de la recta para cada ácido orgánico.

Ácido	Ecuación de la Recta
Acético	$Y = 177.5 X + 30.611$
Propiónico	$Y = 573.114 X + 66.250$
Butanóico	$Y = 1513.510 X + 254.842$
Maléico	$Y = 19.156 X + 53.702$
Hexanóico	$Y = 71,594.122 X + 324.856$

5.3.2 Precisión del sistema

La precisión del sistema se evaluó por medio de los coeficientes de correlación (r), LD, LQ y %R. Los resultados se presentan en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Precisión del sistema. Coeficiente de correlación, Límite de detección (LD), Límite de cuantificación (LQ) y Porcentaje de recobro (%R).

Nombre	Coeficiente de correlación (r)	LD (μM)	LQ (μM)	% Recobro
Ácido acético	0.9980	35	354	100
Ácido propiónico	0.9985	20	200	98
Ácido butanóico	0.9990	2.5	25.4	97
Ácido maléico	0.9930	222	2227	119
Ácido hexanóico	0.9980	0.4	4.0	99

Se evaluó la precisión del sistema usando la mezcla de los estándares. La linealidad para los cinco ácidos en estudio se observa aceptable, destacando al ácido Maléico el cual, presenta un coeficiente de correlación menor (0.9930). El comportamiento de este analito en el sistema cromatográfico se ve de manifiesto en un pico “no simétrico”, lo que dificulta establecer el mismo criterio de evaluación con los otros cuatro ácidos como se comentó anteriormente. A concentraciones elevadas, el ácido Maléico presenta una mayor adsorción en la fase estacionaria. Las propiedades físicas y químicas de este ácido dicarboxílico, fueron consideradas en este análisis, estado de agregación y su baja solubilidad.

En el caso de los límites de detección y cuantificación de los ácidos orgánicos observamos cómo la metodología se vuelve más sensible conforme aumenta el número de carbonos presentes en cada cadena, como se demuestra para el ácido acético, propiónico, butanóico y hexanóico este efecto nos permite tener límites más bajos y por lo tanto cuantificar concentraciones a nivel de trazas (Shao, 1999). En el caso del ácido Maléico la **Tabla 8** nos muestra que este efecto no se cumple, se considera que es ocasionado por la baja respuesta que presenta este ácido.

El porcentaje de recobro para los ácidos acético, propiónico, butanóico y hexanóico es muy cercano al 100% lo que nos indica que este sistema es muy eficiente para la extracción y análisis total de los ácidos en las muestras. El ácido maléico presenta un porcentaje mayor al 100% (**Tabla 8**) este efecto también se atribuye al pico “no simétrico” que presenta en el cromatograma, dificultando identificar con certeza el inicio y fin del pico, y por tanto realizar una adecuada integración de la señal.

5.3.3 Muestras Enriquecidas.

Las muestras enriquecidas se evaluaron comparando los tiempos de retención, y las áreas en función a los resultados previamente obtenidos para identificar si había algún factor dentro de la matriz que afectara el comportamiento de los ácidos en este medio. En la **Tabla 9** se observa la comparación de los tiempos de retención entre las muestras y los estándares.

Tabla 9. Comparación de los tiempos de retención de los estándares y las muestras enriquecidas de los cinco ácidos orgánicos

Ácido	Estándar	Muestra enriquecida		
	tr (min)	M1	M2	M3
Acético	2.2	2.123	2.119	2.121
Propiónico	2.6	2.458	2.454	2.455
Butanóico	3.1	2.935	2.930	2.930
Maléico	3.9	3.802	3.803	3.817
Hexanóico	4.9	4.767	4.762	4.762

En base a los resultados de la **Tabla 9**, observamos que los tiempos de retención entre muestras enriquecidas son muy similares, solo difiriendo en el tercer decimal, en comparación con los estándares observamos una mayor diferencia, pero no suficientemente grande como para suponer que los picos presentes no pudieran corresponder a los ácidos en estudio. Este fenómeno se atribuye a la sistematización de la técnica de inyectado y a la repetibilidad del analista, ya que, al realizarse una mayor cantidad de inyecciones se logró aumentar la habilidad del analista en la forma de inyectar la muestra al equipo cromatográfico. Por lo anterior se puede decir que la

matriz (agua de lluvia) no posee ninguna característica o contaminante que pueda afectar en la identificación de los analitos en estudio.

Terminado el análisis se obtuvieron las áreas de cada uno de los cinco picos cromatográficos (**Tabla 10**).

Tabla 10. Áreas bajo la curva de los cinco ácidos orgánicos

Ácido	M1	M2	M3
	Área	Área	Área
Acético	545.3	561.6	559.2
Propiónico	835.1	863	842.9
Butanóico	534.5	532.6	552
Maléico	716.2	853.7	791.7
Hexanóico	2015	1888.5	1731

Obtenidas las áreas se realizó la conversión a concentración empleando las curvas de calibración obtenidas previamente (**Tabla 7**) y se obtuvieron los resultados que se observan en la **Tabla 11**.

Tabla 11. Concentraciones obtenidas del análisis de las muestras enriquecidas

Ácido	M1	M2	M3
	Concentración (mM)	Concentración (mM)	Concentración (mM)
Acético	2.90	2.99	2.98
Propiónico	1.34	1.39	1.36
Butanóico	0.18	0.18	0.20
Maléico	34.58	41.76	38.53
Hexanóico	0.024	0.022	0.020

Con las concentraciones calculadas, observamos que no hay una gran diferencia entre los resultados, lo que nos indica que en conjunto la SPME y la CG poseen una buena repetibilidad. Identificando también que el ácido Maléico se sigue comportando de la misma manera, presentando mayor diferencia en los resultados, impidiendo hasta este punto la estandarización de la integración del área bajo la curva por lo que sigue siendo difícil su cuantificación.

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES

Se aplicó la técnica de extracción por SPME en conjunto con CG para la determinación y cuantificación de ácidos orgánicos volátiles, acético, propiónico, butanóico, maléico y hexanóico en muestras de agua de lluvia enriquecidas.

Se establecieron las condiciones de análisis cualitativo y cuantitativo por Cromatografía de Gases Capilar con programa de temperatura, calentamiento inicial a 140°C durante 1 minuto, aumentando la temperatura gradualmente a 5°C por minuto hasta 170°C. Detector e inyector a 200°C.

Evaluando las variables del sistema SPME obtenemos como óptimas condiciones para el análisis de los ácidos orgánicos volátiles, utilizar: la fibra Polidimetilsiloxano /Divinilbenceno (PDMS/DVB) fibra rosa de 65µm de espesor de película y con características semipolares, 30 minutos de agitación a temperatura ambiente, colocando la fibra en el centro del vial y realizando la desorción de la fibra en el inyector cromatográfico durante 1 minuto.

La técnica SPME y Cromatografía de gases, se validó para implementarla en la cuantificación de ácidos carboxílicos y dicarboxílicos como una técnica de rutina para el análisis de contaminación ambiental en agua de lluvia. La técnica fue sensible, específica y reproducible con límites de detección en niveles de µM.

Al evaluar la matriz, Lluvia, no se encontraron factores que afecten o modifiquen de manera importante el análisis por SPME-CG.

La aplicación de esta técnica es de vital utilidad en el área ambiental para poder determinar el porcentaje que aportan este tipo de compuestos en la formación de lluvia ácida que afecta directamente a nuestro entorno, de igual manera aplicarlos como trazadores de contaminación ambiental y así generar una regulación como la que ya se aplica actualmente en Estados Unidos y algunos países de la Unión Europea.

CAPÍTULO 7

BIBLIOGRAFÍA

- Stanley, E. M. Introducción a la Química Ambiental, Reverté UNAM, 2007.
- Ho, K.F. Dicarboxylic acids, ketocarboxylic acids and dicarbonyls in the urban roadside are of Hong Kong. *Atmospheric Environment* **40** (2006) 3030-3040.
- Alanis, P. Measurement of non-enteric emission fluxes of volatile fatty acids from a California dairy by solid phase micro-extraction with gas chromatography/mass spectrometry. *Atmospheric Environment* **42** (2008) 6417-6424.
- Alanis, P. Emissions of volatile fatty acids from feed at dairy facilities. *Atmospheric Environment* **44** (2010) 5084-5092.
- Shao, P. Y. Analysis of volatile fatty acids in wastewater collected from a pig farm by a solid phase micro-extraction method. *Chemosphere* **38** (1999) 823-834.
- Larreta, J. Experimental design to optimize the analysis of organic volatile compounds in cow slurry by headspace solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1136** (2006) 1-9.
- Eisert, R. Solid-phase microextraction coupled to gas chromatography: a new method for the analysis of organics in water. *Journal of Chromatography A* **733** (1996) 145-157.
- Scheppers, S. A. W. Solid Phase Microextraction. A practical guide. Marcel Dekker, INC. USA, 1999.
- Reid, J. Chemistry in the clouds: the role of aerosols in atmospheric chemistry. *Science progress* **85** (2002) 263-296.
- Fishman, J. Overview: Atmospheric Chemistry. En Handbook of weather, climate and water. EEUUA, 2003, John Wiley & Sons.
- Manahan. S. Introducción a la química ambiental. México 2007. Reverté Ediciones S.A. de C.V.
- Alarcón, J. A. L. Lluvia ácida en la zona Metropolitana de la Ciudad de México. Tesis que para obtener el grado de Maestra en Ingeniería Ambiental-Aire. Realizada en el Centro de Ciencias de la Atmósfera. UNAM. 2012.

- Harrison, R. M. El medio ambiente. Introducción a la química medio ambiental y a la contaminación. España, Acribia S.A Zaragoza, 1999, pp. 55, 58-60, 67-70.
- Oliveira, C. Seasonal distribution of polar organic compounds in the urban atmosphere of two large cities from the North and South of Europe. *Atmospheric Environment* **41** (2007) 5555-5570.
- Shanker G. Carbonaceous and inorganic composition in long-range transported aerosols over northern Japan: Implication for aging of water-soluble organic fraction. *Atmospheric Environment* **43** (2009) 2532-2540.
- Sakugawa, H. Stable carbon isotope measurements of atmospheric organic acids in Los Angeles, California. *Geophysical Research Letters* **22** (1995) 1509-1512.
- Sanhuez, E. Compuestos orgánicos volátiles en la atmósfera de la gran Sabana II: HCHO, HCOOH y CH₃COOH en llluvias. *Interciencia* **28** (2003) Versión impresa ISSN 0378-1844.
- Mc Murry John. Química orgánica, Séptima edición, México (2008), Cengage Learning.
- Geissman. Principios de química orgánica, Segunda edición, México (1974) Editorial Reverté S.A. de C.V.
- Fisseha, R. Determination of primary and secondary sources of organic acids and carbonaceous aerosols using stable carbon isotopes. *Atmospheric Environment* **43** (2009) 431 – 437.
- Chebbi, A. Carboxylic Acids in the troposphere, occurrence, sources, and sinks: a review. *Atmospheric Environment* **30** (1996) 4233-4249.
- Eisert R. Levsen Karsten. Solid-phase microextraction coupled to gas chromatography: a new method for the analysis of organics in water. *Journal of Chromatography A* **733** (1996) 143-157.
- Phase Microextraction. A practical Guide. Marcel Dekker, INC. USA (1999).
- Yazdanpanah, M. et al. An improved assay for plasma methylmalonic acid using chemical ionization gas chromatography mass spectrometry. *Clinical Biochemistry* **36** (2003) 617-620.
- Sánchez, G. et al. Compuestos orgánicos volátiles en la ciudad de México. *Ciencia y Desarrollo en Internet* (2004) 1-7.

- Miller, N. J. Estadística y Quimiometría para Química Analítica. Cuarta edición. Madrid (2002). Prentice Hall.
- Piñeiro, P. M. Desarrollo de nuevos métodos de micro-extracción en fase sólida para la determinación de contaminantes emergentes en matrices acuosas. Universidad de Santiago de Compostela. (2007). Servicio de publicaciones e intercambio científico. ISBN: 978-84-9750-940-4
- Stack, M. A. Measurement of trihalomethanes in potable and recreational waters using solid phase micro extraction with gas chromatography-mass spectrometry. *Chemosphere* **41** (2000) 1821-1826.