

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA



**VALIDACION DE UN METODO ANALITICO PARA
LA DETERMINACION DE CONTAMINANTES
ORGANICOS VOLATILES EN AGUA POR
CROMATOGRAFIA DE GASES**

Por

Q.C.B. LUCIA YARELI COLUNGA GONZALEZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRIA EN CIENCIAS con Especialidad en
Química Analítica Biomédica

Enero, 2001

c.1

2001

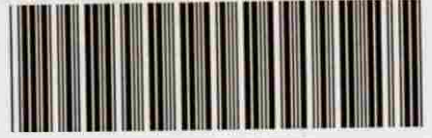
C6

.07

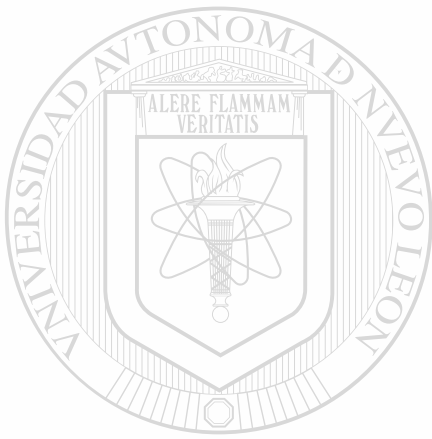
TM

TD427

O.C.B. LUCIA YARELI COLUNGA GONZALEZ



1080090920



UANL

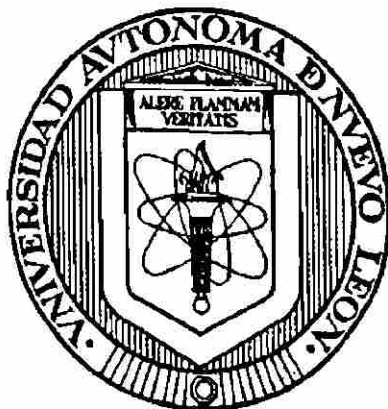
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



**VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN
DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS VOLÁTILES EN AGUA POR
CROMATOGRAFÍA DE GASES**

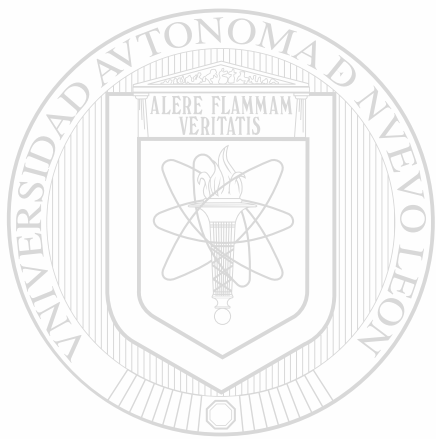
Por

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
Q.C.B. LUCÍA YARELI COLUNGA GONZÁLEZ ®
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRÍA EN CIENCIAS con Especialidad en
Química Analítica Biomédica**

Enero, 2001

T
T 7
. 7
CC
1



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



**VALIDACION DE UN METODO ANALITICO PARA LA DETERMINACION DE
CONTAMINANTES ORGANICOS VOLATILES EN AGUA POR CROMATOGRAFIA
DE GASES**

Aprobación de la Tesis:



DR. LORENZO HEYER RODRIGUEZ
Director de Tesis



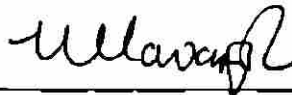
M.C. LIDIA RUNTIA NACCHA TORRES
Co-Director de Tesis



DRA. NOEMI WAKSMAN DE TORRES
Comisión de Tesis



ING. ANGEL ENRIQUE ALCORTA GARZA
Comisión de Tesis



M.C. NORMA CECILIA CAVAZOS ROCHA
Comisión de Tesis



DR. ROBERTO MERCADO LONGORIA
Subdirector
de Investigación y Estudios de Posgrado

VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE
CONTAMINANTES ORGÁNICOS VOLÁTILES EN AGUA POR
CROMATOGRFÍA DE GASES

Presentado por:

Q.C.B. LUCÍA YARELI COLUNGA GONZÁLEZ

Este trabajo se realizó en el Depto. de Química Analítica de la Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León y en el Laboratorio del Programa Universitario de Salud, bajo la asesoría del Dr. Lorenzo Heyer Rodríguez y la coasesoría de la M.C. Lidia R. Naccha Torres.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

FIRMAS

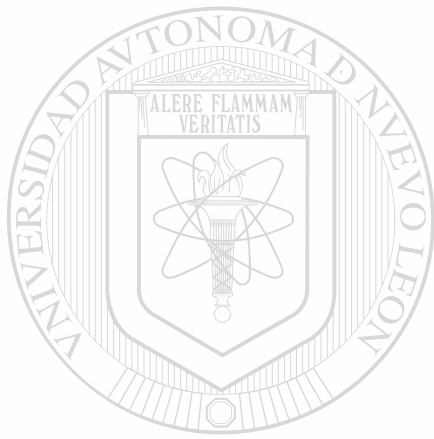
ASESOR


Dr. Lorenzo Heyer Rodríguez

COASESOR


M.C. Lidia R. Naccha Torres.

A mis abuelos, Atenedoro Colunga†,
Agapita Espronceda de Colunga, Joaquín
R. González† y Lucía Barrón de González†,
grandes personalidades cuyo invaluable
legado sigue presente en mi existencia.



*En los ancianos está la ciencia,
y en la larga edad la inteligencia.*

Job 12:12

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por su magnífica presencia en mi vida.

A mis padres, por saber serlo.

A mi comisión de tesis, integrada por: Dr. Lorenzo Heyer, M. C. Lidia Naccha, Dra. Noemí Waksman, Ing. Enrique Alcorta y M. C. Norma Cavazos, por el valioso tiempo invertido en sus certeras observaciones.

A la Dra. Noemí Waksman, coordinadora del posgrado con especialidad en Química Analítica Biomédica, por creer en mi.

A mis asesores, Dr. Lorenzo Heyer y M.C. Lidia Naccha, por su disponibilidad, paciencia y guía, cruciales para la realización de este trabajo.

Al Dr. Amador Flores Aréchiga, jefe del Depto. de Patología Clínica del H. U. y director de Programas de Salud U.A.N.L., por las facilidades concedidas para la realización de este trabajo.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

A la Q.C.B. Alma Morales, maestra del Depto. de Patología Clínica y a la Q.C.B. Leticia de Hoyos, encargada del Laboratorio de Patología Clínica del H. U., ambas coordinadoras del área de Laboratorio de Programas de Salud U.A.N.L., por su apoyo y deferencia en todo momento.

A todos y cada uno de mis maestros desde las primeras letras, por compartir sus conocimientos conmigo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico personal.

INDICE

Capítulo	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 El agua.	1
1.1.1 Su importancia en salud pública.	1
1.1.2 Criterios específicos de la calidad del agua.	3
1.1.2.1 Características organolépticas o físicas.	3
1.1.2.2 Características químicas.	3
1.1.2.3 Sustancias no deseables en exceso.	5
1.1.2.4 Sustancias tóxicas.	5
1.1.2.5 Parámetros microbiológicos.	5
1.1.3 Contaminación.	6
1.1.4 Riesgos a la salud.	7
1.2 Descripción del problema.	7
1.3 Objetivos.	9
1.3.1 Objetivo general.	9
1.3.2 Objetivos específicos.	9
2. ANTECEDENTES	11
2.1 Características físicas y químicas de los compuestos.	11
2.1.1 Hidrocarburos halogenados (organohaluros).	11
2.1.1.1 Diclorometano.	11

2.1.1.2	Cloroformo.	12
2.1.1.3	Tetracloruro de carbono.	12
2.1.2	Hidrocarburos aromáticos.	13
2.1.2.1	Benceno.	13
2.1.2.2	Tolueno.	14
2.1.2.3	Xileno.	14
2.2	Intoxicación.	16
2.3	Características toxicológicas del compuesto.	17
2.3.1	Hidrocarburos halogenados (organohaluros).	17
2.3.2	Hidrocarburos aromáticos.	17
2.4	Mecanismos de acción.	18
2.5	Máxima concentración permisible.	19
2.6	Técnicas de extracción.	21
2.6.1	Extracción líquido-líquido.	21
2.6.2	Extracción en fase sólida.	22
2.6.3	Extracción por purga y trampa	23
2.6.4	Extracción por <i>head space</i> .	24
2.6.5	Microextracción en fase sólida (SPME).	25
2.6.5.1	Descripción del dispositivo de SPME.	25
2.6.5.2	Procedimiento de SPME.	25
2.7	Métodos de referencia.	27
2.7.1	Compuestos orgánicos volátiles (VOCS) por purga y trampa.	28
2.8	Optimación.	30
2.8.1	Optimación por el método simplex secuencial básico (MSSB).	31

2.8.1.1 Metodología del MSSB.	31
2.9 Validación.	32
2.9.1 Linealidad.	33
2.9.2 Sensibilidad.	33
2.9.3 Límite de detección.	35
2.9.4 Límite de cuantificación.	36
2.9.5 Precisión.	36
2.9.6 Exactitud.	37
3. MATERIAL Y MÉTODOS	38
3.1 Equipo, material y reactivos.	38
3.1.1 Equipos.	38
3.1.2 Materiales.	38
3.1.3 Solventes.	39
3.2 Análisis cromatográfico de VOCS.	40
3.2.1 Condiciones de separación cromatográfica.	40
3.2.2 Determinación del rango de trabajo.	40
3.2.3 Identificación.	41
3.2.4 Cuantificación.	41
3.3 Optimación.	42
3.4 Microextracción en fase sólida.	45
3.4.1 Soluciones para VOCS halogenados.	45
3.4.2 Soluciones para VOCS aromáticos.	47
3.4.3 Metodología de la SPME.	49

3.5 Validación.	50
3.5.1 Linealidad.	51
3.5.2 Sensibilidad.	52
3.5.3 Límite de detección.	53
3.5.4 Límite de cuantificación.	54
3.5.5 Precisión.	55
3.5.6 Recuperación.	58
3.6 Estabilidad.	59

4. RESULTADOS

4.1 Compuestos halogenados.	61
4.1.1 Límites de detección y cuantificación.	63
4.1.1.1 Por inyección directa el cromatógrafo de gases.	63
4.1.1.2 Por microextracción en fase sólida.	66

4.1.2 Precisión, recuperación y estabilidad empleando SPME.

4.2 Compuestos aromáticos.	72
4.2.1 Límites de detección y cuantificación.	75
4.2.1.1 Por inyección directa el cromatógrafo de gases.	75
4.2.1.2 Por microextracción en fase sólida.	77
4.2.2 Precisión, recuperación y estabilidad empleando SPME.	80

5. DISCUSIÓN

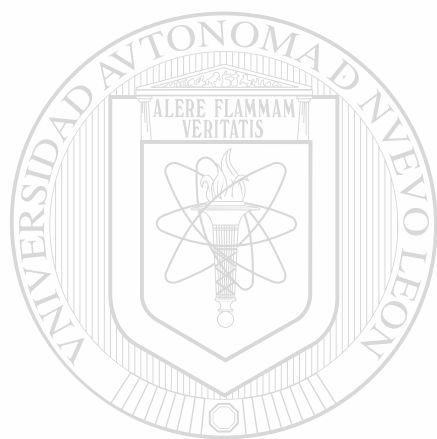
5.1 Optimización.	83
5.2 Efecto del grosor de la fibra sobre el límite de detección.	86

5.3 Análisis de VOCS halogenados por SPME.	86
5.3.1 Límites de detección.	86
5.3.2 Recuperación.	88
5.4 Análisis de VOCS aromáticos por SPME.	90
5.4.1 Límites de detección.	90
5.4.2 Recuperación.	92
5.5 SPME vs. métodos de referencia.	93
5.5.1 Inversión inicial.	93
5.5.2 Costo de mantenimiento.	94
5.5.3 Tiempo de análisis.	94
5.5.4 Separación cromatográfica y detectores.	95
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIÓN	97
6.1 Conclusiones.	97
6.2 Recomendación.	98
BIBLIOGRAFÍA	99
ANEXOS	102
ANEXO A	103
ANEXO B	109
ANEXO C	120

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
I	Máximas concentraciones permisibles de los VOCS.	21
II	Diseño de experimentos por MSSB para 3 variables (V).	31
III	Diseño inicial de experimentos por MSSB para compuestos halogenados.	43
IV	Diseño inicial de experimentos por MSSB para compuestos aromáticos.	43
V	Optimación de la respuesta del ECD para compuestos halogenados por MSSB.	62
VI	Límites de detección empleando fibras de diferente espesor.	66
VII	Límites de cuantificación empleando fibras de diferente espesor.	66
VIII	Límites de detección para compuestos halogenados por diferentes métodos.	69
IX	Límites de cuantificación para compuestos halogenados por diferentes métodos.	69
X	Precisión y porcentaje de recuperación de los compuestos halogenados.	70
XI	Optimación de la respuesta del FID para compuestos aromáticos por MSSB.	73
XII	Límites de detección para compuestos aromáticos por diferentes métodos.	79
XIII	Límites de cuantificación para compuestos aromáticos por diferentes métodos.	80
XIV	Precisión y porcentaje de recuperación de los compuestos aromáticos.	81
XV	Límite de detección y máxima concentración permisible (MCP) para compuestos halogenados.	88

XVI	Porcentajes de recuperación de los compuestos halogenados.	89
XVII	Límite de detección y máxima concentración permisible (MCP) para compuestos aromáticos.	91
XVIII	Porcentajes de recuperación de los compuestos aromáticos.	93
XIX	Comparación del método de referencia vs. SPME.	96



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

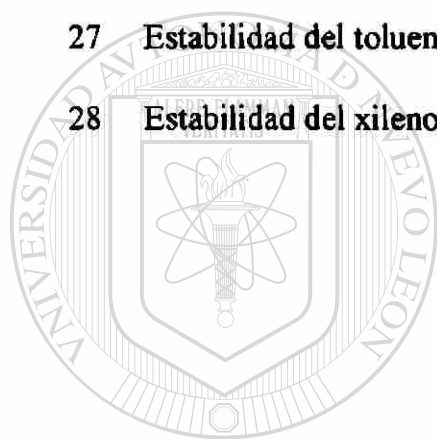
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Dispositivo de microextracción en fase sólida.	26
2	Proceso de microextracción en fase sólida.	27
3	Preparación de soluciones de compuestos halogenados.	46
4	Preparación de soluciones de compuestos aromáticos.	48
5	Precisión, recuperación y estabilidad de compuestos halogenados.	56
6	Precisión, recuperación y estabilidad de compuestos aromáticos.	57
7	Cromatograma de compuestos halogenados por inyección.	62
8	Cromatograma de compuestos halogenados por SPME.	63
9	Curva de calibración lineal del diclorometano por inyección.	64
10	Curva de calibración lineal del cloroformo por inyección	65
11	Curva de calibración lineal del tetracloruro de carbono por inyección	65
12	Curva de calibración lineal del diclorometano por SPME.	67
13	Curva de calibración lineal del cloroformo por SPME.	68
14	Curva de calibración lineal del tetracloruro de carbono por SPME.	68
15	Estabilidad del diclorometano en refrigeración a 4 °C.	71
16	Estabilidad del cloroformo en refrigeración a 4 °C.	71
17	Estabilidad del tetracloruro de carbono en refrigeración a 4 °C.	72
18	Cromatograma de compuestos aromáticos por inyección.	74
19	Cromatograma de compuestos aromáticos por SPME.	74
20	Curva de calibración lineal del benceno por inyección.	75

Figura**Página**

21	Curva de calibración lineal del tolueno por inyección.	76
22	Curva de calibración lineal del xileno por inyección.	77
23	Curva de calibración lineal del benceno por SPME.	78
24	Curva de calibración lineal del tolueno por SPME.	78
25	Curva de calibración lineal del xileno por SPME.	79
26	Estabilidad del benceno en refrigeración a 4 °C.	81
27	Estabilidad del tolueno en refrigeración a 4 °C.	82
28	Estabilidad del xileno en refrigeración a 4 °C.	82



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESUMEN

Q.C.B. Lucía Yareli Colunga González.
Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina

Fecha de graduación: Enero del 2001.

Título del estudio: VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS VOLÁTILES EN AGUA POR CROMATOGRFÍA DE GASES.

Número de páginas: 129.

Candidato para el grado de maestría en ciencias con especialidad en Química Analítica Biomédica.

Área de estudio: Química Analítica.

Propósito y Método de Estudio

Debido a los efectos tóxicos de los compuestos orgánicos volátiles (halogenados y aromáticos) presentes en agua potable, se desarrolló un método de análisis de los mismos en agua empleando cromatografía de gases. Se implementó la microextracción en fase sólida (SPME) como método de extracción, utilizando el detector de captura de electrones para los compuestos halogenados, encontrándose los siguientes límites de detección: diclorometano 1,6 ng/mL, cloroformo 0,09 ng/mL y tetracloruro de carbono 0,001 ng/mL. Los porcentajes de recuperación obtenidos fueron de: 85 %, 112 % y 109 % respectivamente. Los métodos de referencia que emplean sistemas de purga y trampa, reportan límites de detección de: 0,25 ng/mL para diclorometano, 0,05 ng/mL para cloroformo y 0,003 ng/mL para tetracloruro de carbono. Sus porcentajes de recuperación son: 85 %, 98 % y 90 % respectivamente.

Para los compuestos aromáticos se utilizó un detector de ionización de flama, encontrándose los siguientes límites de detección: benceno 78 ng/mL, tolueno 120 ng/mL y xileno 205 ng/mL. Los porcentajes de recuperación obtenidos fueron 98 %, 104 % y 100 % respectivamente. Los métodos de referencia reportan límites de detección de: 0,02 ng/mL para benceno, 0,02 ng/mL para tolueno y 0,002-0,004 ng/mL para xileno; con porcentajes de recuperación de: 100 %, 94 % y 85-90 % respectivamente.

Conclusiones y Contribuciones

El método desarrollado para compuestos orgánicos volátiles halogenados, puede ser propuesto como método oficial para el análisis de estos compuestos en agua potable, debido a que sus resultados son equiparables al método de referencia. El método desarrollado para compuestos orgánicos volátiles aromáticos, puede ser aplicado a el análisis de tolueno y xileno en agua potable, ya que, permite monitorear sus máximas concentraciones permisibles, a pesar de no igualar al método de referencia.

FIRMA DEL ASESOR



Dr. Lorenzo Heyer Rodríguez.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN



1.1 El agua

1.1.1 Su importancia en salud pública

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

El agua es el principal recurso natural en el mundo; sin ella, la vida humana no podría existir. Este líquido vital se encuentra presente en océanos, ríos, lagos, en las profundidades de la tierra formando mantos subterráneos, en forma de vapor en las nubes o en forma sólida en los glaciares; con sus características de incolora, inodora e insípida resulta ser la base de toda forma de vida orgánica (Tebbutt, 1992; Luna, Kenneth, 1974).

El agua representa el 7 % de la masa de la Tierra y puede clasificarse en dos tipos: el agua salada que comprende el 97,1 % del total de las aguas representada por mares y

océanos; y el agua fresca o dulce que apenas alcanza el 2,9 % del total de las mismas y está representada por el agua superficial (ríos, lagos, nieve y glaciares), el agua subterránea y el agua atmosférica.

Del total de las aguas dulces, el 78,2 % se encuentra presente como hielo glaciar, de ahí que solamente el 21,8 % del agua fresca puede ser utilizada para cubrir las necesidades del ser humano (Fair, et al., 1990).

La historia del agua representa la historia de la vida misma, ya Anaxágoras (500-428 A. C.) reconocía la importancia de la evaporación y las lluvias, Platón en el 350 A. C. escribió segmentos del ciclo “lluvia-escurrimiento”, Aristóteles (384-322 A. C.) describió la trayectoria cíclica del agua entre la tierra y la atmósfera, pero fue hasta el año de 1900 que nació la “química del agua”, y a partir de entonces comenzaron a realizarse los primeros análisis sobre la misma (Ayala, 1996) y así hasta nuestros días el hombre no sólo depende de ella para apagar su sed, sino para obtener energía, transporte y riego.

La importancia del agua para el hombre lo llevó a asentar las primeras civilizaciones cerca de las fuentes de agua; las comunidades que crecieron cerca de dichas fuentes comenzaron a contaminarlas, disminuyendo las condiciones higiénicas y propiciando la diseminación de enfermedades por el agua.

1.1.2 Criterios específicos de la calidad del agua

Para monitorear la calidad del agua, se hace uso de los siguientes parámetros:

1.1.2.1 Características organolépticas o físicas.

Las características organolépticas suelen ser fácilmente perceptibles por los consumidores, entre ellas se encuentran: la temperatura, (ideal para paladear es de 5 °C); la turbidez, que es un parámetro que representa la dispersión de la luz causada por la materia suspendida en el agua; el olor, el sabor y el color, que son el resultado de impurezas disueltas o suspendidas en el agua; la conductividad, que es la capacidad de conducir la electricidad y se relaciona con el total de sólidos disueltos o la salinidad del agua. Y por último los sólidos totales, que son la materia sólida residual que queda después de la evaporación del agua. Los sólidos totales se subdividen en: sólidos disueltos, que son aquellos que pasan por una membrana de 0,45 µm; los sólidos totales suspendidos, que son aquellos retenidos por dicho filtro de membrana y los sólidos sedimentables, que son aquellos que sedimentan de la suspensión dentro de un periodo de tiempo (Tebbutt, 1992).

1.1.2.2 Características químicas.

Las características químicas del agua son específicas de la misma y resultan las más utilizadas para evaluar su calidad, todas ellas se presentan de forma natural y son las siguientes:

El pH, que es una medida de la acidez, dicho pH puede controlar la actividad biológica y las reacciones químicas que ocurren en el agua.

La alcalinidad, que es la capacidad del agua de neutralizar un ácido. Dicha alcalinidad es causada por la presencia de iones de bicarbonato, carbonato e hidroxilo y resulta de suma importancia pues permite la formación de sistemas buffer de forma natural que evitarán los cambios bruscos de pH.

La acidez, que se considera la capacidad cuantitativa de reaccionar con una base fuerte para un determinado pH. Las fuentes de acidez son los ácidos minerales fuertes, los ácidos orgánicos débiles y las sales hidrolizadas como los sulfatos de hierro o aluminio.

La dureza, que representa la suma de las concentraciones de calcio y magnesio. Su importancia radica en la capacidad del agua de formar precipitados (sarros); anteriormente se le consideraba la capacidad del agua para precipitar jabones.

El oxígeno disuelto, que es de vital importancia para conservar la vida acuática y proveer la autopurificación de la corriente de agua.

Y la demanda de oxígeno, que representa el oxígeno requerido para la oxidación de la materia orgánica y puede ser de dos tipos, la demanda bioquímica de oxígeno y la demanda química del mismo. La primera de ellas es causada por la degradación bioquímica de las sustancias orgánicas y la degradación de los iones sulfhidrilo y ferroso

por los microorganismos. La segunda es causada por la materia orgánica susceptible a la oxidación por un oxidante químico fuerte (Tebbutt, 1992).

1.1.2.3 Substancias no deseables en exceso.

En este grupo encontramos una amplia variedad de substancias, muchas de ellas pueden causar un impacto directo en la salud a altas concentraciones, otras solamente causan problemas con el olor, color o sabor y otras más no son peligrosas pero son indicadores de contaminación. En este grupo encontramos: nitritos, nitratos, amonio, fluoruros, hierro, manganeso, cloruros, fenoles ,etc. (Tebbutt, 1992).

1.1.2.4 Substancias tóxicas.

Estas substancias son nocivas si se encuentran presentes en el agua, por ejemplo: arsénico, cianuro, metales pesados, hidrocarburos aromáticos policíclicos y pesticidas (Tebbutt, 1992).

1.1.2.5 Parámetros microbiológicos.

Estos representan el principal parámetro de calidad para el agua potable, que usualmente se basa en la presencia de bacterias coliformes, las cuales, son indicadoras de contaminación con heces fecales (Tebbutt, 1992).

1.1.3 Contaminación

Se considera contaminante, aquella sustancia que se encuentre presente en el medio ambiente en una concentración tal, que cause daño (Fernicola, 1987). La presencia de contaminantes en el agua puede causar efectos nocivos en los ecosistemas e impactar en la salud humana. La detección de sustancias químicas contaminantes y la determinación de los niveles de concentración, tienen un papel importante para preservar la salud pública. Por ello, debemos entender cómo, dónde, cuándo, por qué y en qué grado se ve afectada la salud pública por los contaminantes del agua (Lin, 1981). Ya en 1842 Sir Edwin Chadwick concluía: -La salud depende de la saneación- (Tebbutt, 1992).

Con el paso de los años, la industrialización y la explosión demográfica trajeron como consecuencia la generación y acumulación de residuos químicos, los cuales pueden llegar a los mantos acuíferos sin haber recibido ningún tipo de tratamiento, causando la contaminación de ríos y lagos, mismos que pueden ser usados como fuentes de agua potable; por otro lado, muchos de estos residuos no pueden ser eliminados en las plantas purificadoras de agua, generándose así problemas económicos, sanitarios y estéticos.

Además en nuestra rutina diaria hacemos uso de infinidad de productos químicos, naturales o sintéticos y cada año salen al mercado miles de productos nuevos; muchos de estos productos, o bien, sus residuos, aparecen en el medio ambiente en forma de contaminantes emanados de los procesos de producción o consumo (Somers, 1981).

1.1.4 Riesgos a la salud

Los riesgos potenciales por la presencia de productos químicos en el agua pueden presentarse como un efecto agudo, producto de una descarga accidental de material tóxico sobre una fuente de abastecimiento de agua, en tales concentraciones que sea capaz de producir síntomas más o menos inmediatos en los consumidores, además de efectos obvios en la fuente de agua, tales como, mortandad de peces, sabores fuertes y olores penetrantes.

El segundo efecto a considerar se presenta cuando el contaminante se convierte en un riesgo a largo plazo, debido a la exposición prolongada a concentraciones muy pequeñas de éste, el cual se acumula en la víctima por meses o años hasta que se observan los síntomas o la enfermedad.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

1.2 Descripción del Problema

De todos los contaminantes que podrían estar presentes en el agua surge la gran incógnita ¿Cuántos de estos compuestos afectan la salud humana o el medio ambiente? (Lin, 1981).

Conforme se incrementa el conocimiento sobre los efectos de las diferentes formas de

contaminación ambiental, aparecen nuevos peligros potenciales, uno de ellos es el riesgo carcinogénico por la presencia de compuestos orgánicos en el agua, aun en pequeñas concentraciones.

Hoy en día, se cuenta con métodos modernos de análisis que permiten detectar trazas de compuestos orgánicos, cuya presencia se desconocía anteriormente, y a pesar de que su riesgo a la salud es a largo plazo, no se debe pasar por alto su presencia en el agua potable.

Las mediciones de carbono orgánico total (TOC) en el agua, muestran un predominio del 95 % de compuestos orgánicos no volátiles, sin embargo, se estima que del 5 al 25 % de los compuestos volátiles presentes en ella, son en su mayoría tóxicos y responsables de olores y sabores desagradables, de ahí nuestro interés hacia este tipo de compuestos (Garrison, 1977; Horwitz, 1986).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Ante la incógnita de no saber si estamos o no expuestos a tales contaminantes y si lo estamos, en que grado, se pretende establecer un método para la detección de los compuestos orgánicos volátiles (VOCS), evaluando la eficiencia de la microextracción en fase sólida (SPME), así como, comparando los parámetros de resolución obtenidos por el método de cromatografía de gases contra los que establece el método de referencia (Bellar, 1989).

El presente trabajo se enfoca a dos grupos de compuestos orgánicos volátiles en particular: los hidrocarburos halogenados y los aromáticos. Entre los primeros

estudiaremos al diclorometano, cloroformo y tetracloruro de carbono; y entre los segundos al benceno, tolueno y xileno. La selección se realizó con base en que son compuestos considerados de importancia toxicológica y se encuentran presentes en el agua potable con mayor frecuencia.

1.3 Objetivos

Para llevar a cabo nuestra propuesta, nos hemos trazado los siguientes objetivos:

1.3.1 Objetivo general

Validar un método analítico para determinar contaminantes orgánicos volátiles en agua, empleando microextracción en fase sólida y cromatografía de gases.

1.3.2 Objetivos específicos

1 Desarrollar un método de análisis de compuestos orgánicos volátiles en agua.

a) Establecer las condiciones óptimas de separación cromatográfica para los

compuestos halogenados diclorometano, cloroformo y tetracloruro de carbono, así como, para los aromáticos benceno, tolueno y xileno.

- b) Establecer las condiciones óptimas de microextracción en fase sólida para dichos compuestos.

2 Validar los métodos desarrollados.

- a) Determinar el límite de detección, límite de cuantificación, linealidad y sensibilidad.

- b) Determinar precisión y recuperación.

- c) Determinar la estabilidad de las muestras.

- 3 Comparar los métodos desarrollados con los establecidos por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) 502.1 “Compuestos orgánicos volátiles halogenados en agua, por cromatografía de gases (GC) de purga y trampa (P&T)” y 503.1 “Compuestos orgánicos volátiles aromáticos e insaturados en agua, por cromatografía de gases de purga y trampa”.

CAPÍTULO 2

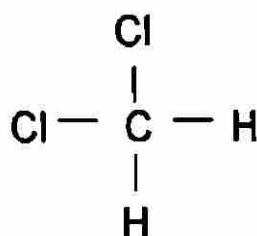
ANTECEDENTES

2.1 Características Físicas y Químicas de los Compuestos

2.1.1 Hidrocarburos halogenados (organohaluros)

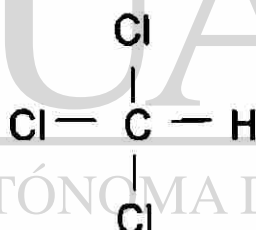
2.1.1.1 Diclorometano.

El diclorometano (DCM) o cloruro de metileno, CH_2Cl_2 , es un hidrocarburo líquido, incoloro y volátil, sus vapores no son inflamables y cuando se mezclan con el oxígeno no son explosivos. Tiene un peso molecular de 84,94 g/mol y una gravedad específica de 1,322 a 20 °C. Su punto de ebullición es de 39,45 °C y el de fusión de - 95 °C. Tiene un índice de refracción de 1,4244. Toxicidad al humano: narcótico a altas concentraciones (Weiss, 1986; Budavari, *et al.*, 1989).



2.1.1.2 Cloroformo.

El cloroformo (CRF) o triclorometano, CHCl_3 , es un líquido volátil e incoloro, no inflamable, de sabor dulce y aroma característico, con un punto de ebullición de $61\text{ }^\circ\text{C}$ y un punto de fusión de $-63\text{ }^\circ\text{C}$. Su peso molecular es de $119,39\text{ g/mol}$ y su gravedad específica es de $1,49$ a $20\text{ }^\circ\text{C}$. Tiene un índice de refracción de $1,4476$. Toxicidad al humano: la inhalación de dosis altas provoca hipotensión, paro respiratorio, cardíaco y muerte. Se utiliza como solvente y agente limpiador (Weiss, 1986; Budavari, *et al.*, 1989).

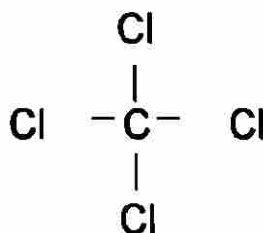


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

2.1.1.3 Tetracloruro de Carbono.

El tetracloruro de carbono (CBT) o tetraclorometano, CCl_4 , es un líquido volátil e incoloro, no inflamable y de olor característico. Tiene un peso molecular de $153,84\text{ g/mol}$ y una gravedad específica de $1,59$ a $20\text{ }^\circ\text{C}$ con un punto de ebullición de $76,7\text{ }^\circ\text{C}$ y un punto de fusión de $-23\text{ }^\circ\text{C}$. Su índice de refracción es de $1,4607$. Toxicidad al humano: es venenoso por inhalación, ingestión o absorción por piel, puede causar la muerte. En intoxicaciones crónicas causa daño hepático y renal. Es utilizado

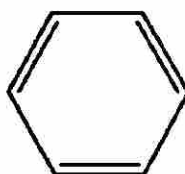
ampliamente como solvente en la industria y los procesos químicos (Weiss, 1986; Budavari, *et al.*, 1989).



2.1.2 Hidrocarburos aromáticos

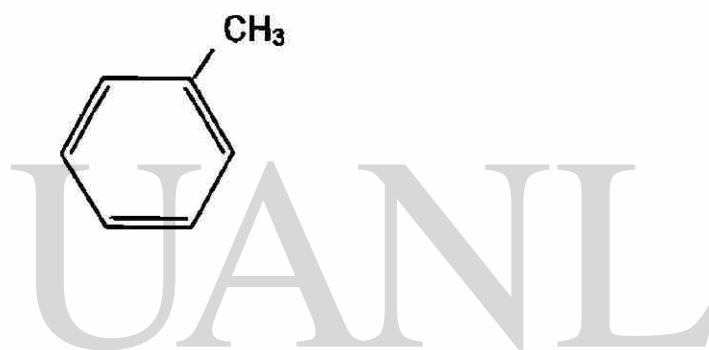
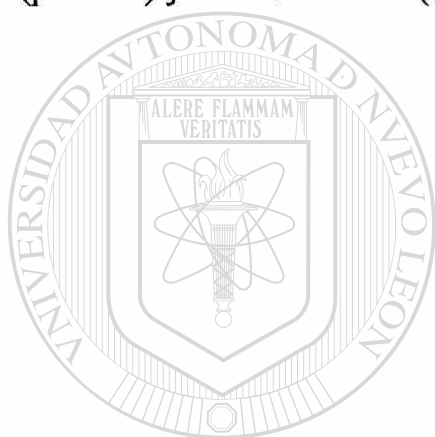
2.1.2.1 Benceno.

El benceno (BNZ) o ciclohexatrieno, C_6H_6 , es un líquido incoloro, volátil, inflamable y de olor característico. Tiene un punto de ebullición de $80,1\text{ }^\circ\text{C}$ y un punto de fusión de $5,5\text{ }^\circ\text{C}$. Su gravedad específica es de 0,879 a $20\text{ }^\circ\text{C}$ y su índice de refracción es de 1,50108. Toxicidad al humano: es tóxico por ingestión, inhalación o absorción por piel, puede ocasionar la muerte por paro respiratorio, se considera carcinogénico y ataca principalmente médula ósea. Se emplea en la fabricación de plásticos, detergentes y pesticidas. Se encuentra en forma natural en muchos animales y plantas, también se produce de los volcanes o los fuegos forestales (Weiss, 1986; Budavari, *et al.*, 1989).



2.1.2.2 Tolueno.

El tolueno (TOL), metilbenceno o fenilmetano, $C_6H_5 \cdot CH_3$, es un líquido incoloro y de olor dulzón cuyo punto de ebullición es de $110,6 \text{ }^\circ\text{C}$ y el de fusión de $-95 \text{ }^\circ\text{C}$. Su gravedad específica es de 0,867 a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ y su índice de refracción es de 1,4967. Toxicidad al humano: es narcótico a altas concentraciones. Es utilizado ampliamente en la industria como solvente y en la manufactura de explosivos, pinturas, lacas, cosméticos, removedores y adhesivos. Se encuentra en forma natural en el crudo (petróleo) y en el árbol Tolu (Weiss, 1986; Budavari, *et al.*, 1989).

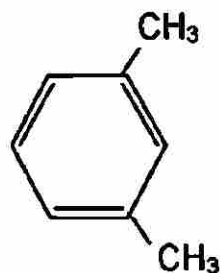


2.1.2.3 Xileno.

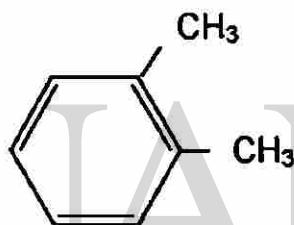
El xileno o dimetilbenceno, $C_6H_4(CH_3)_2$, es un líquido incoloro, inflamable y de olor dulzón, cuyo punto de ebullición va de 137 a $140 \text{ }^\circ\text{C}$. El xileno en el comercio es una mezcla de tres isómeros orto, meta y para, predominando el isómero meta. Toxicidad al humano: puede ser narcótico en altas concentraciones. Su toxicidad crónica no está bien definida pero se considera menos tóxico que el benceno. Se emplea en la fabricación de pinturas, barnices, plásticos y fibras sintéticas. En microscopia se utiliza como solvente y aclarante.

El m - xileno (XLM) ó 1,3 - dimetilbenceno tiene un punto de ebullición de $139,3 \text{ }^\circ\text{C}$,

con un punto de fusión de $-47,4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Una gravedad específica de 0,864 a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y un índice de refracción de 1,4973.

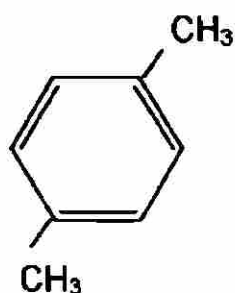


El o-xileno (XLO) ó 1,2-dimetilbenceno tiene un punto de ebullición de $144\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un punto de fusión de $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Una gravedad específica de 0,880 a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y un índice de refracción de 1,5058.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

El p-xileno (XLP) ó 1,4-dimetilbenceno tiene un punto de ebullición de $137 - 138\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un punto de fusión de $13 - 14\text{ }^{\circ}\text{C}$. Una gravedad específica de 0,861 a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y un índice de refracción de 1,49575 (Weiss, 1986; Budavari, *et al.*, 1989).



2.2 Intoxicación

Según la cantidad de contaminante a la que se estuvo expuesto, pueden presentarse diferentes grados de intoxicación; los síntomas por compuestos orgánicos volátiles halogenados o aromáticos son muy similares para todos ellos, y a continuación los mencionamos en forma general para los diferentes grados de exposición.

La llamada exposición transitoria (o leve) produce irritación de ojos, nariz y garganta; náuseas, vómitos, mareos y cefalea. Si la exposición termina pronto, los síntomas desaparecen en pocas horas.

La exposición continua (intensa) o la absorción de cantidades mayores de estos compuestos puede causar la muerte por depresión del sistema nervioso central (SNC) o muerte súbita por fibrilación ventricular o depresión de centros bulbares vitales.

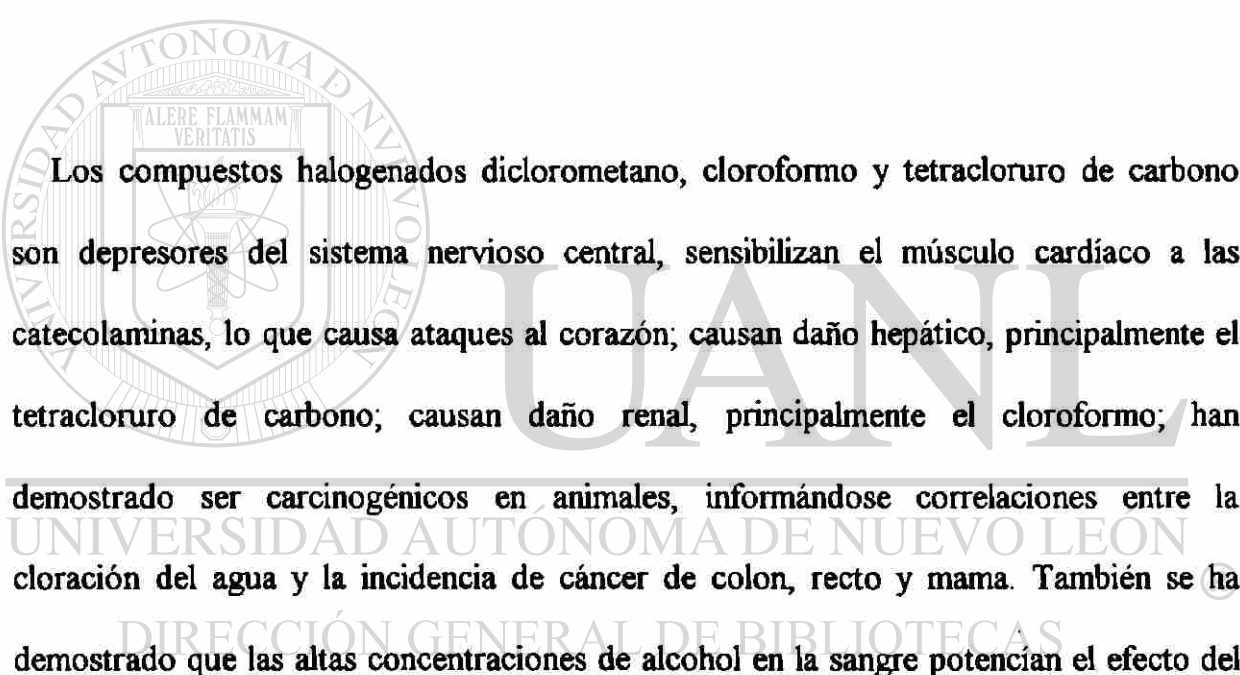
Los efectos tóxicos tardíos (exposición prolongada) pueden presentarse desde las 3 horas hasta 2 ó 3 días después de la exposición, siendo los más graves las acciones nefrotóxicas y hepatotóxicas como esteatosis o necrosis centrolobulillar; y también efectos sobre el tracto gastrointestinal (Goodman, *et al.*, 1991).

Nuestro interés en particular es la toxicidad crónica, que se refiere a los efectos nocivos a largo plazo de un agente tóxico después de semanas, meses o años de haber ingresado al organismo del paciente, en concentraciones tales que no causan un cuadro

agudo, si no que se van acumulando silenciosamente en la víctima hasta que sobrevienen los síntomas o la enfermedad.

2.3 Características Toxicológicas del Compuesto

2.3.1 Hidrocarburos halogenados (organohaluros)



Los compuestos halogenados diclorometano, cloroformo y tetracloruro de carbono son depresores del sistema nervioso central, sensibilizan el músculo cardíaco a las catecolaminas, lo que causa ataques al corazón; causan daño hepático, principalmente el tetracloruro de carbono; causan daño renal, principalmente el cloroformo; han demostrado ser carcinogénicos en animales, informándose correlaciones entre la cloración del agua y la incidencia de cáncer de colon, recto y mama. También se ha demostrado que las altas concentraciones de alcohol en la sangre potencian el efecto del tetracloruro de carbono sobre los órganos internos (ATSDR, 1989; Goodman, *et al.*, 1991).

2.3.2 Hidrocarburos aromáticos

El benceno es un depresor del sistema nervioso central, la exposición crónica a éste

causa depresión de la médula ósea alterando así la hematopoyesis, la afección depende de la concentración a la que se estuvo expuesto y el periodo de tiempo. El Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos determinó al benceno como un compuesto carcinogénico, causante de leucemia, el cual daña el sistema inmune del organismo disminuyendo las defensas contra tumores.

La exposición al tolueno también ocasiona daño al sistema nervioso central, sin embargo, no está catalogado como carcinogénico. Causa disfunción hepática y renal, y se le ha relacionado con problemas reproductivos en la mujer. Al igual que con el benceno, el grado de afección depende de la concentración y el tiempo que se estuvo expuesto.

El xileno también ataca principalmente el sistema nervioso central, estudios de la Agencia Internacional de Investigación sobre Cáncer no lo clasifican como carcinogénico para humanos (ATSDR, 1989; Goodman, *et al.*, 1991).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

2.4 Mecanismos de acción

Se han reportado algunos mecanismos de acción como el del CCl_4 que tiende a formar radicales libres triclorometilo $\cdot\text{CCl}_3$ por acción del citocromo P 450, al combinarse con oxígeno molecular forma triclorometilperoxi $\text{Cl}_3\text{COO}\cdot$, estos radicales

se combinan con proteínas y DNA. El daño más importante es la peroxidación de lípidos cuyo mecanismo no está bien establecido. Se cree que estos radicales libres se llevan los H metilénicos de los C del doble enlace de los lípidos formando radicales lipídicos $\cdot L$, los cuales reaccionan con el oxígeno molecular formando radicales peroxi $LOO\cdot$, que pueden iniciar una reacción en cadena causando una alteración masiva de las moléculas de lípidos (hidroperoxi $LOOH$ que dará más $\cdot L$).

El benceno sufre un metabolismo oxidativo formando un epóxido que reacciona con los nucleófilos de las células destruyéndolas, especialmente las de médula ósea. Este epóxido también puede sufrir un reordenamiento a fenol que se elimina posteriormente como glucorónido o sulfato por la orina.

El diclorometano se metaboliza a monóxido de carbono CO , por acción del citocromo P450 (Goodman, *et al.*, 1991; Manahan, 1992).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

2.5 Máxima concentración permisible

Ya que prácticamente toda la población tiene acceso a la ingesta de agua potable, es motivo de preocupación saber si dicha población está expuesta a estos contaminantes, y de estarlo, conocer si las concentraciones de los mismos están dentro de los límites permisibles.

La máxima concentración permisible de un contaminante en el agua está definida por la siguiente fórmula (EPA, 1990):

$$\text{MCP} = (\text{DWEL})(\text{RSC}) \quad (\text{Ec.1})$$

Donde:

MCP es la máxima concentración permisible.

DWEL (*drinking water effect level*) representa la concentración a la cual no se produce efecto adverso por la presencia de la sustancia en el agua.

RSC (*relative source contribution*) es la contribución relativa de la fuente. En el caso del agua le corresponde el 20 %, lo que significa que de la contaminación total que recibimos del ambiente el 20 % proviene del agua.

La concentración que no produce efecto adverso se obtiene con la siguiente fórmula (EPA, 1990):

$$\text{DWEL} = [(\text{RFD})(70 \text{ Kg})] / (2 \text{ Lts.}) \quad (\text{Ec.2})$$

Donde:

RFD (*reference dose*) corresponde a la dosis de referencia.

70 Kg es el peso promedio de un individuo adulto.

2 Lts. es la ingesta diaria de agua del individuo adulto.

Las máximas concentraciones permisibles de nuestros compuestos de interés se muestran en la TABLA I.

TABLA I Máximas concentraciones permisibles de los VOCS.

Máximas concentraciones permisibles	
Benceno	5 ng/mL
Tolueno	1 000 ng/mL
Xileno	440 ng/mL
Diclorometano	420 ng/mL
Cloroformo	7 ng/mL
Tetracloruro de carbono	5 ng/mL

(EPA *Integrated Risk Information System (IRIS) data base*, 1999).



2.6 Técnicas de extracción

El análisis de compuestos orgánicos volátiles requiere que las muestras sean sometidas a diversas técnicas de extracción y concentración, algunas de éstas, pueden presentar pérdida de analitos y/o enmascaramiento de los mismos por los solventes utilizados durante dichos procesos (Colunga, Heyer, 2000). A continuación mencionaremos algunas de las técnicas que potencialmente podrían ser usadas para dicho propósito.

2.6.1 Extracción líquido-líquido

La extracción líquido-líquido resulta ser el método más común para la preparación de

muestras en el análisis de aguas, puede realizarse en forma manual agitando la muestra de agua con el solvente orgánico, o bien, en forma automatizada utilizando un extractor líquido-líquido continuo, sin embargo, puede llegar a consumir mucho tiempo para llevarse a cabo (Camel, Caude, 1995) y a menudo los solventes empleados en ella resultan ser tóxicos, además la separación entre la fase acuosa y orgánica suele complicarse por la formación de emulsiones.

El volumen de extracción que generalmente se obtiene por este procedimiento es muy grande para introducirse directamente al cromatógrafo de gases pues esto disminuiría la sensibilidad, por lo que se recomienda agregar un paso de evaporación-concentración, el cual debe realizarse con extremas precauciones para evitar la contaminación de la muestra y la pérdida de analitos volátiles (Heyer, *et al.*, 1998).

2.6.2 Extracción en fase sólida

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

La extracción en fase sólida es un procedimiento basado en procesos de partición, adsorción, afinidad o intercambio iónico. Es mucho más rápida que la mayoría de las técnicas clásicas de extracción, pueden tratarse grandes volúmenes de muestra con relativamente poca fase sólida, por lo cual, se empleará poco solvente para quitar la muestra unida a ésta última, con esto se elimina el paso adicional de evaporar el solvente, y al disminuir la manipulación de la muestra, disminuye el riesgo de contaminación de la misma (Supelco, 1986); también puede aplicarse la desorción térmica, que reemplazaría al solvente de elución, garantizando un alto grado de

enriquecimiento de la muestra.

La extracción en fase sólida puede ser usada con muestras de baja, intermedia o alta polaridad dependiendo del adsorbente empleado.

2.6.3 Extracción por purga y trampa

La técnica de purga y trampa se emplea generalmente para la extracción de compuestos orgánicos volátiles no polares, con puntos de ebullición inferiores a los 220°C (Michael, Pellizarl, 1988). Resulta fácil adaptar los dispositivos de purga y trampa a un cromatógrafo de gases. La técnica consiste en hacer pasar a través de la muestra de agua, un gas inerte, lo cual ocasiona que los compuestos orgánicos purgables pasen de la fase acuosa a la fase de vapor, dichos compuestos serán atrapados en un adsorbente. La trampa que contiene el material adsorbente se encuentra dentro de una cámara de calentamiento, la cual, al activarse, permite la desorción de los compuestos atrapados (USEPA, 1986).

Esta técnica tiene la ventaja de proveer una muestra “limpia” aunque provenga de una matriz compleja, y minimiza la pérdida de analitos, de ahí que sea el método oficial de la USEPA para el análisis de este tipo de compuestos. Sin embargo, el proceso de extracción lleva de 20 a 30 minutos, y la inversión inicial para contar con uno de estos equipos es relativamente alta, por lo cual, resulta un método de difícil acceso.

2.6.4 Extracción por *Head space*

El análisis con *head space* se utiliza al igual que el anterior, para la extracción de compuestos volátiles. Las muestras pueden provenir de matrices sólidas o líquidas (las primeras son difíciles de manejar con la técnica de purga y trampa).

Se conocen en el mercado dos técnicas de *head space*, una estática y otra dinámica. En la primera de éstas se introduce la muestra en un vial llenándolo hasta la mitad, éste se sella y coloca en un termostato para dirigir los componentes volátiles hacia la fase de vapor (espacio superior del vial conocido como *head space*). Con ayuda de una jeringa se toma una alícuota de dicha fase, que posteriormente será inyectada al cromatógrafo de gases. La técnica implica que la muestra fue tomada de una fase en equilibrio (Perkin Elmer, 1994).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Para incrementar la sensibilidad se desarrolló el *head space* dinámico, donde la fase de equilibrio esta siendo desplazada continuamente, dirigiendo el *head space* fuera del vial con ayuda de un gas inerte hacia un sistema de purga y trampa, donde los analitos serán atrapados por un adsorbente y posteriormente desorbidos por calor para introducirse en el cromatógrafo de gases. El aditamento de *head space* dinámico requiere de una inversión inicial alta, por lo que no resulta un método de fácil acceso.

2.6.5 Microextracción en fase sólida (SPME)

2.6.5.1 Descripción del dispositivo de SPME.

La microextracción en fase sólida es un método de extracción, donde los analitos de una muestra se unen a una fibra de sílica recubierta por un material adsorbente, el cual, es un polímero con características según la naturaleza de la muestra.

Dicha fibra se encuentra protegida dentro de una aguja hueca de acero inoxidable, la cual, a su vez, está contenida en el extremo de un dispositivo tipo jeringa, Figura 1. Al presionar el émbolo del dispositivo, la fibra sale de la aguja para ser expuesta a la matriz de la muestra; al retraer el émbolo, la fibra se introduce nuevamente en la aguja quedando protegida al igual que los analitos atrapados en ella. Posteriormente los analitos son desorbidos térmicamente al exponer la fibra al calor del inyector del cromatógrafo de gases, siendo barridos hacia la columna por el gas de arrastre. (Lord, 1998).

2.6.5.2 Procedimiento de SPME.

La muestra se coloca dentro de un vial llenándolo hasta la mitad, posteriormente se sella y se sumerge en baño María permitiendo que los componentes volátiles pasen a la fase de vapor y se equilibren.

Una vez que se establece el equilibrio entre ambas fases (líquido y vapor), se introduce el dispositivo de microextracción en fase sólida perforando el septum del vial

con ayuda de la aguja. Posteriormente se presiona el émbolo para que la fibra de polidimetilsiloxano quede expuesta a la fase de vapor denominada *head space*, es entonces que la fibra actúa como una especie de bomba de succión, atrayendo los analitos hacia ella.

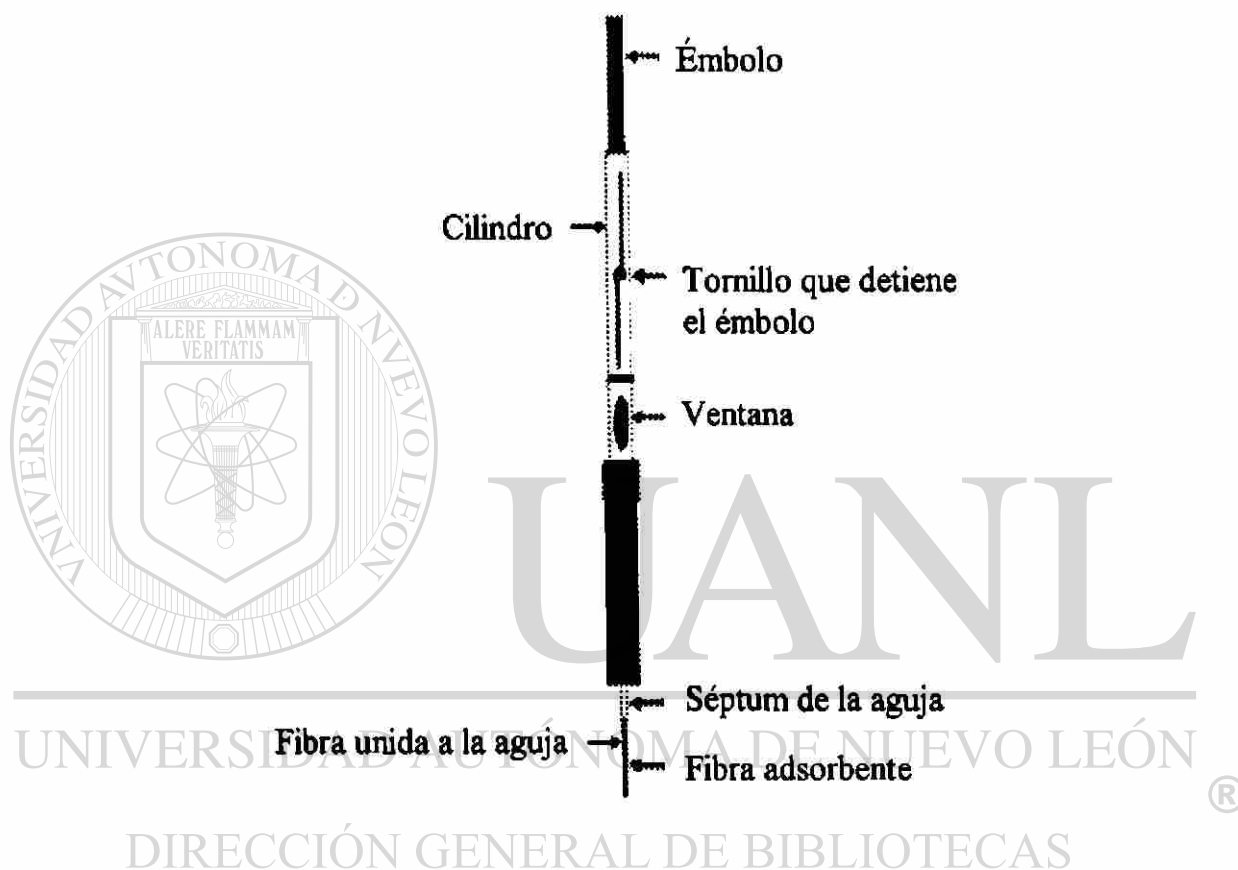


Figura 1 Dispositivo de microextracción en fase sólida.

Después de un periodo de exposición, en el cual se lleva a cabo el equilibrio del analito entre la fase de vapor y la fibra, el émbolo se retrae para introducir la fibra en la aguja; solo entonces, el dispositivo se retira del vial para pasar al cromatógrafo de gases, Figura 2.

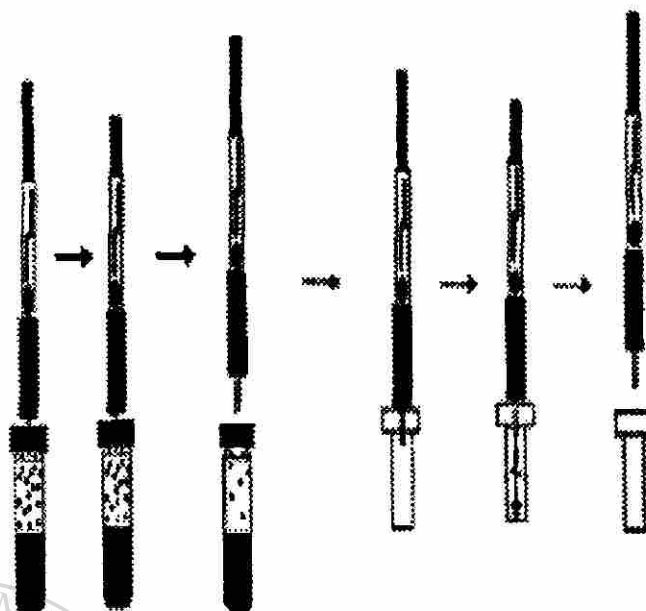


Figura 2. Proceso de microextracción en fase sólida.

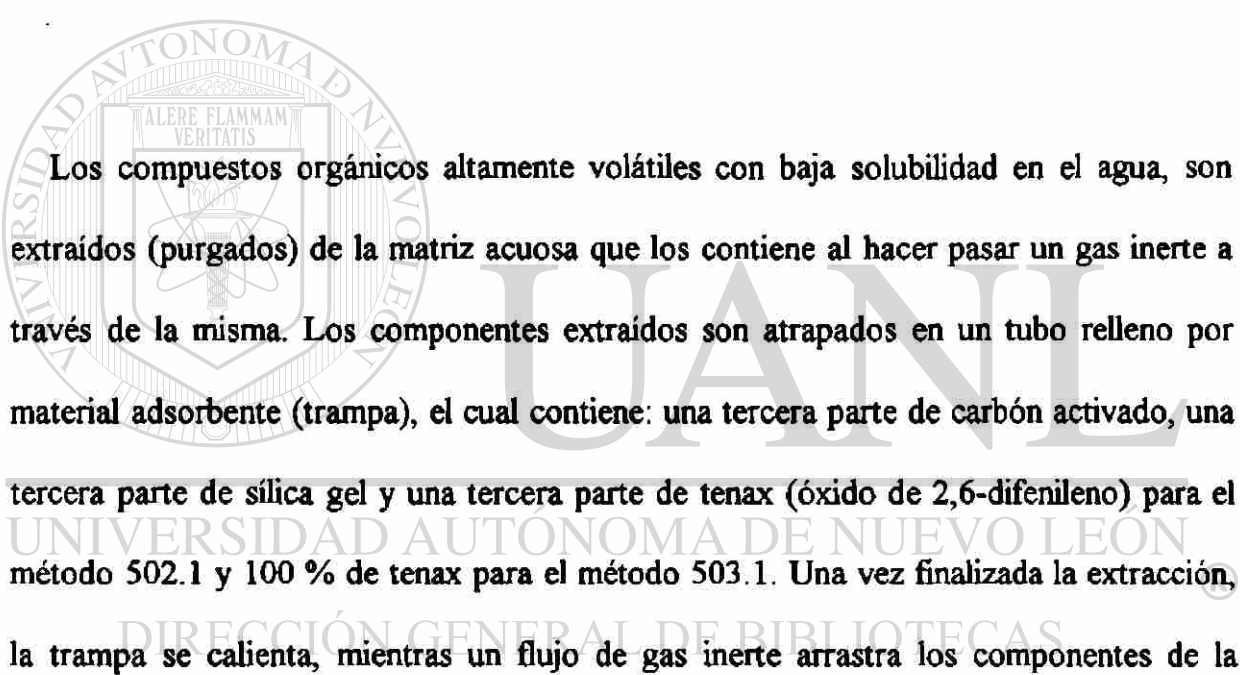
Una vez en el aparato, la fibra vuelve a exponerse al presionar el émbolo, esta vez dentro de la cámara del inyector donde los analitos serán desorbidos de la fibra por calor. Dando inicio a una secuencia de temperaturas programadas, los analitos pasarán a la columna para su separación y posterior identificación (Mani, *et al.*, 1995; Yang, *et al.*, 1995).

2.7 Métodos de referencia

En vista de que México no cuenta con métodos oficiales para la determinación de compuestos orgánicos volátiles, nuestro punto de comparación serán los métodos citados

por la Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos: 502.1 “Compuestos orgánicos volátiles halogenados en agua, por cromatografía de gases de purga y trampa” y 503.1 “Compuestos orgánicos volátiles aromáticos e insaturados en agua, por cromatografía de gases de purga y trampa”. Ambos métodos pertenecen a la serie 500 de la USEPA correspondiente a aguas potables.

2.7.1 Compuestos orgánicos volátiles por Purga y Trampa



Los compuestos orgánicos altamente volátiles con baja solubilidad en el agua, son extraídos (purgados) de la matriz acuosa que los contiene al hacer pasar un gas inerte a través de la misma. Los componentes extraídos son atrapados en un tubo relleno por material adsorbente (trampa), el cual contiene: una tercera parte de carbón activado, una tercera parte de sílica gel y una tercera parte de tenax (óxido de 2,6-difenileno) para el método 502.1 y 100 % de tenax para el método 503.1. Una vez finalizada la extracción, la trampa se calienta, mientras un flujo de gas inerte arrastra los componentes de la muestra que quedaron atrapados para llevarlos a la columna del cromatógrafo de gases, el cual, bajo un programa de temperaturas, separa los analitos presentes en la muestra.

El programa de temperaturas para la columna del método 502.1 da inicio con 45 °C por 3 minutos, incrementándose a 220 °C a una velocidad de 8 °C/min, la temperatura de la columna permanece en 220 °C por 15 minutos o hasta que todos los componentes hayan eluido. Se emplea una columna empacada con 1 % SP-1000, malla 60/80

Carbopack-B.

El programa de temperaturas para el método 503.1 inicia con la columna a 50 °C por 2 minutos, luego un aumento de 3 °C/min hasta alcanzar 110 °C, y permanece en esta temperatura hasta que todos los componentes hayan eluido. El método 503.1 emplea una columna empacada de 5 % SP-1200/1,75 % Bentone 34, malla 100/120 Supelcoport .

La presencia de los analitos es revelada por un detector de captura de electrones (ECD) para el caso de hidrocarburos halogenados (método 502.1), y un detector de fotoionización de flama (PID) para el caso de hidrocarburos aromáticos (método 503.1),

ANEXO A.

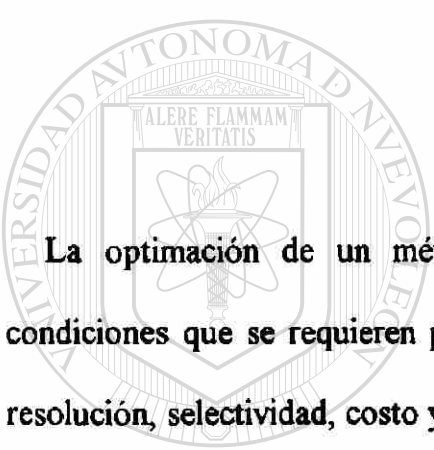
La primera fase donde los VOCS son purgados de la muestra acuosa se conoce como purga húmeda y se lleva a cabo durante 15 minutos, posteriormente hay un periodo de 5 minutos de purga seca donde los analitos que están en la fase de vapor son arrastrados a la trampa por el gas inerte, pero éste ya no pasa por la matriz acuosa. Luego viene el periodo de desorción de la trampa que tarda unos 4 minutos y por último 10 minutos de flujo del gas inerte para limpieza de la trampa a altas temperaturas para eliminar cualquier residuo. Si se tiene un flujo promedio de gas de 40 mL/min., con el procedimiento anterior se obtiene un gasto final, ya sea de nitrógeno o helio, de 1400 mL/min por muestra, un gasto considerablemente alto.

La reproducibilidad para dichos métodos de referencia, está reportada con un coeficiente de variación del 7 % para el tetracloruro de carbono, un 12 % para el

diclorometano, un 2,8 % para el benceno, un 6,6 % para el tolueno y un 7,7 % para el xileno.

Los porcentajes de recuperación reportados por los métodos de referencia corresponden al 90 % para el tetracloruro de carbono, 85 % para el diclorometano, 100% para el benceno, 94 % para el tolueno y 90 % para xileno (Bellar, 1989).

2.8 Optimación



La optimación de un método analítico consiste en determinar el conjunto de condiciones que se requieren para obtener un resultado óptimo en cuanto a eficiencia, resolución, selectividad, costo y tiempo.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Entre los métodos empleados comúnmente para la optimación de un proceso están: el Simplex Secuencial y sus variantes, el Taguchi, el diseño factorial, el diseño factorial fraccionado, etc. Para el presente trabajo empleamos el Método Simplex Secuencial Básico el cual describiremos a continuación.

2.8.1 Optimación por el Método Simplex Secuencial Básico (MSSB)

El MSSB es un proceso de optimación empírica que se puede aplicar cuando la respuesta a optimar depende de factores continuos (cuantitativos). La eficiencia del método aumenta con el número de factores involucrados y permite llegar a la región óptima con seguridad.

2.8.1.1 Metodología del MSSB.

Consiste en diseñar $N+1$ experimentos iniciales, donde N es el número de variables que influyen en la respuesta a optimar. A cada una de dichas variables se les asignan dos niveles uno bajo y uno alto.

Se realizan los experimentos iniciales de acuerdo al diseño seleccionado, el cual se presenta en la TABLA II, determinando la respuesta obtenida en cada uno de estos. Se identifica el experimento que produjo la peor respuesta, dicho experimento será eliminado.

TABLA II. Diseño de experimentos por MSSB para 3 variables (V).

Exp.	V 1	V 2	V 3
1	-	-	-
2	+	-	-
3	0	+	-
4	0	0	+

(Treviño, 1999).

Se diseña un nuevo experimento determinando los nuevos valores con la siguiente fórmula:

$$V_n = 2V_m - V_p \quad (\text{Ec.3})$$

Donde:

V_n = Valor nuevo de la variable "V".

V_m = Promedio de los valores de la variable "V" en los experimentos que produjeron las mejores respuestas.

V_p = Valor de la variable "V" que produjo la peor respuesta.

Se realiza el nuevo experimento con los datos obtenidos por la fórmula, y su resultado se compara con los experimentos restantes, para nuevamente descartar el peor de ellos y diseñar otro nuevo usando dicha fórmula.

Esta secuencia se repite hasta obtener la respuesta óptima o cuando uno de los experimentos sea retenido $N + 4$ simplex, donde "N" es el número de variables (Treviño, 1999).

2.9 Validación

La validación de un método de acuerdo a la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) consiste en desarrollar el mismo, asegurándose que sea exacto, específico,

reproducible y robusto, dentro de un rango establecido en el cual será determinado el analito. A continuación haremos mención de algunos parámetros implicados en la validación de un método.

2.9.1 Linealidad

La linealidad se define como la capacidad del método para obtener un resultado de prueba que sea directamente proporcional a la concentración del analito dentro de un rango dado; suele reportarse como la varianza de la pendiente de la regresión lineal.

El rango es el intervalo entre los niveles más alto y bajo de analito cuya precisión, exactitud y linealidad han sido demostrados empleando el método (Quattrocchi, *et al.*, 1992; Swartz, 1997).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

2.9.2 Sensibilidad

La sensibilidad de un método o un instrumento, mide su capacidad de discriminar entre pequeñas diferencias en la concentración del analito. Está delimitada por dos factores: la pendiente de la curva de calibración y la reproducibilidad o precisión del sistema de medida.

La definición cuantitativa más sencilla de sensibilidad es la aceptada por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), la llamada sensibilidad de calibración, que se define como la pendiente de la curva de calibración a la concentración de interés.

La mayoría de las curvas de calibración que se usan en química analítica son lineales y pueden describirse por la ecuación:

$$S = mc + S_{b1} \quad (\text{Ec. 4})$$

donde:

S = señal medida.

c = concentración del analito.

S_{b1} = señal instrumental para un blanco.

m = pendiente de la línea recta.

En dichas curvas, la sensibilidad de calibración es independiente de la concentración y simplemente igual a la pendiente. La sensibilidad de calibración como parámetro de calidad tiene el inconveniente de no tener en cuenta uno de los factores que determinan la sensibilidad, esto es, la precisión.

Al incluir la precisión en una expresión matemática se define la sensibilidad analítica

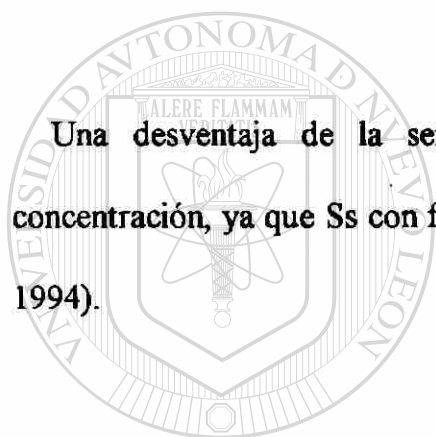
(γ) como:

$$\gamma = m / S_s \quad (\text{Ec.5})$$

donde:

m = pendiente de la curva de calibración.

S_s = desviación estándar de las señales.



Una desventaja de la sensibilidad analítica es que a menudo depende de la concentración, ya que S_s con frecuencia varía con ella (Quattrocchi, *et al.*, 1992; Skoog, 1994).

UANL

2.9.3 Límite de detección

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

El límite de detección se define como la mínima concentración de un analito que puede ser detectada en una muestra por encima de la señal de ruido del instrumento en una relación 3:1. Se considera el límite de la prueba para especificar si o no un analito está por arriba o por debajo de cierto valor (Quattrocchi, *et al.*, 1992; Swartz, 1997).

2.9.4 Límite de cuantificación.

El límite de cuantificación se define como la mínima concentración de analito en la muestra, que puede ser determinada con exactitud y precisión aceptables bajo la condiciones de operación establecidas del método. Se expresa como una concentración cuya relación señal ruido para algunos casos es de 10:1 (Quattrocchi, *et al.*, 1992; Swartz, 1997).



2.9.5 Precisión

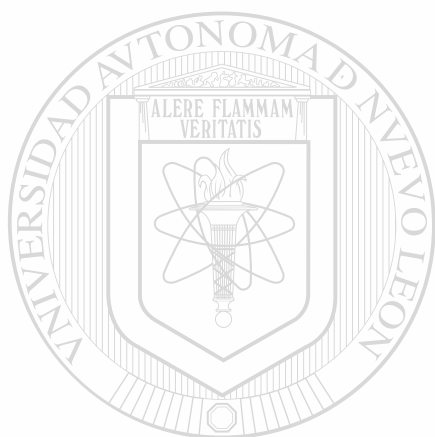
La precisión es la medida del grado de repetibilidad de un método analítico bajo condiciones de operación normales, y se expresa como el por ciento de la desviación estándar relativa de un número de muestras estadísticamente significativas. ®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

La repetibilidad se refiere a los resultados del método, operando en un intervalo de tiempo corto, bajo las mismas condiciones, precisión inter-análisis (Quattrocchi, *et al.*, 1992; Swartz, 1997).

2.9.6 Exactitud

La exactitud es una medida de la fidelidad del método analítico, o la cercanía entre el valor medido y el valor verdadero o un valor aceptado como referencia. Se considera una medida del porcentaje de recuperación del analito en muestras por ensayo y por *spike* en un estudio ciego (Quattrocchi, *et al.*, 1992; Swartz, 1997).



UANL

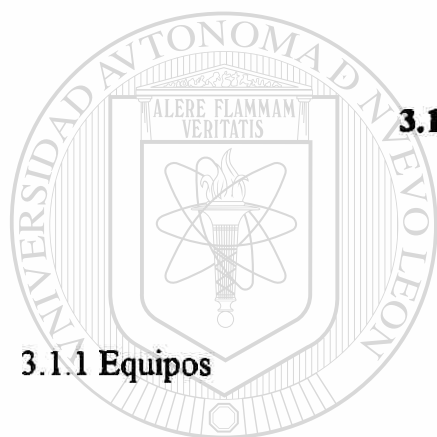
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



CAPÍTULO 3

MATERIAL Y METODOS



3.1 Equipo, material y reactivos

3.1.1 Equipos

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Cromatógrafo de Gases Varian Star 3400

Balanza Analítica Sartorius Basic BA110S.

Vortex

3.1.2 Materiales

Dispositivo de microextracción en fase sólida

Fibras de polidimetilsiloxano de 7, 30 y 100 μm de espesor.

Columna DB-1 de Poli (dimetilsiloxano) 30m x 0,53 mm ID y 1.5 μm de espesor.

Viales de vidrio de 10 mL con tapón de rosca y septum de teflón.

Matraces de aforación de 10, 25 y 100 mL

Tubos de ensaye de 13 x 100

Tapones para tubo de ensaye de 13 x 100

Pipetas lineales de 1 y 10 mL

Pipeta volumétrica de 5 mL

Pipeta automática y puntillas.

Soporte universal y pinzas.

Cronómetro.

3.1.3 Solventes

Metanol Fisher Scientific.

Diclorometano SIGMA.

Cloroformo SIGMA.

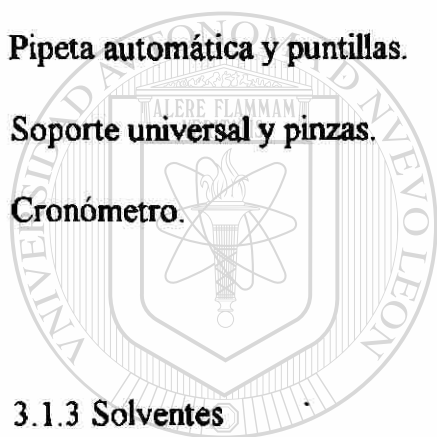
Tetracloruro de Carbono SIGMA.

Benceno MERCK.

Tolueno MERCK.

Xileno MERCK.

Agua tipo I



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3.2 Análisis cromatográfico de VOCS

3.2.1 Condiciones de separación cromatográfica

Para establecer las condiciones de separación cromatográfica de los compuestos orgánicos volátiles, se procedió a inyectar 1 μL de un estándar de 100 ng/mL al cromatógrafo de gases usando la columna DB – 1 y el detector de captura de electrones para compuestos halogenados y el de ionización de flama (FID) para los compuestos aromáticos.

La temperatura del inyector fue de 200 °C, la del detector de 250 °C (para ambos), como gas acarreador nitrógeno con un flujo de 10 mL/min. La temperatura del horno, isotérmica a 100 °C inicialmente, fue modificada hasta obtener una completa separación de los compuestos en estudio. Una vez separados, se determinaron sus tiempos de retención inyectando estándares individuales de los compuestos.

3.2.2 Determinación del rango de trabajo

Para establecer la respuesta del detector a los VOCS antes de trabajar la SPME, se realizó una curva de calibración por inyección directa.

Para dicha curva se prepararon stocks de 1000 $\mu\text{g/mL}$ en metanol grado pesticida para cada uno de los compuestos. A partir de ellos se prepararon 6 estándares para obtener las siguientes concentraciones: 5, 10, 20, 40, 80 y 100 ng/mL , ANEXOS B y C. El volumen de inyección fue de 1 μL .

3.2.3 Identificación

La identificación de los diferentes analitos se llevó a cabo por tiempos de retención absolutos, estableciéndose una ventana de tiempos de retención equivalente al $t_R \pm 3SD$. Los tiempos de retención de los picos que aparecen en el cromatograma de la muestra se compararon contra los tiempos de retención obtenidos de los estándares de calibración, si los tiempos de retención del analito se encontraban dentro de la tercera desviación estándar de los tiempos de retención de los estándares, la identificación se consideró positiva.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3.2.4 Cuantificación

Para la determinación cuantitativa de los analitos se empleó el método de estándar externo realizando una curva de calibración. Una vez obtenidos los datos de la curva de calibración, se graficó la concentración de los estándares (abscisa al origen) contra la altura de los picos del cromatograma (ordenada al origen).

Posteriormente se calcularon los factores de respuesta (F.R.) para cada uno de los puntos que componen la curva de calibración empleando la ecuación 6:

$$\text{F.R.} = \text{altura del pico} / \text{concentración del estándar} \quad (\text{Ec. 6})$$

Paso siguiente se obtuvo el promedio de los factores de respuesta de todos los puntos que componen la curva de calibración, sumando cada uno de los F.R. obtenidos por la fórmula anterior y dividiendo el total de la suma de éstos entre el número de estándares que componen dicha curva, y se calculó su coeficiente de variación para considerar la curva como lineal de ser menor a 20 % (USEPA, 1986).

Para determinar la concentración del analito en las soluciones contaminadas, se utilizó la ecuación 7:

$$\text{Concentración del analito} = \text{altura del pico} / \text{promedio de los F.R.} \quad (\text{Ec. 7})$$

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3.3 Optimación

Para la optimación de los métodos, tanto para compuestos halogenados como aromáticos nuestras variables fueron: el tiempo de exposición (t_e) de la fibra al *head space*, la temperatura de exposición (T_e) del vial y la temperatura de desorción (T_d) del inyector. Nuestro parámetro a optimar para ambos casos fue la respuesta del detector.

Los experimentos iniciales se plantearon de acuerdo al diseño seleccionado en la TABLA II, asignando para cada una de las variables elegidas un valor alto y otro bajo. Las TABLAS III y IV muestran los valores iniciales para el MSSB de compuestos halogenados y aromáticos respectivamente. La temperatura de exposición osciló en un rango de 10 a 80 °C aproximadamente y la temperatura del inyector de 60 a 250 °C. Estos límites se colocaron con base en las posibilidades técnicas de operación y a las reglas de default para la operación del cromatógrafo de gases.

TABLA III. Diseño inicial de experimentos por MSSB para compuestos halogenados.

Exp #	Tiempo de exposición	Tiempo de desorción	Temperatura de exposición
1	2,5 min.	125 °C	15 °C
2	2,5 min.	75 °C	35 °C
3	7,5 min.	75 °C	15 °C
4	7,5 min.	125 °C	35 °C

TABLA IV. Diseño inicial de experimentos por MSSB para compuestos aromáticos.

Exp #	Tiempo de exposición	Tiempo de desorción	Temperatura de exposición
1	5 min.	180 °C	25 °C
2	15 min.	180 °C	25 °C
3	10 min.	250 °C	25 °C
4	10 min.	200 °C	80 °C

Para cada uno de los experimentos del MSSB, se contaminaron viales que contenían 5 mL de agua tipo I, con un estándar de compuestos halogenados o aromáticos, para obtener una concentración de 80 ng/mL de diclorometano, 8 ng/mL de cloroformo y 0,08 ng/mL de tetracloruro de carbono para el primer caso, y 200 ng/mL de benceno, tolueno y xileno para el segundo caso, ANEXOS B y C.

Para ambos casos, los viales se taparon herméticamente después de contaminarlos y se agitaron por 10 segundos en un vortex, posteriormente se dejaron reposar, permitiendo el equilibrio entre las fases líquido y vapor antes de exponer la fibra al *head space*. Se contaminaron tantos viales como número de experimentos del MSSB.

Para cada uno de los grupos de compuestos, se realizaron los cuatro experimentos con las condiciones que se indican en las TABLAS III y IV. Se obtuvo la respuesta del detector (ECD para halogenados y FID para aromáticos) para cada uno de los experimentos y se identificó aquel que producía la peor respuesta, para ser eliminado.

Posteriormente, aplicando la ecuación 3, se obtuvieron los valores para cada una de las variables que compondrían el nuevo experimento.

El experimento nuevo se llevó a cabo, y su resultado se comparó con los 3 restantes para descartar el peor de ellos y diseñar uno nuevo aplicando la ecuación 3. Esta secuencia se repitió hasta obtener la respuesta óptima del detector, es decir, el mayor número de cuentas para la misma concentración de analito inyectada por SPME bajo las condiciones de un experimento retenido en 3 ocasiones.

3.4 Microextracción en Fase Sólida

3.4.1 Soluciones para VOCS halogenados.

Para la determinación de los compuestos halogenados se empleó un detector de captura de electrones. Los compuestos a determinar fueron diclorometano, cloroformo y tetracloruro de carbono.

Se prepararon soluciones stock en metanol grado pesticida para cada uno de los compuestos, a una concentración de 1000 $\mu\text{g/mL}$. Dichas soluciones se prepararon pesando en una balanza analítica para obtener la concentración real del stock.

Se realizó un estándar de los tres analitos a diferentes concentraciones cada uno, para continuar con diluciones seriadas hasta obtener un estándar de 1 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano, 0,1 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 0,001 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono,

Figura 3.

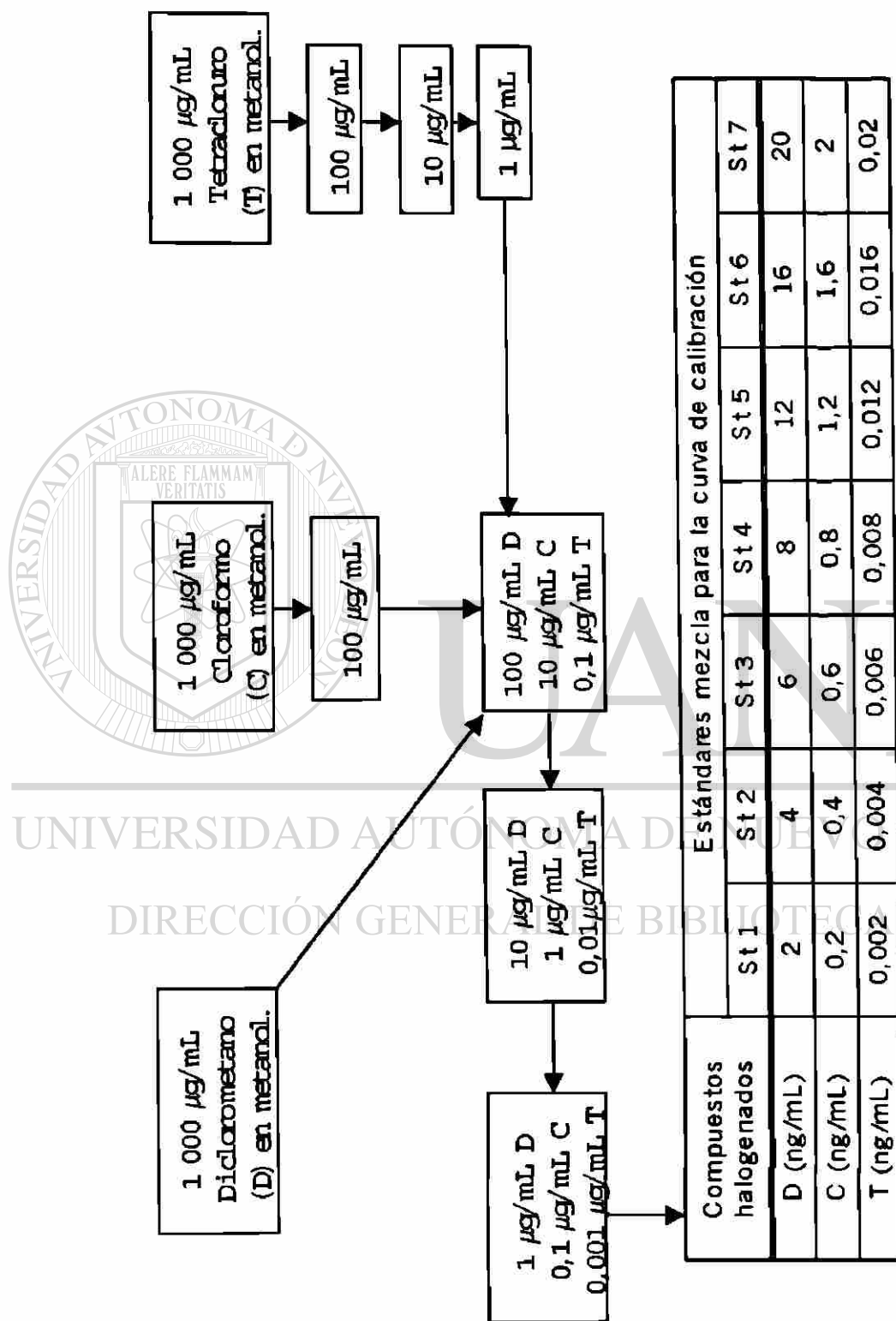


Figura 3. Preparación de soluciones de compuestos halogenados.

A partir del estándar, se contaminaron seis viales que contenían cada uno 5 mL de agua tipo I, para obtener los estándares acuosos en las siguientes concentraciones: 2 ng/mL de diclorometano, 0,2 ng/mL de cloroformo y 0,002 ng/mL de tetracloruro de carbono; 4 ng/mL de diclorometano, 0,4 ng/mL de cloroformo y 0,004 ng/mL de tetracloruro de carbono; 8 ng/mL de diclorometano, 0,8 ng/mL de cloroformo y 0,008 ng/mL de tetracloruro de carbono; 12 ng/mL de diclorometano, 1,2 ng/mL de cloroformo y 0,012 ng/mL de tetracloruro de carbono; 16 ng/mL de diclorometano, 1,6 ng/mL de cloroformo y 0,016 ng/mL de tetracloruro de carbono; 20 ng/mL de diclorometano, 2 ng/mL de cloroformo y 0,02 ng/mL de tetracloruro de carbono,

ANEXO B.

3.4.2 Soluciones para VOCS aromáticos.

Para la determinación de los compuestos aromáticos se empleó un detector de ionización de flama. Los compuestos a determinar fueron benceno, tolueno y xileno.

Se prepararon soluciones stock en metanol grado pesticida para cada uno de los compuestos, a una concentración de 1000 $\mu\text{g/mL}$ (pesando en una balanza analítica).

A partir de las soluciones stock se preparó un estándar de los tres analitos obteniéndose una concentración final de: benceno 100 $\mu\text{g/mL}$, tolueno 100 $\mu\text{g/mL}$ y xileno 100 $\mu\text{g/mL}$, Figura 4. Con dicho estándar, se contaminaron seis viales que

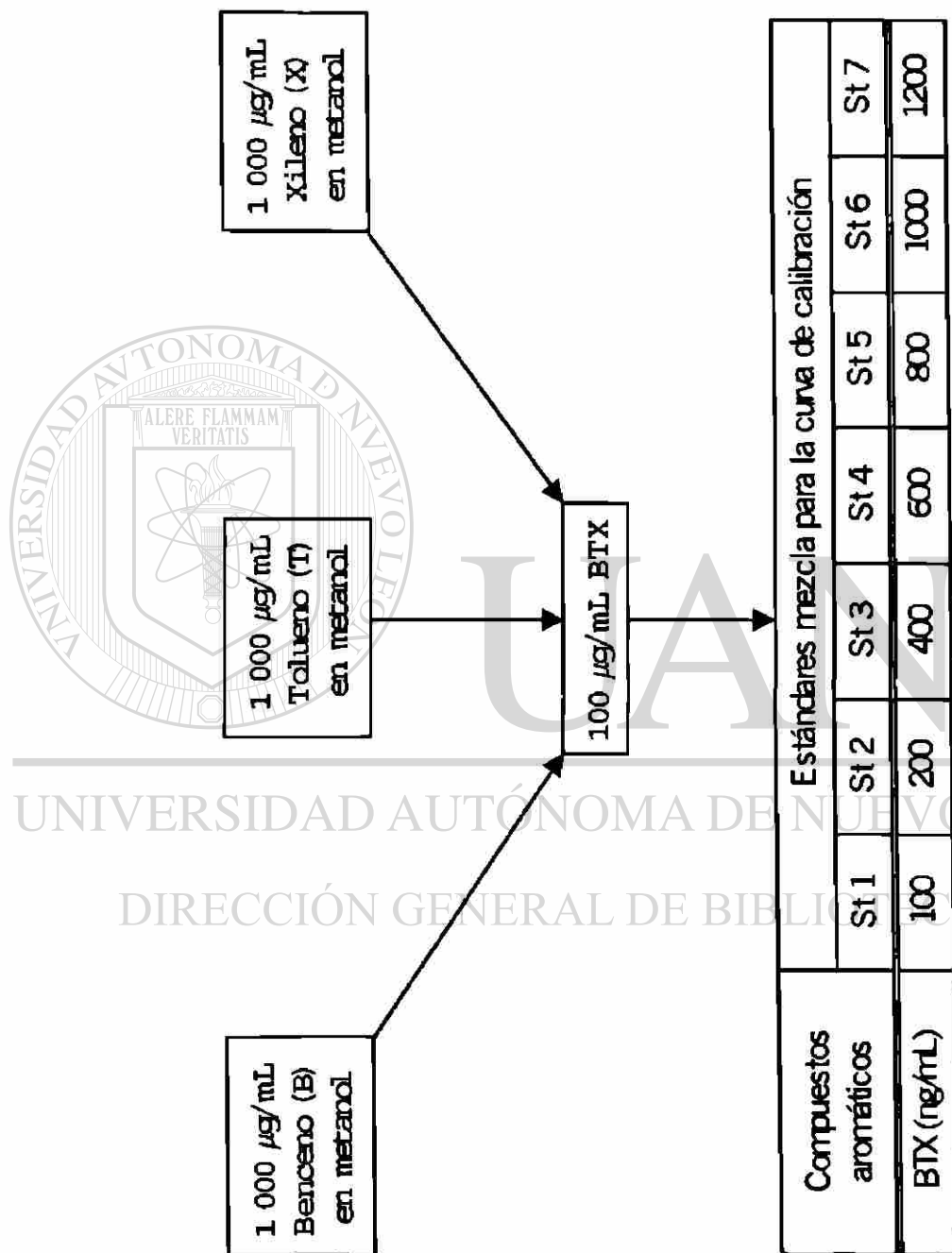


Figura 4. Preparación de soluciones de compuestos aromáticos.

contenían cada uno 5 mL de agua tipo I, para obtener los estándares acuosos en las siguientes concentraciones: benceno, tolueno y xileno a 200 ng/mL; a 400 ng/mL; a 600 ng/mL; a 800 ng/mL; a 1000 ng/mL; y a 1200 ng/mL.

A partir del estándar de 100 $\mu\text{g/mL}$ de benceno, tolueno y xileno, se preparó un estándar en metanol grado pesticida que contenía 10 $\mu\text{g/mL}$ de benceno, tolueno y xileno, con el cual, se contaminó un vial que contenía 5 mL de agua tipo I, para obtener una concentración de benceno, tolueno y xileno de 100 ng/mL, ANEXO C.

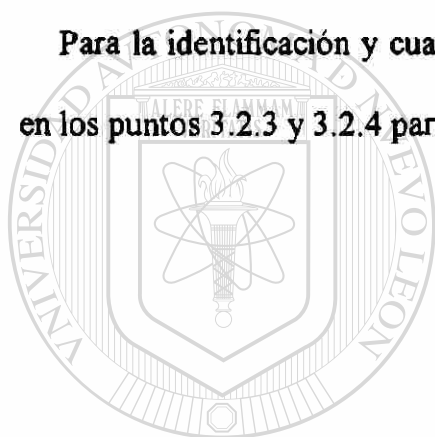
3.4.3 Metodología de la SPME

Cada uno de los viales que contenían 5 mL de agua tipo I se tapó inmediatamente después de contaminarlo con los VOCS, se agitó por 10 segundos en un vortex, y se dejó reposar a 25 °C por 10 minutos, permitiendo que los componentes volátiles pasaran a la fase de vapor y se equilibrasen.

Una vez establecido el equilibrio entre ambas fases (líquido y vapor), se introdujo el dispositivo de microextracción en fase sólida perforando el septum del vial con la aguja de dicho dispositivo. Posteriormente se presionó el émbolo para que la fibra de polidimetilsiloxano quedara expuesta a la fase de vapor denominada *head space* (ver Figura 2).

Después de un periodo de exposición de 7,5 minutos para compuestos halogenados y 10 minutos para el caso de aromáticos, durante el cual se llevó a cabo el equilibrio del analito entre la fase de vapor y la fibra, el émbolo se retrajo para introducir la fibra en la aguja, y transportarla al cromatógrafo de gases para su inyección, volviendo a presionar el émbolo para exponer la fibra a la cámara del inyector (a 120 °C para halogenados y 200 °C para aromáticos), donde los analitos fueron desorbidos por calor y arrastrados hacia la columna (DB-1) para su separación y posterior identificación.

Para la identificación y cuantificación de los VOCS por SPME se procedió igual que en los puntos 3.2.3 y 3.2.4 para la inyección directa de los mismos.



3.5 Validación

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

La validación del método se llevó a cabo estableciendo los siguientes parámetros: linealidad, sensibilidad, límite de detección, límite de cuantificación, precisión y porcentaje de recuperación.

Los primeros cuatro parámetros se obtienen a partir de las curvas de calibración realizadas de acuerdo a la metodología mencionada en el punto 3.4.3.

3.5.1 Linealidad

Para establecer la linealidad de nuestro método se consideró la desviación estándar relativa (RSD) de los factores de respuesta, es decir, su coeficiente de variación (CV).

Para la obtención de los factores de respuesta, se procedió de la siguiente manera:

Una vez obtenidos los datos de la curva de calibración, es decir, la respuesta del detector para cada uno de los estándares de las diferentes concentraciones, se calcularon los factores de respuesta (F.R.) para cada uno de los puntos que componen dicha curva con la ecuación 8:

$$\text{F.R.} = \text{respuesta del detector} / \text{concentración del estándar} \quad (\text{Ec. 8})$$

En este caso, la respuesta del detector corresponde a la altura del pico, y la concentración del estándar se emplea en nanogramos de inyección para las curvas de inyección directa, o bien, en ng/mL o pg/mL para las curvas realizadas con SPME.

Una vez obtenidos los factores de respuesta para cada uno de los puntos de la curva, se calculó la desviación estándar relativa de los mismos, también llamada coeficiente de variación, con la ecuación 9:

$$\text{CV} = (\text{SD} \times 100) / \text{promedio de los F.R.} \quad (\text{Ec. 9})$$

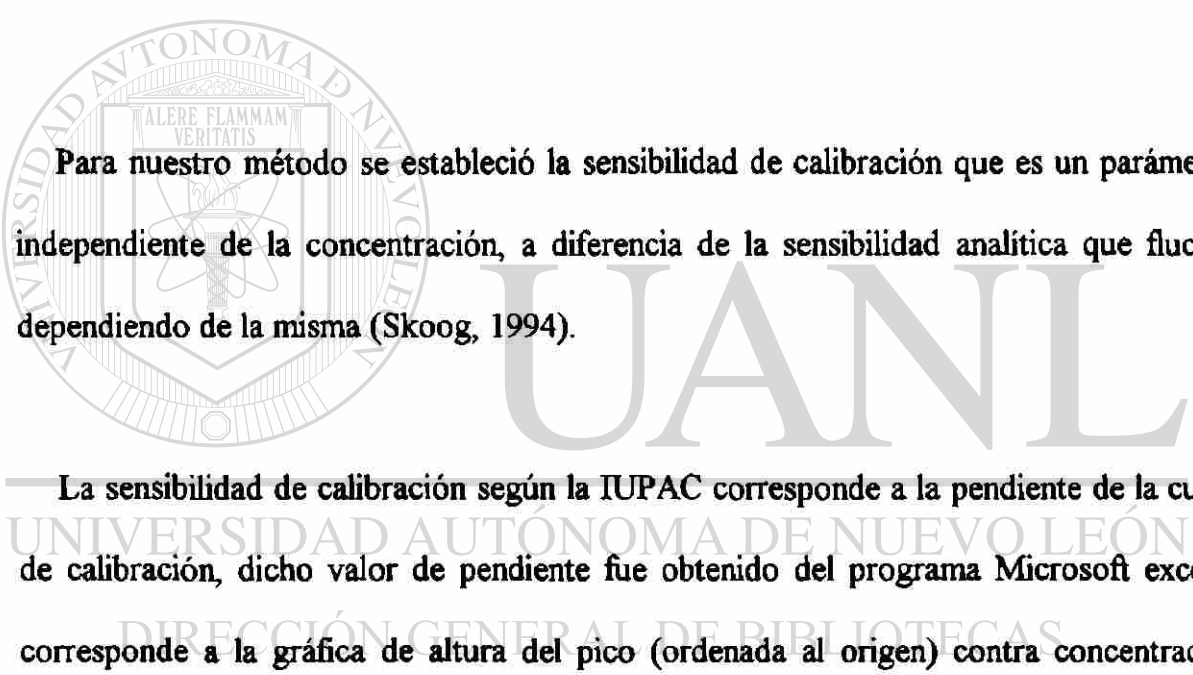
Donde:

CV = Por ciento del coeficiente de variación.

SD = Desviación estándar de los factores de respuesta.

Nota: La desviación estándar de los factores de respuesta fue obtenida del programa Microsoft excel.

3.5.2 Sensibilidad



Para nuestro método se estableció la sensibilidad de calibración que es un parámetro independiente de la concentración, a diferencia de la sensibilidad analítica que fluctúa dependiendo de la misma (Skoog, 1994).

La sensibilidad de calibración según la IUPAC corresponde a la pendiente de la curva de calibración, dicho valor de pendiente fue obtenido del programa Microsoft excel y corresponde a la gráfica de altura del pico (ordenada al origen) contra concentración (abscisa al origen). Las unidades de la sensibilidad (pendiente) corresponden a las unidades de los ejes cartesianos de la curva, es decir, número de cuentas/pg de inyección o número de cuentas/ng/mL/.

3.5.3 Límite de detección

El límite de detección de nuestro método, se determinó a partir de la desviación estándar de los valores de “y” que corresponden a la altura de los picos en nuestras curvas de calibración (Bonate, 1990; Skoog, 1994). Se procedió según lo marca la IUPAC utilizando la ecuación 10 (USEPA, 1986):

$$y = a + 3 (S_{y/x}) \quad (\text{Ec. 10})$$

Donde:

y = valor de la ordenada al origen en el límite de detección.

a = Intercepto.

$(S_{y/x})$ = Desviación estándar de los valores de “y”. La cual se calcula con la ecuación 11 (Miller, Miller, 1993):

$$(S_{y/x}) = [\sum (y - y^{\wedge})^2 / (n - 2)]^{1/2} \quad (\text{Ec 11})$$

Donde:

y = altura del pico.

y^{\wedge} = “y” estimada (Dato obtenido del programa Microsoft excel).

n = número de puntos de la recta (curva de calibración).

Por último, el límite de detección se obtiene despejando el valor de “x” de la ecuación de la recta, ($y = mx + b$), ecuación 12:

$$x = (y - b) / m \quad (\text{Ec. 12})$$

Donde :

x = Límite de detección.

y = valor de la ordenada al origen obtenido de la fórmula mencionada anteriormente.

b = intercepto de la curva de calibración.

m = pendiente de la curva de calibración.

3.5.4 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación fue obtenido como lo establece la IUPAC, a partir de la desviación estándar de los valores de “y”, estos valores corresponden a la misma gráfica de la cual se obtuvo el límite de detección, y se procedió aplicando la ecuación 13 (USEPA, 1986):

$$y = a + 5 (S_{y/x}) \quad (\text{Ec. 13})$$

Donde:

y = valor de la ordenada al origen en el límite de cuantificación.

a = Intercepto.

($S_{y/x}$) = Desviación estándar de los valores de "y". Obteniéndose con la ecuación 11.

Finalmente el límite de cuantificación se obtiene con la ecuación 12.

3.5.5 Precisión

Para determinar la precisión de nuestro método se contaminó una solución acuosa (100 mL) con un estándar de los compuestos halogenados para obtener una concentración de 5 ng/mL de diclorometano, 0,5 ng/mL de cloroformo y 0,005 ng/mL de tetracloruro de carbono. De igual manera, otros 100 mL de agua se contaminaron con un estándar de compuestos aromáticos para obtener una concentración de 500 ng/mL de benceno, 500 ng/mL de tolueno y 500 ng/mL de xileno, ANEXOS B y C.

Se llenaron, para cada uno de los grupos de contaminantes, 5 viales con 5 mL cada uno de la solución preparada respectivamente para cada grupo, Figuras 5 y 6. Los viales se taparon y se dejaron reposar por espacio de 10 minutos para alcanzar el equilibrio entre la fase acuosa y el *head space*.

Los 5 viales para cada grupo se leyeron consecutivamente empleando el detector de captura de electrones para compuestos halogenados y el de ionización de flama para aromáticos.

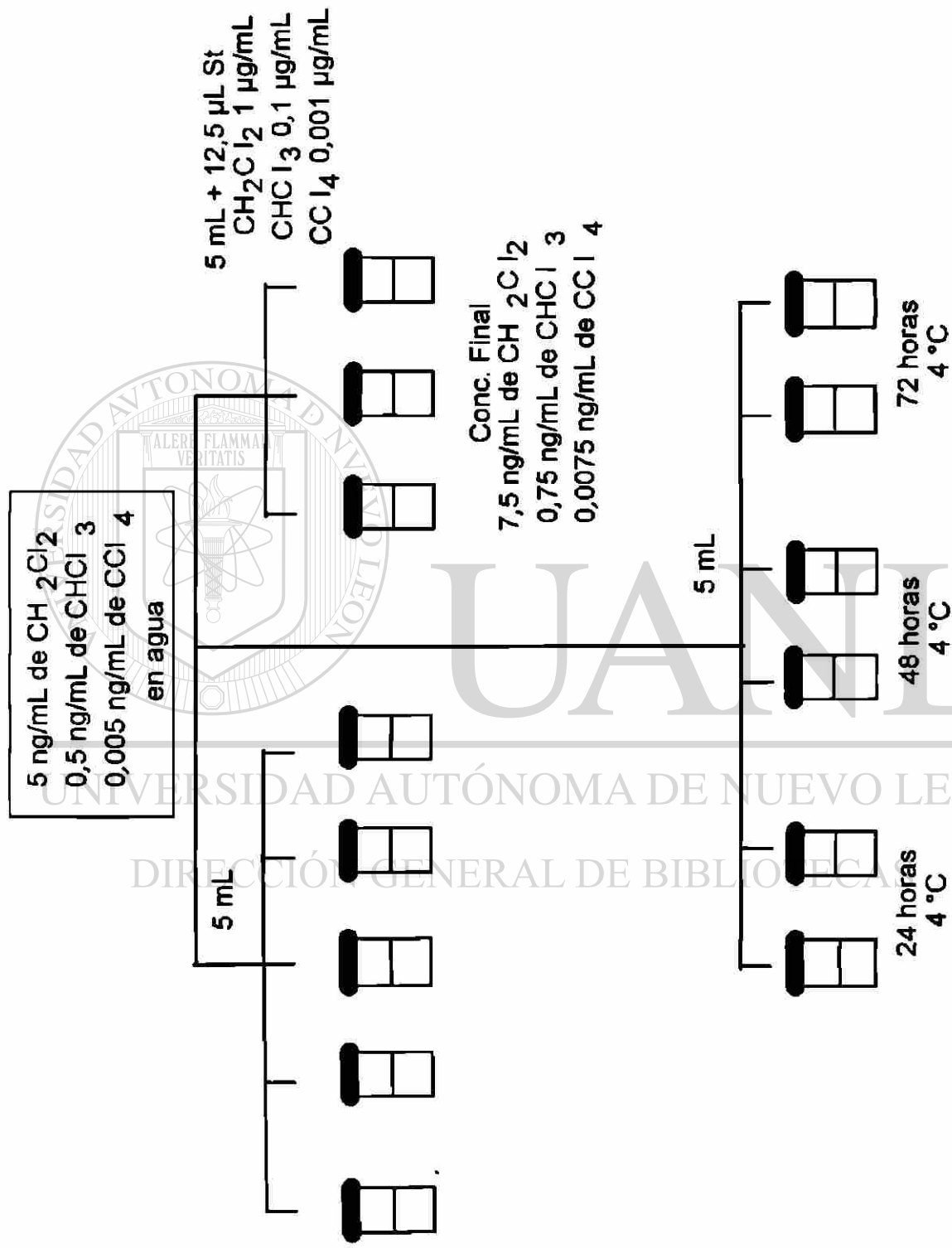


Figura 5. Precisión, recuperación y estabilidad de compuestos halogenados.

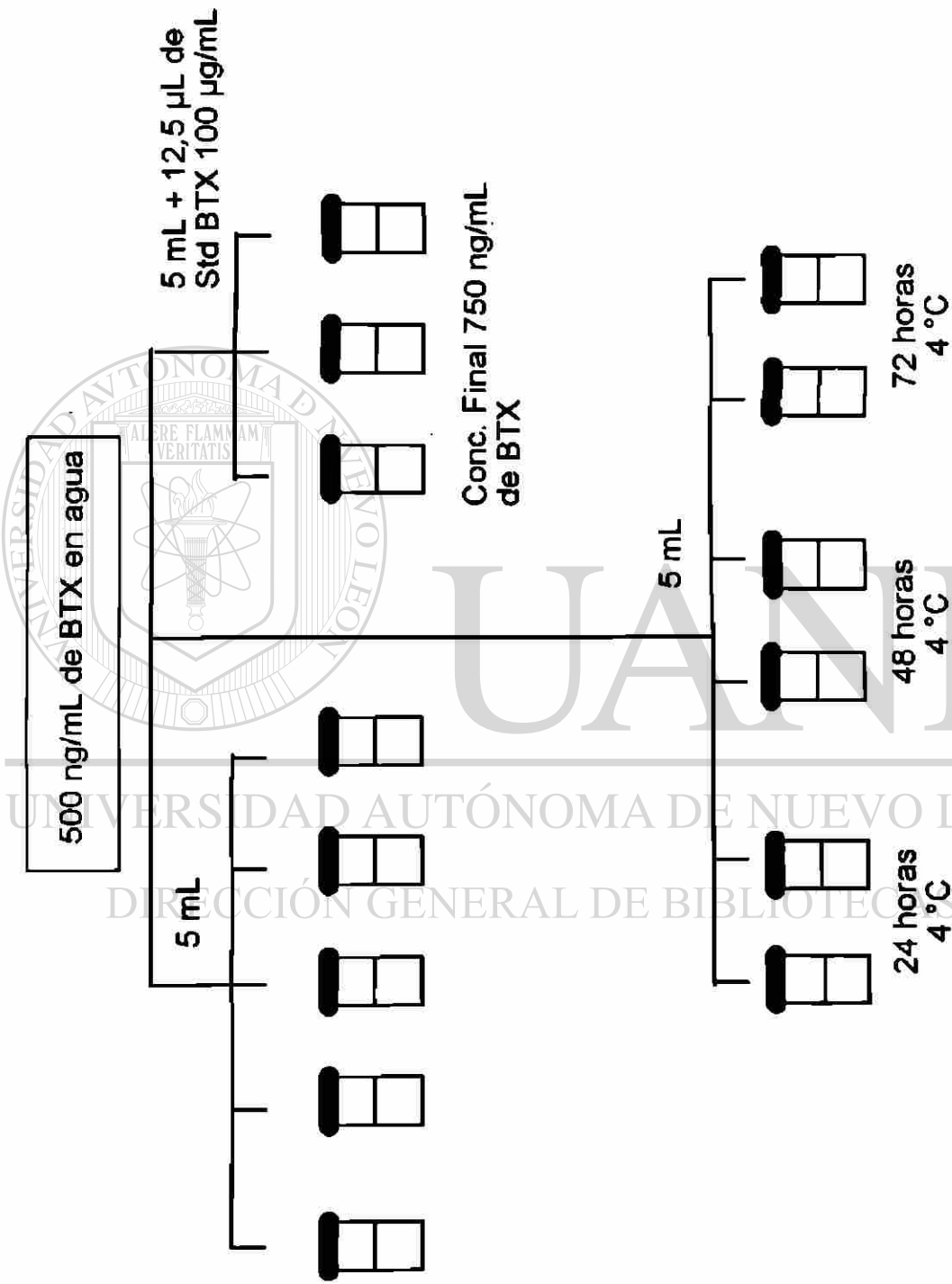


Figura 6. Precisión, recuperación y estabilidad de compuestos aromáticos.

Con los datos obtenidos de las cinco lecturas (para cada grupo), se obtuvo el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación con ayuda del programa Microsoft excel.

3.5.6 Recuperación

El por ciento de recuperación es la representación matemática más utilizada de la exactitud.

Para obtener el por ciento de recuperación con la SPME se llenaron 3 viales con 5 mL cada uno para cada grupo de contaminantes (Figuras 5 y 6), cada grupo con la respectiva solución que fue preparada para determinar precisión.

A cada uno de los viales se le aumentó un 25 % su concentración agregando estándar (*spike*) con la pipeta automática para obtener, en el caso de los compuestos halogenados una concentración final de 7,5 ng/mL de diclorometano, 0,75 ng/mL de cloroformo y 0,0075 ng/mL de tetracloruro de carbono. Trabajando de igual manera para los compuestos aromáticos, se obtuvo una concentración final de 750 ng/mL de benceno, 750 ng/mL de tolueno y 750 ng/mL de xileno, ANEXOS B y C.

Una vez agregado el *spike* correspondiente a cada vial, éste se tapó inmediatamente y se agitó en un vortex, dejándolo reposar posteriormente unos 10 minutos permitiendo así

que se estableciera el equilibrio entra ambas fases (líquido-vapor), antes de introducir la fibra al *head space*.

El por ciento de recuperación se obtuvo con la ecuación 14:

$$R = [(C.O.\textit{spike} - C.O.)(100)] / [C.T.\textit{spike} - C.T.] \quad (\text{Ec. 14})$$

Donde:

R = por ciento de recuperación.

C.O. *spike* = promedio de las concentraciones obtenidas de los viales que llevan *spike*.

C.O. = promedio de las concentraciones obtenidas de los viales para determinar precisión.

C.T. *spike* = concentración teórica de los viales que llevan *spike*.

C.T. = concentración teórica de los viales para determinar precisión.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

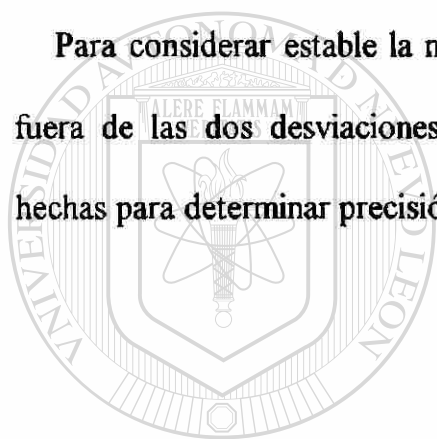
3.6 Estabilidad

Con la finalidad de conocer si las muestras a ser analizadas por este método pueden almacenarse de no ser procesadas el día que se reciben, es decir, si las concentraciones de los VOCS presentes en la muestra permanecen constantes a pesar del tiempo, se procedió a monitorear la estabilidad de las mismas.

Se llenaron 6 viales para cada grupo de compuestos con 5 mL cada uno de las soluciones que se prepararon respectivamente para cada grupo y se usaron para monitorear precisión.

Se guardaron en refrigeración los 6 viales (para cada grupo), para leer dos de ellos a las 24 h., dos a las 48 h. y dos a las 72 h.. Para cada uno de los días se almacenó un blanco, Figuras 5 y 6.

Para considerar estable la muestra, el promedio de las lecturas del día, no debe caer fuera de las dos desviaciones estándar de la concentración promedio de las lecturas hechas para determinar precisión.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

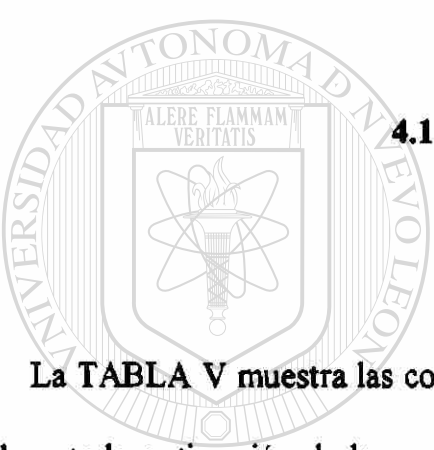


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPÍTULO 4

RESULTADOS

4.1 Compuestos halogenados



La TABLA V muestra las condiciones de los experimentos y los resultados obtenidos durante la optimación de la respuesta del detector de captura de electrones utilizando el MSSB. Las condiciones óptimas establecidas, sobre las cuales desarrollamos nuestro trabajo experimental fueron: un tiempo de exposición de 7,5 minutos, una temperatura de desorción de 120 °C y una temperatura de exposición de 25°C.

La separación se obtuvo con la columna a 35 °C por 5 minutos. Los tiempos de retención de los compuestos fueron: diclorometano 1,459 minutos, cloroformo 2,328 minutos y tetracloruro de carbono 3,309 minutos. Las Figuras 7 y 8 muestran los cromatogramas de los compuestos halogenados por inyección directa, y empleando SPME respectivamente.

TABLA V. Optimación de la respuesta del ECD para compuestos halogenados por MSSB.

Condiciones óptimas: Tiempo de exposición 7,5 minutos, temperatura de desorción 120°C y temperatura de exposición 25 °C.

Número de experimento	Tiempo de exposición	Temperatura de desorción	Temperatura de exposición	Número de cuentas
1	2,5 min.	125 °C	15 °C	835 122
2	2,5 min.	75 °C	35 °C	595 893
3	7,5 min.	75 °C	15 °C	963 047
4	7,5 min.	125 °C	35 °C	699 596
5	9 min.	142 °C	8 °C	690 186
6	7,5 min.	125 °C	15 °C	791 319
7	7 min.	117 °C	25 °C	840 412
8	4 min.	86 °C	22 °C	985 531
9	2 min.	67 °C	25 °C	853 309
10	9 min.	60 °C	26 °C	1 038 237
11	7,5 min.	120 °C	25 °C	1 096 604

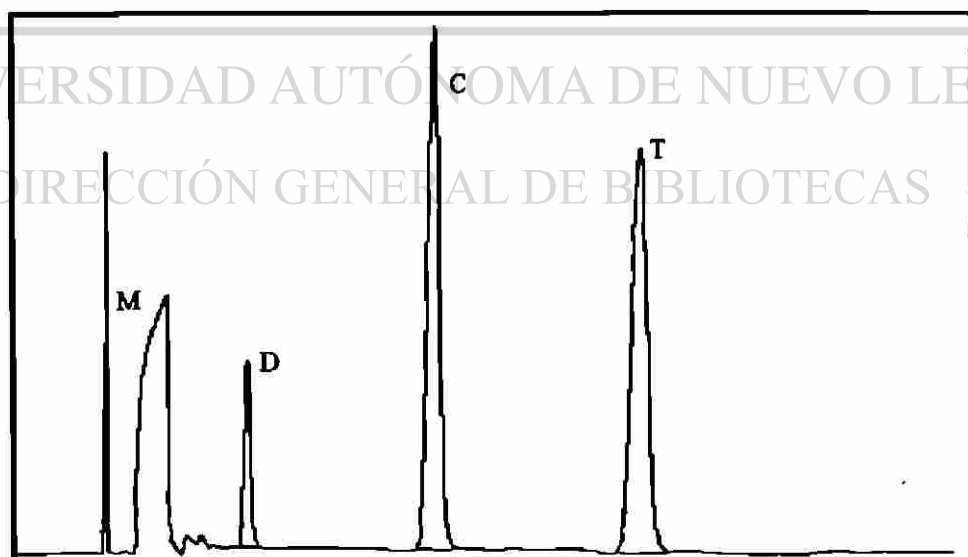


Figura 7. Cromatograma de compuestos halogenados por inyección.

Concentración del estándar mezcla: Diclorometano (D) 10 000 ng/mL, t_R 1,459; Cloroformo (C) 1 000 ng/mL, t_R 2,328 y Tetracloruro de Carbono (T) 100 ng/mL, t_R 3,309 en metanol grado pesticida (M) t_R 0,978 y 1,113. Volumen de inyección 1 μ L. Temperatura del inyector 200 °C. Columna DB-1 a 35 °C por 5min. Temperatura del ECD 250 °C.

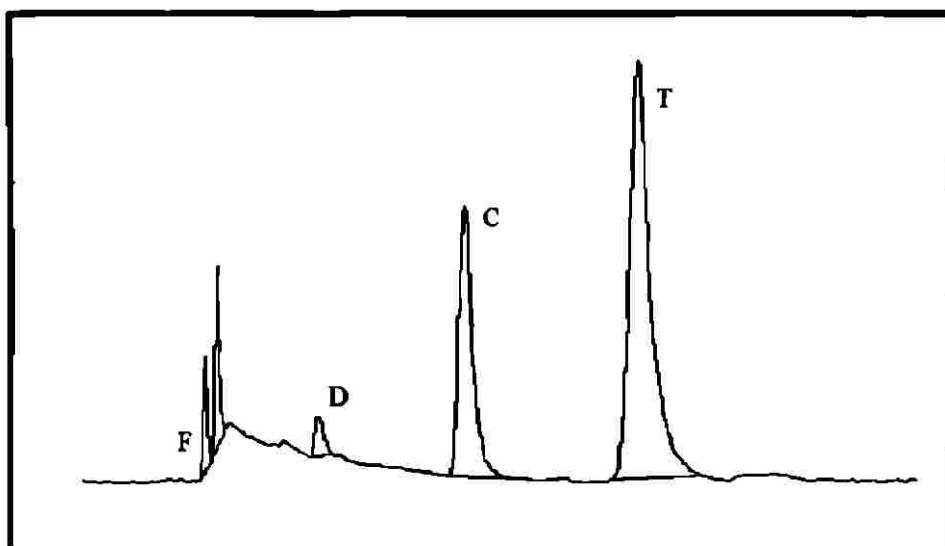


Figura 8. Cromatograma de compuestos halogenados por SPME.

Concentración del estándar mezcla: Diclorometano (D) 12 ng/mL, t_R 1,495; Cloroformo (C) 1,2 ng/mL, t_R 2,348 y Tetracloruro de Carbono (T) 0,012 ng/mL, t_R 3,352. Fibra (F) de 100 μ m de polidimetilsiloxano. Exposición al *head space* por 7,5 min. a 25 °C. Temperatura del Inyector 120 °C. Columna DB-1 a 35 °C por 5 min. Temperatura del ECD 250 °C

4.1.1 Límites de detección y cuantificación

4.1.1.1 Por inyección directa, al cromatógrafo de gases.

Del análisis por inyección directa de los estándares de los compuestos halogenados en metanol se obtuvieron los siguientes resultados:

La Figura 9 muestra los resultados de la curva de calibración para el diclorometano, la cual, presenta una regresión lineal de 0,993 y un factor de respuesta de 0,006 con un coeficiente de variación del 8 %. Los límites de detección y cuantificación fueron de 8 y 13 ng/mL respectivamente, la sensibilidad de calibración fue de 174 cuentas/pg inyectados.

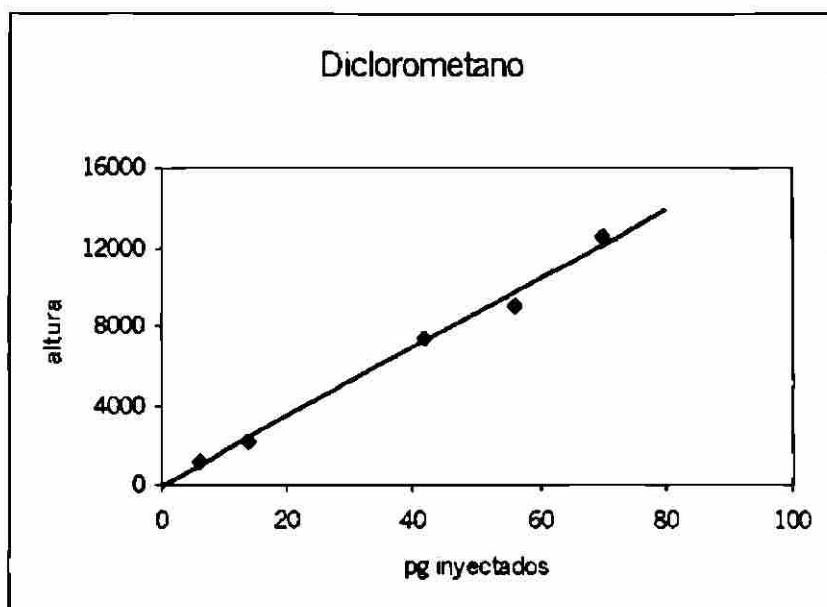


Figura 9. Curva de calibración lineal del diclorometano por inyección.

En la Figura 10 se muestra la curva de calibración para el cloroformo, de la cual, se obtuvo una regresión lineal de 0,990 con un factor de respuesta de 0,0004 y un coeficiente de variación del 13 %. El límite de detección se estableció en 6 ng/mL, mientras que el límite de cuantificación fue de 10 ng/mL; la sensibilidad de calibración fue de 2036 cuentas/pg inyectados.

En la Figura 11 se presentan los resultados para la curva de calibración del tetracloruro de carbono, en ella se observa una regresión lineal de 0,996, con un factor de respuesta de 0,0001 y un coeficiente de variación del 7 %; el límite de detección fue de 4 ng/mL y el de cuantificación fue de 7 ng/mL; la sensibilidad de calibración obtenida fue de 14881 cuentas/pg inyectados.

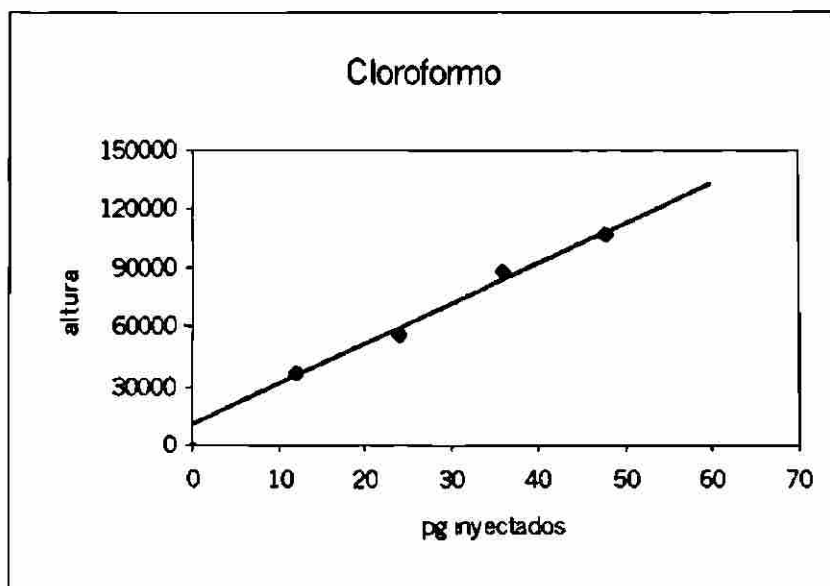


Figura 10. Curva de calibración lineal del cloroformo por inyección.

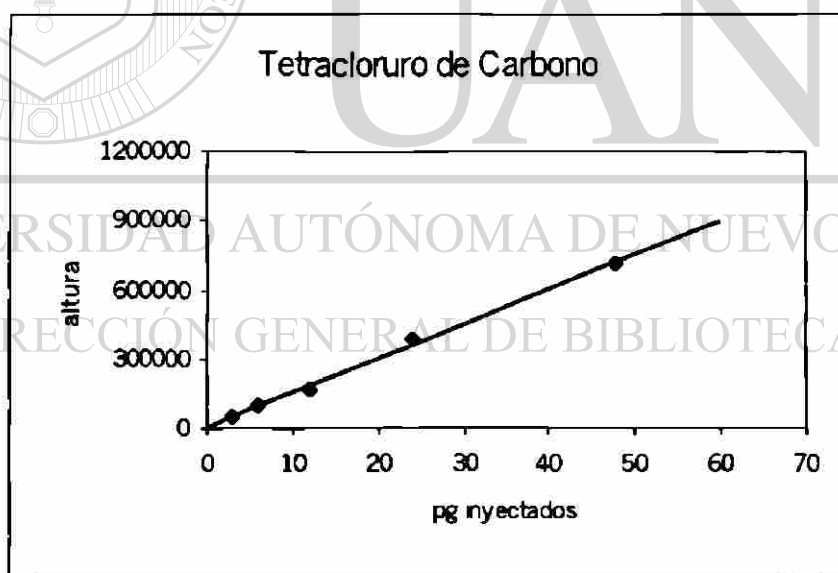


Figura 11. Curva de calibración lineal del tetracloruro de carbono por inyección.

4.1.1.2 Por microextracción en fase sólida.

En el presente trabajo se experimentó con diferentes espesores del material adsorbente de la fibra, los cuales fueron 7, 30 ó 100 μm . Estas fibras se trabajaron bajo las mismas condiciones de extracción y las mismas condiciones cromatográficas, los resultados se presentan en las TABLAS VI y VII.

TABLA VI Límites de detección empleando fibras de diferente espesor.

Compuestos halogenados	Fibras de polidimetilsiloxano		
	7 μm	30 μm	100 μm
Diclorometano	216 ng/mL	20 ng/mL	1,6 ng/mL
Cloroformo	1,5 ng/mL	0,8 ng/mL	0,1 ng/mL
Tetracloruro	1,8 ng/mL	0,14 ng/mL	0,001 ng/mL

TABLA VII Límites de cuantificación empleando fibras de diferente espesor.

Compuestos halogenados	Fibras de polidimetilsiloxano		
	7 μm	30 μm	100 μm
Diclorometano	360 ng/mL	33 ng/mL	2,7 ng/mL
Cloroformo	2,6 ng/mL	1,3 ng/mL	0,2 ng/mL
Tetracloruro	3,0 ng/mL	0,24 ng/mL	0,002 ng/mL

Las Figuras 12, 13 y 14 presentan las curvas de calibración de los compuestos halogenados por el método de microextracción en fase sólida empleando una fibra de polidimetilsiloxano de 100 μm de espesor.

Para el diclorometano, se obtuvo un coeficiente de regresión lineal de 0,995 y un factor de respuesta de 0,0002 con un coeficiente de variación del 20 %. El límite de detección fue de 1,6 ng/mL y el de cuantificación de 2,7 ng/mL, la sensibilidad de calibración fue de 3 289 cuentas/ng/mL.

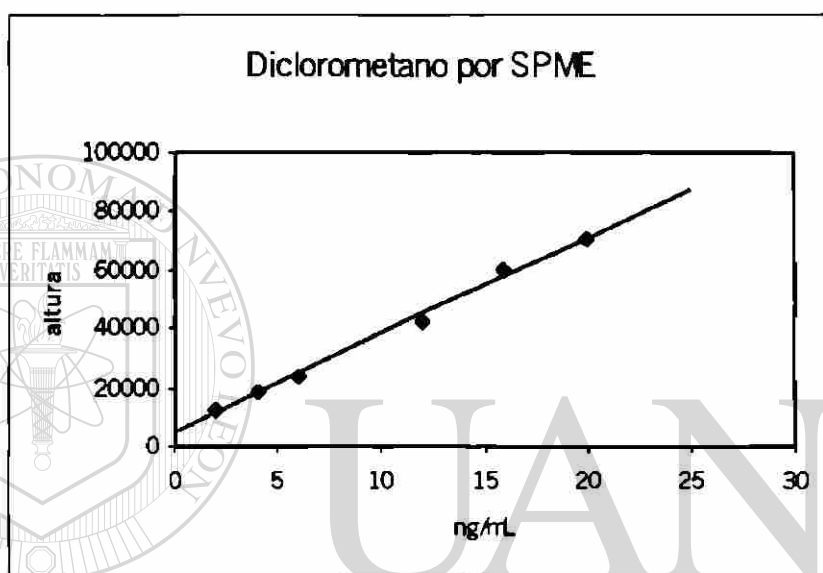


Figura 12. Curva de calibración lineal del diclorometano por SPME.

El cloroformo presentó un coeficiente de regresión lineal de 0,997 y un factor de respuesta de 0,000004 con un coeficiente de variación del 13 %. El límite de detección fue de 0,09 ng/mL y el límite de cuantificación de 0,16 ng/mL. La sensibilidad de calibración obtenida fue de 14 081 cuentas /ng/mL.

Para el tetracloruro de carbono se obtuvo un coeficiente de regresión lineal de 0,996 y un factor de respuesta de 0,00000003 con un coeficiente de variación del 11 %. Un

límite de detección de 0,001 ng/mL, un límite de cuantificación de 0,002 ng/mL y una sensibilidad de calibración de 29 074 449 cuentas/ng/mL.

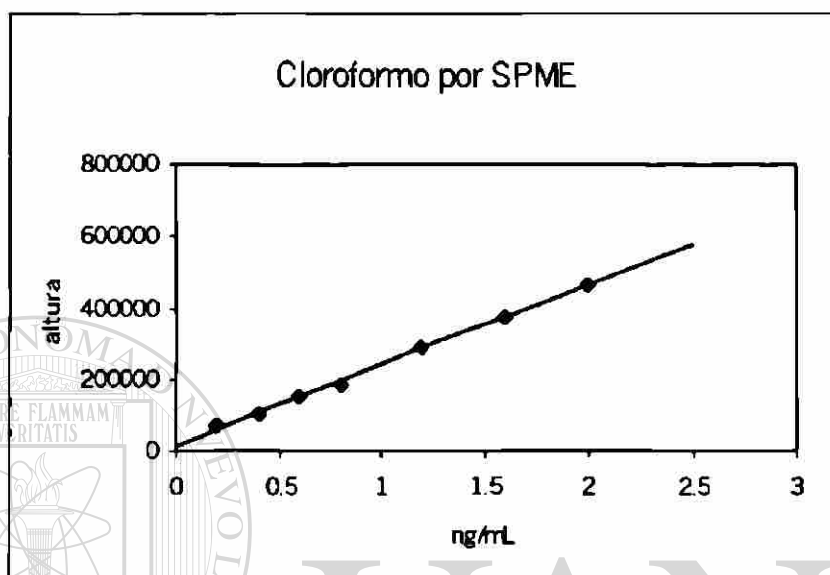


Figura 13. Curva de calibración lineal del cloroformo por SPME.

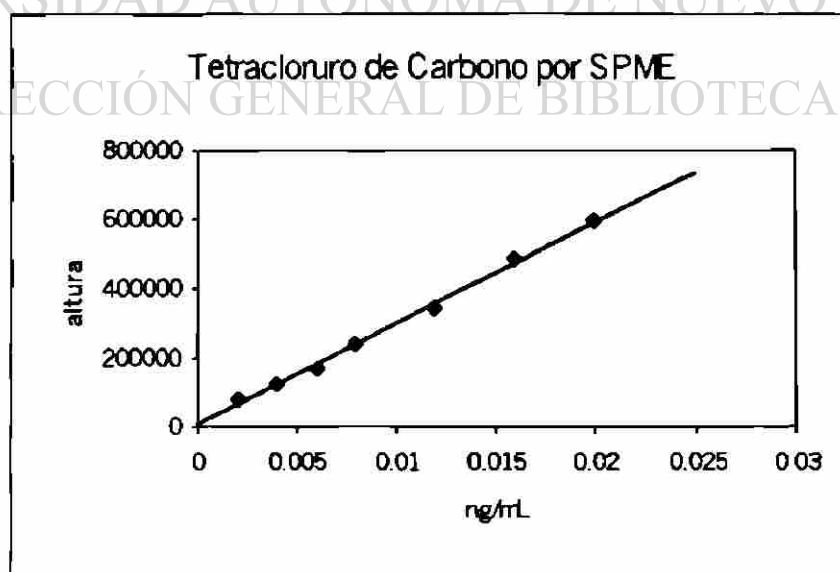


Figura 14. Curva de calibración lineal del tetracloruro de carbono por SPME.

La comparación de los límites de detección obtenidos por SPME, contra los obtenidos por inyección directa y los reportados por los métodos de referencia se muestra en la TABLA VIII. La comparación de los límites de cuantificación por SPME e inyección directa se muestra en la TABLA IX.

TABLA VIII. Límites de detección para compuestos halogenados por diferentes métodos.

Compuestos halogenados	USEPA 502.1	APHA 6230 B	Inyección	SPME
	ECD*	ECD**	ECD*	ECD*
Diclorometano	–	0,25 ng/mL	8 ng/mL	1,6 ng/mL
Cloroformo	–	0,05 ng/mL	6 ng/mL	0,09 ng/mL
Tetracloruro	0,003 ng/mL	–	4 ng/mL	0,001 ng/mL

*Detector de captura de electrones, **Detector de conductividad electrolítica.
 APHA: *American Public Health Association, Standar Methods of USEPA.*
 (Bellar, 1989; APHA, 1992).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

TABLA IX. Límites de cuantificación para compuestos halogenados por diferentes métodos.

Compuestos halogenados	Inyección	SPME
	ECD*	ECD*
Diclorometano	13 ng/mL	2,7 ng/mL
Cloroformo	10 ng/mL	0,16 ng/mL
Tetracloruro	7 ng/mL	0,002 ng/mL

* Detector de captura de electrones

4.1.2 Precisión, recuperación y estabilidad empleando SPME

Para el diclorometano, la concentración promedio obtenida para las cinco muestras fue de 5,5 ng/mL, con una desviación estándar de 0,7 y un coeficiente de variación del 13 %. El porcentaje de recuperación fue de 85 %.

Para el cloroformo, la concentración promedio obtenida fue de 0,5 ng/mL, con una desviación estándar de 0,07 y un coeficiente de variación del 13 %. El porcentaje de recuperación fue de 112 %.

Para el tetracloruro de carbono, la concentración promedio obtenida fue de 0,006 ng/mL, con una desviación estándar de 0,0009 y un coeficiente de variación del 15 %. El porcentaje de recuperación fue de 109 %.

La TABLA X conjunta los resultados de las pruebas de precisión y porcentajes de recuperación para los solventes halogenados.

TABLA X. Precisión y porcentaje de recuperación de los compuestos halogenados.

Compuestos halogenados	Promedio (x)	Desviación estándar	Coficiente de variación	Porcentaje de recuperación
Diclorometano	5,5	0,7	13%	85%
Cloroformo	0,5	0,07	13%	112%
Tetracloruro	0,006	0,0009	15%	109%

Las Figuras 15, 16 y 17 muestran los resultados de las pruebas de estabilidad, las cuales indican que, para el diclorometano y el cloroformo, las muestras son estables durante 72 h, mientras que para el tetracloruro de carbono solo lo son 24 h.

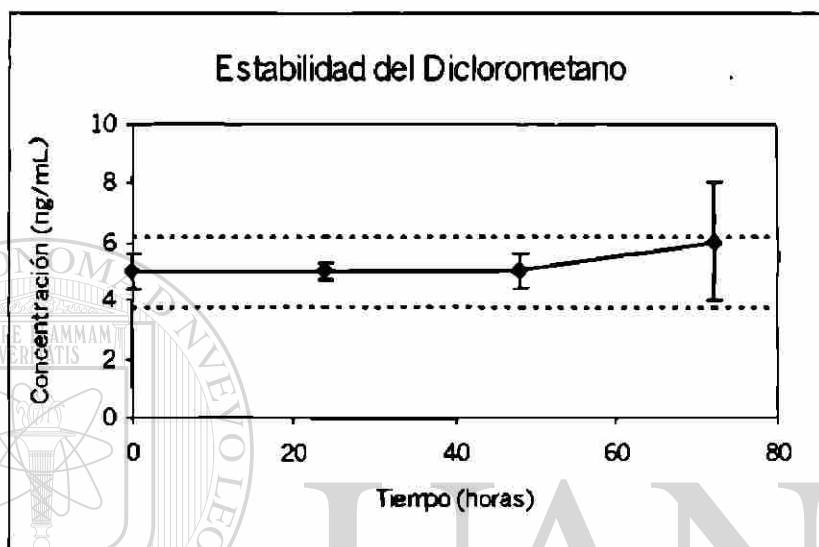


Figura 15. Estabilidad del diclorometano en refrigeración a 4 °C.

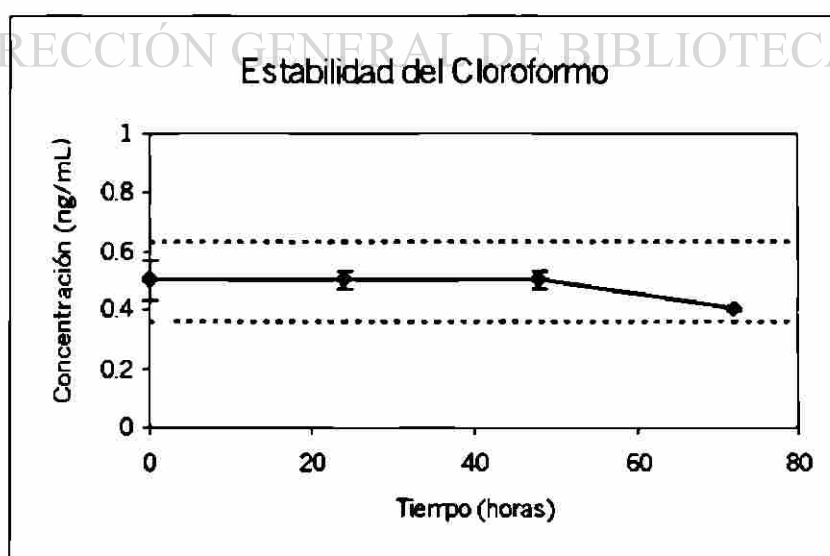


Figura 16. Estabilidad del cloroformo en refrigeración a 4 °C.

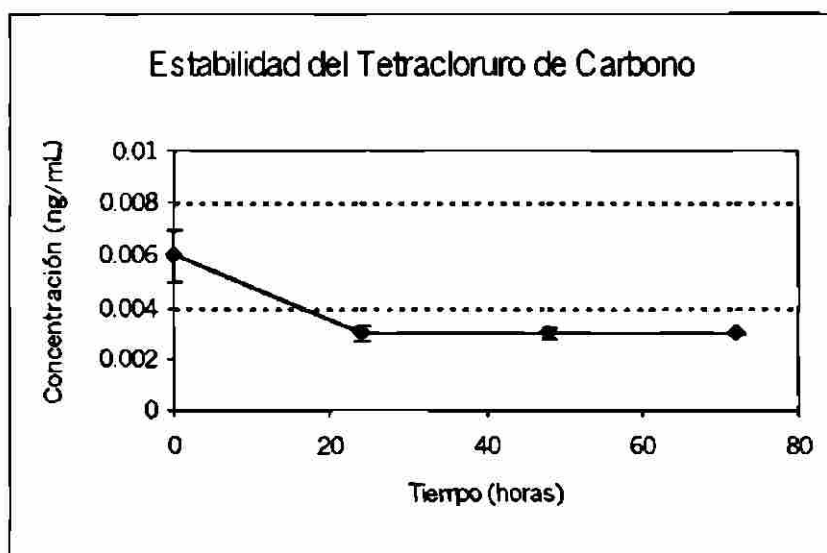
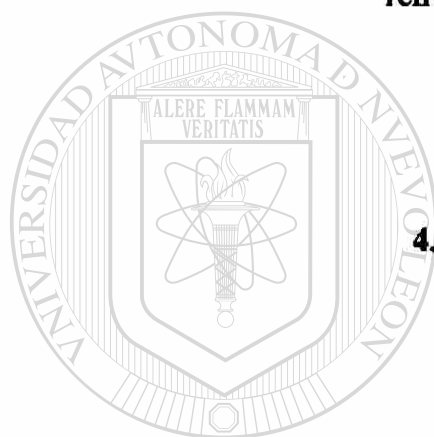


Figura 17. Estabilidad del tetracloruro de carbono en refrigeración a 4 °C.



4.2 Compuestos aromáticos

La TABLA XI muestra las condiciones de los experimentos y los resultados obtenidos durante la optimización de la respuesta del detector de ionización de flama utilizando el MSSB. Las condiciones óptimas establecidas, sobre las cuales desarrollamos nuestro trabajo experimental fueron: un tiempo de exposición de 10 minutos, una temperatura de desorción de 200 °C y una temperatura de exposición de 25°C.

TABLA XI. Optimación de la respuesta del FID para compuestos aromáticos por MSSB.

Condiciones óptimas: Tiempo de exposición 10 minutos, temperatura de desorción 200 °C y temperatura de exposición 25 °C.

Número de experimento	Tiempo de exposición	Temperatura de desorción	Temperatura de exposición	Número de cuentas
1	5 min.	180 °C	25 °C	11
2	15 min.	180 °C	25 °C	16
3	10 min.	250 °C	25 °C	15
4	10 min.	200 °C	80 °C	0
5	10 min.	207 °C	- 30 °C	No realizado
6	10 min.	200 °C	80 °C	No realizado
7	10 min.	207 °C	- 30 °C	No realizado
8	10 min.	200 °C	25 °C	18

La separación se obtuvo con la columna DB-1 a 50 °C por 6 minutos, una rampa de 50 °C/minutos hasta 100 °C por 3 minutos. Los tiempos de retención de los compuestos fueron: benceno 2,223 minutos, tolueno 4,309 minutos y xilenos 7,052 minutos el isómero para, 7,197 minutos el isómero meta y 7,575 minutos el isómero orto. Las Figuras 18 y 19 muestran los cromatogramas de los compuestos aromáticos por inyección directa, y empleando SPME respectivamente.

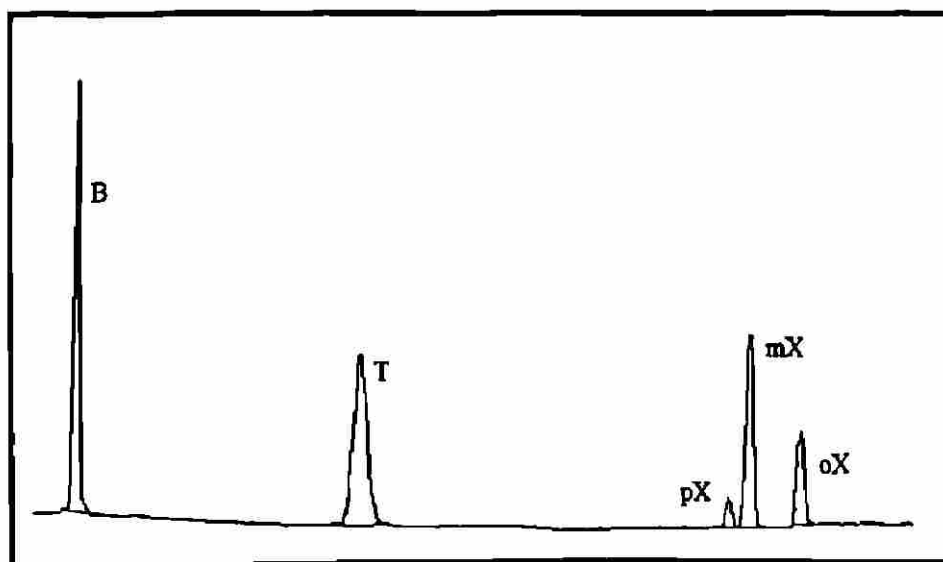


Figura 18. Cromatograma de compuestos aromáticos por inyección.

Concentración del estándar mezcla: Benceno, Tolueno y Xileno 100 $\mu\text{g/mL}$. Benceno (B) t_R 2,223, Tolueno (T) t_R 4,309, p-Xileno (pX) t_R 7,052, m-Xileno (mX) t_R 7,197 y o-Xileno (oX) t_R 7,575 en metanol grado pesticida. Volumen de inyección 1,2 μL . Temperatura del Inyector 200 $^{\circ}\text{C}$. Columna DB-1 a 50 $^{\circ}\text{C}$ por 6 min., rampa 50 $^{\circ}\text{C/min}$. hasta 100 $^{\circ}\text{C}$ por 3 min. Temperatura del FID 250 $^{\circ}\text{C}$. Nota: Por razones de autoescala, la señal del metanol t_R 1,113 fue eliminada.

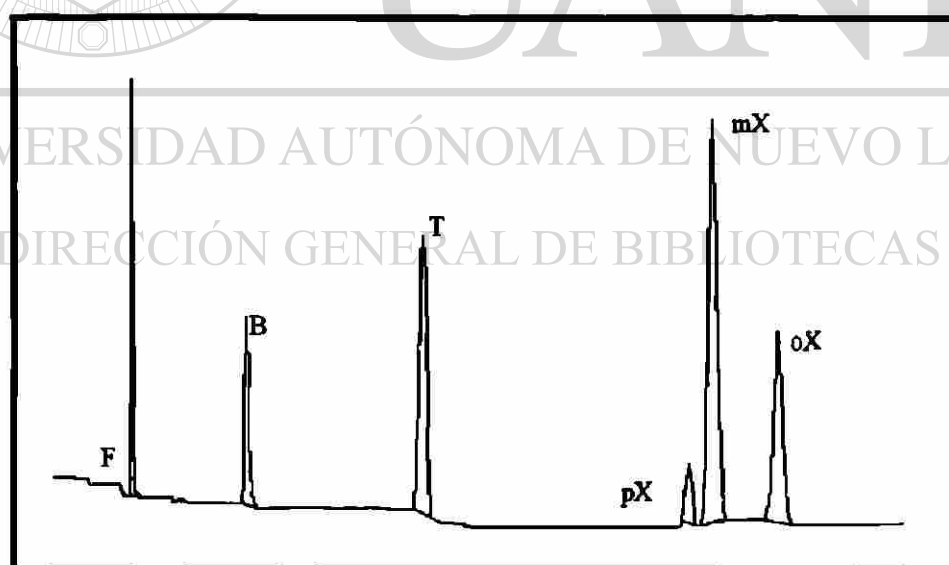


Figura 19. Cromatograma de compuestos aromáticos por SPME.

Concentración del estándar mezcla: Benceno, Tolueno y Xileno 750 ng/mL . Benceno (B) t_R 2,248, Tolueno (T) t_R 4,299, p-Xileno (pX) t_R 7,398, m-Xileno (mX) t_R 7,677 y o-Xileno (oX) t_R 8,432. Fibra (F) de 100 μm de polidimetilsiloxano. Exposición al *head space* por 10 min. a 25 $^{\circ}\text{C}$. Temperatura del Inyector 200 $^{\circ}\text{C}$. Columna DB-1 a 50 $^{\circ}\text{C}$ por 6 min., rampa 50 $^{\circ}\text{C/min}$. hasta 70 $^{\circ}\text{C}$ por 1 min., rampa 2 $^{\circ}\text{C/min}$. hasta 75 $^{\circ}\text{C}$. Temperatura del FID 250 $^{\circ}\text{C}$.

4.2.1 Límites de detección y cuantificación

4.2.1.1 Por inyección directa al cromatógrafo de gases.

Del análisis por inyección directa de los estándares de los compuestos aromáticos en metanol se obtuvieron los siguientes resultados:

La Figura 20 presenta los resultados de la curva de calibración para el benceno, la cual presentó una regresión lineal de 0,994 y un factor de respuesta de 0,71 con un coeficiente de variación del 16 %. Los límites de detección y cuantificación fueron de 17000 y 29000 ng/mL respectivamente; la sensibilidad de calibración fue de 2 cuentas/ng inyectados.

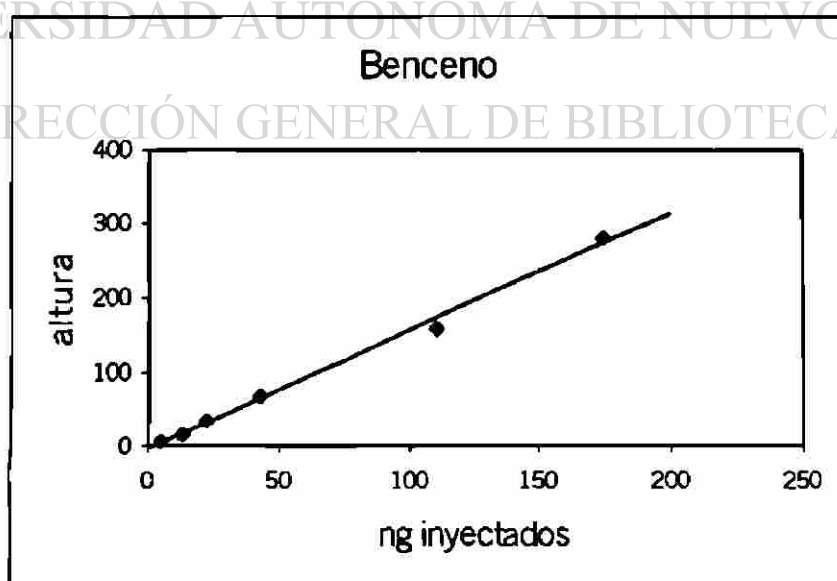


Figura 20. Curva de calibración lineal del benceno por inyección.

En la Figura 21 se muestran los resultados de la curva de calibración para el tolueno, observándose una regresión lineal de 0,990 con un factor de respuesta de 1,33 y un coeficiente de variación del 17 % para el mismo. El límite de detección encontrado fue de 24000 ng/mL, mientras que el límite de cuantificación fue de 40 000 ng/mL. La sensibilidad de calibración fue de 1 cuenta/ng inyectados.

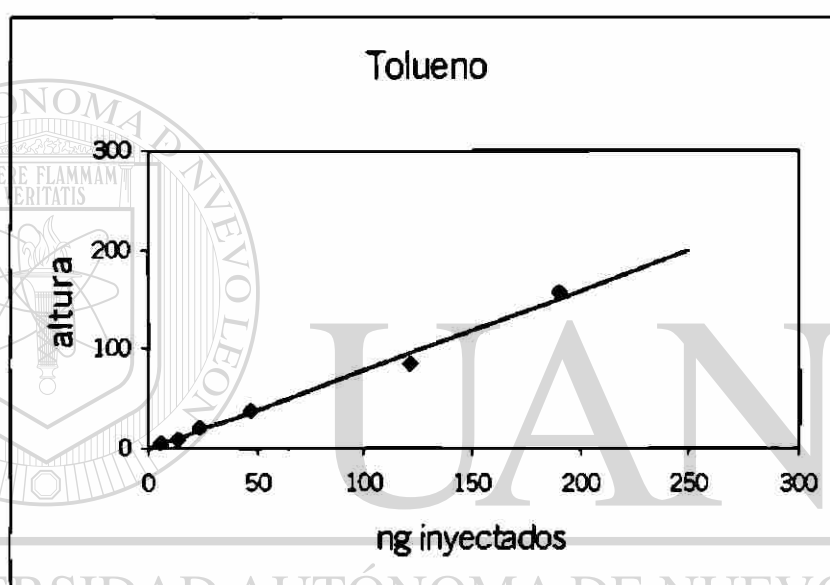


Figura 21. Curva de calibración lineal del tolueno por inyección.

La Figura 22 muestra la curva de calibración para el xileno, de la cual se obtuvo una regresión lineal de 0,991, con un factor de respuesta de 2,84 y un coeficiente de variación del 18 %; el límite de detección fue de 25 000 ng/mL y el de cuantificación fue de 41 000 ng/mL; la sensibilidad de calibración obtenida fue de 0,4 cuentas/ng inyectados.

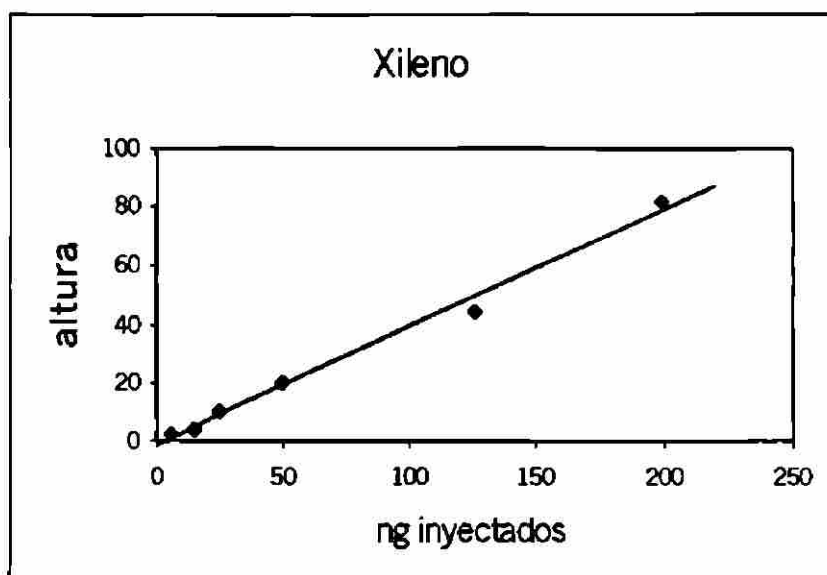


Figura 22. Curva de calibración lineal del xileno por inyección.

4.2.1.2 Por microextracción en fase sólida.

Las Figuras 23, 24 y 25 presentan los resultados de las curvas de calibración de los compuestos aromáticos por el método de microextracción en fase sólida empleando una fibra de polidimetilsiloxano de 100 μm de espesor.

Para el benceno, se obtuvo un coeficiente de regresión lineal de 0,997 y un factor de respuesta de 23 con un coeficiente de variación del 3 %. Un límite de detección de 78 ng/mL y uno de cuantificación de 131 ng/mL. La sensibilidad de calibración fue de 0,04 cuentas/ng/mL.

El tolueno presentó un coeficiente de regresión lineal de 0,993 y un factor de respuesta de 27 con un coeficiente de variación del 15 %. El límite de detección fue de 120 ng/mL y el límite de cuantificación de 200 ng/mL. La sensibilidad de calibración obtenida fue de 0,04 cuentas/ng/mL.

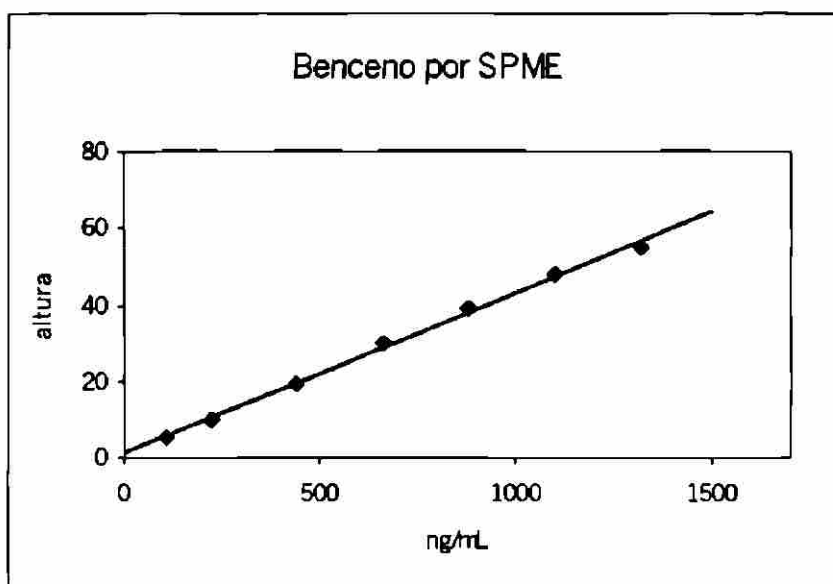


Figura 23. Curva de calibración lineal del benceno por SPME.

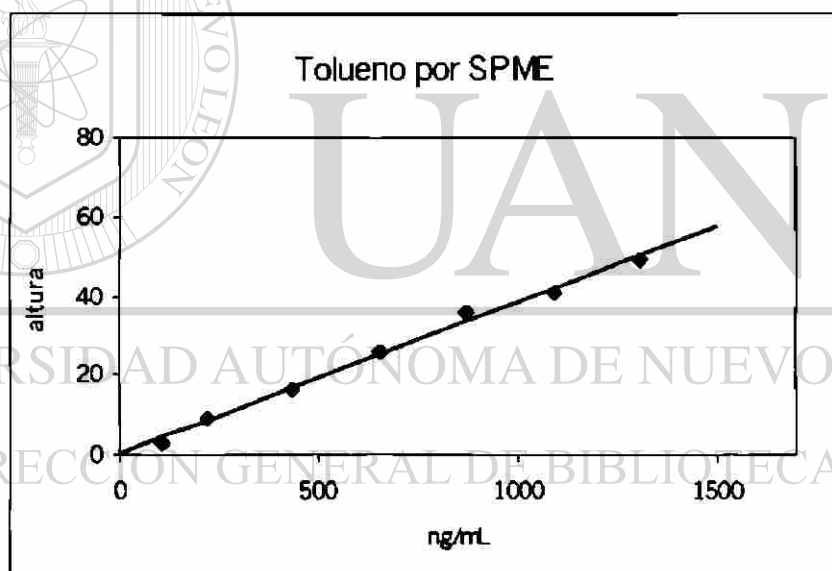


Figura 24. Curva de calibración lineal del tolueno por SPME.

Para el xileno se obtuvo un coeficiente de regresión lineal de 0,980 y un factor de respuesta de 21 con un coeficiente de variación del 9 %. Un límite de detección de 205 ng/mL, un límite de cuantificación de 341 ng/mL y una sensibilidad de calibración de 0,04 cuentas/ng/mL.

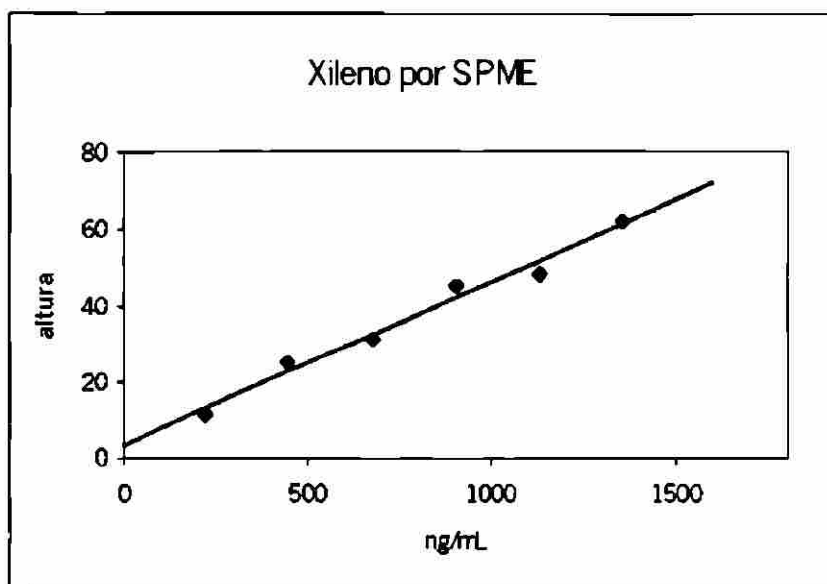


Figura 25. Curva de calibración lineal del xileno por SPME.

La comparación de los límites de detección obtenidos por SPME, contra los obtenidos por inyección directa y los reportados por los métodos de referencia se muestra en la TABLA XII. La comparación de los límites de cuantificación por SPME e inyección directa se muestra en la TABLA XIII.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

TABLA XII. Límites de detección para compuestos aromáticos por diferentes métodos.

Compuestos aromáticos	USEPA 503.1	Inyección	SPME
	PID*	FID**	FID**
Benceno	0,02 ng/mL	17 000 ng/mL	78 ng/mL
Tolueno	0,02 ng/mL	24 000 ng/mL	120 ng/mL
Xileno	0,002 - 0,004 ng/mL	25 000 ng/mL	205 ng/mL

*Detector de fotoionización. ** Detector de ionización de flama.
(Bellar, 1989).

TABLA XIII. Límites de cuantificación para compuestos aromáticos por diferentes métodos.

Compuestos aromáticos	Inyección	SPME
	FID*	FID*
Benceno	29 000 ng/mL	131 ng/mL
Tolueno	40 000 ng/mL	200 ng/mL
Xileno	41 000 ng/mL	341 ng/mL

*Detector de ionización de flama.

4.2.2 Precisión, recuperación y estabilidad empleando SPME

Para el benceno, la concentración promedio obtenida para las cinco muestras fue de 455 ng/mL, con una desviación estándar de 30 y un coeficiente de variación del 7 %. El porcentaje de recuperación fue del 98 %.

Para el tolueno, la concentración promedio obtenida fue de 459 ng/mL, con una desviación estándar de 19 y un coeficiente de variación del 4 %. El porcentaje de recuperación fue de 104 %.

Para el xileno, la concentración promedio obtenida fue de 420 ng/mL, con una desviación estándar de 39 y un coeficiente de variación del 9 %. El porcentaje de recuperación obtenido fue de 100 %.

La TABLA XIV engloba los resultados de las pruebas de precisión y por ciento de

recuperación obtenidos para los solventes aromáticos.

TABLA XIV. Precisión y porcentaje de recuperación de los compuestos aromáticos.

Compuestos aromáticos	Promedio (x)	Desviación estándar	Coficiente de variación	Porcentaje de recuperación
Benceno	455	30	7%	98%
Tolueno	459	19	4%	104%
Xileno	420	39	9%	100%

Las Figuras 26, 27 y 28 muestran los resultados de las pruebas de estabilidad, las cuales indican que para el benceno las muestras son estables por 24 h., para el tolueno lo son por 48 h., y para el xileno por 72 h.

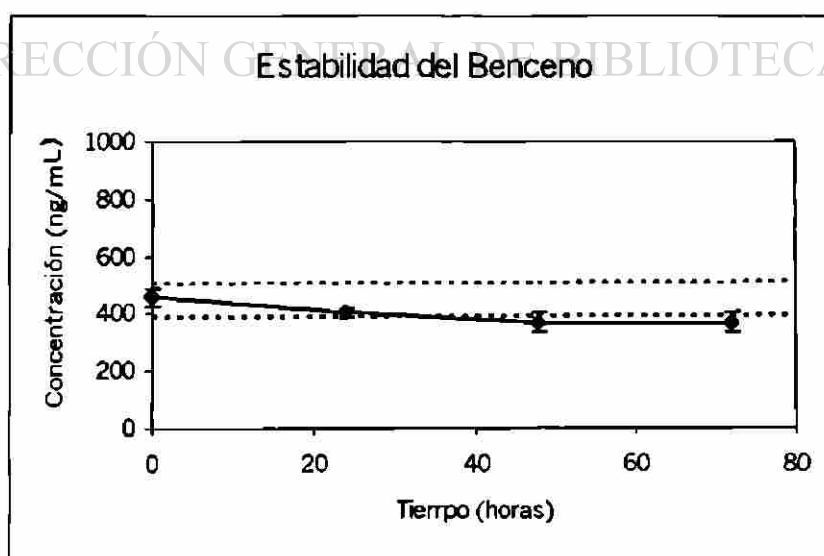


Figura 26. Estabilidad del benceno en refrigeración a 4 °C.

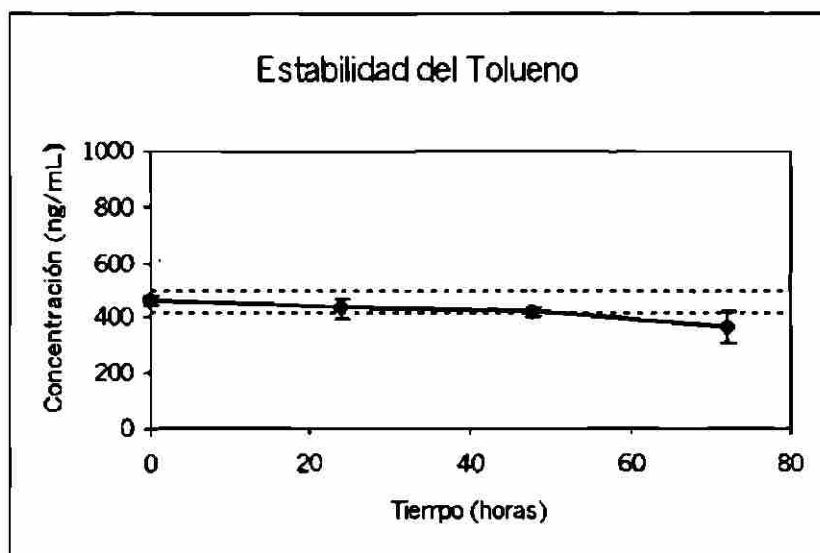


Figura 27. Estabilidad del tolueno en refrigeración a 4 °C.

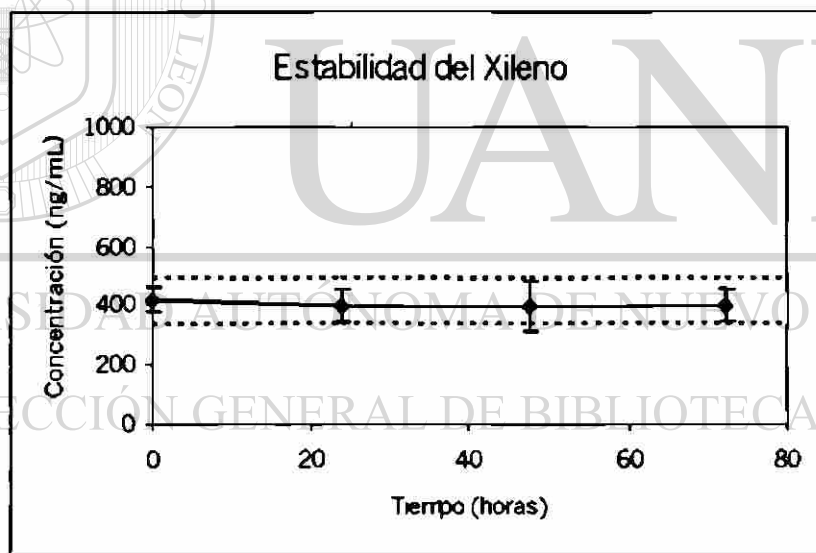
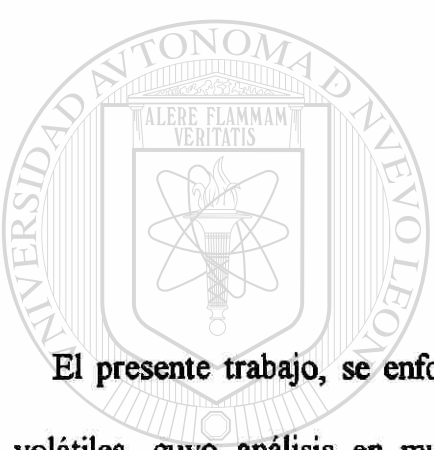


Figura 28. Estabilidad del xileno en refrigeración a 4 °C.

CAPÍTULO 5

DISCUSIÓN

5.1 Optimación



El presente trabajo, se enfocó a un grupo de contaminantes denominados orgánicos volátiles, cuyo análisis en muestras acuosas requería de aditamentos especiales para trabajarlos sin correr el riesgo de perderlos por manipulación. Partiendo de la hipótesis de que la SPME era una buena alternativa para su análisis se estableció como objeto de esta investigación el desarrollar y validar un método de análisis para VOCS utilizando la técnica de extracción por SPME.

El Método Simplex Secuencial Básico resultó de gran ayuda para cumplir con este objetivo, ya que permitió en forma sencilla llegar a obtener las condiciones óptimas de extracción por SPME.

Esta optimización se enfocó a obtener la máxima respuesta del detector, tanto para el de captura de electrones, como el de ionización de flama, es decir, se buscó obtener el mayor número de cuentas por parte del detector al enfrentarlo a la misma concentración de analito.

Aplicando el MSSB se pudo lograr el objetivo planteado seleccionando un grupo de variables de experimentación tomando en cuenta los factores de mayor influencia en nuestro resultado, dichas variables fueron: el tiempo de exposición, la temperatura de desorción y la temperatura de exposición.

El tiempo de exposición de la fibra a la fase de vapor resulta crucial para el resultado, pues un tiempo demasiado corto no permitiría llegar al equilibrio del analito entre la fibra y la fase de vapor, dando resultados erróneos; por otro lado, tiempos de exposición demasiado largos podrían ser innecesarios, restándole agilidad al proceso de extracción "per se".

Para el grupo de compuestos halogenados se obtuvo un tiempo de exposición de 7,5 minutos y para el grupo de aromáticos un tiempo de 10 minutos. En ambos casos, los tiempos obtenidos son considerablemente cortos comparados con los métodos de referencia para VOCS, los cuales, requieren de aproximadamente 30 minutos para completar un ciclo de extracción; los métodos convencionales además de requerir más tiempo conllevan pérdida del analito.

Con respecto a la temperatura de desorción, el tener temperaturas altas asegura la completa desorción de los analitos, pero también acorta la vida media de la fibra. Por otro lado, el uso de temperaturas muy bajas podría tener el efecto inverso y dejarnos concentraciones de analito adheridos a la fibra falseando así los resultados. La temperatura de desorción óptima para compuestos halogenados fue de 120 °C y para los aromáticos fue de 200 °C. Las temperaturas obtenidas fueron suficientes para desorber los analitos por completo en el inyector. Esto fue fácil de comprobar al hacer una segunda inyección de la fibra después de haber inyectado la muestra; el cromatograma de la fibra no mostró señales de los analitos, lo cual permitió exponer la fibra al siguiente vial sin necesidad de ningún tratamiento intermedio de la misma y sin riesgos de contaminación.

Finalmente, la temperatura de exposición (del vial) resultó crítica, ya que, un aumento en dicha temperatura favorece el paso de los VOCS a la fase de vapor, sin embargo, un excesivo calentamiento podría evaporar incluso la matriz acuosa y revertir el proceso de adsorción a la fibra al aumentar la constante de desorción. Se encontró que la temperatura de exposición óptima fue de 25 °C para ambos grupos de compuestos, observándose una disminución considerable en la respuesta del detector al exponer la fibra al *head space* de viales sumergidos en baño de agua a 60 °C; en este comportamiento, los equilibrios juegan un papel importante y es así como los analitos tienden a desorberse de la fibra regresando al *head space* respetando el principio de Le Chatelier.

5.2 Efecto del grosor de la fibra sobre el límite de detección

En el presente trabajo se experimentó con diferentes espesores del material adsorbente de la fibra, los cuales fueron 7, 30 ó 100 μm .

Estas fibras se trabajaron bajo las mismas condiciones de extracción y las mismas condiciones cromatográficas, obteniendo los mejores límites de detección y cuantificación con la fibra de 100 μm como era de esperar debido a su mayor capacidad de adsorción.

5.3 Análisis de VOCS halogenados por SPME

5.3.1. Límites de detección

Comparando los límites de detección obtenidos por SPME con los establecidos por los métodos de referencia tenemos lo siguiente:

Para el diclorometano y el cloroformo se obtuvo un límite de detección por SPME de 1,6 ng/mL y 0,09 ng/mL respectivamente. El método de referencia de la *American Public Health Association Estandar Methods of USEPA*, APHA 6230 B marca un límite

de detección de 0,25 ng/mL para diclorometano y 0,05 ng/mL para cloroformo. Nuestros límites de detección, para el caso del diclorometano no iguala al método de referencia, mientras que el cloroformo se encuentra muy a la par del mismo. Sin embargo, ambos resultan considerablemente buenos tomando en cuenta que el método de referencia utiliza un detector de conductividad electrolítica, el cual es mucho más sensible que el detector de captura de electrones con el que nosotros trabajamos. Dado que la Máxima Concentración Permisible establecida por la Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos es de 420 ng/mL para el diclorometano y 7 ng/mL para el cloroformo, es posible con toda seguridad monitorearlos empleando SPME como método de extracción aun por abajo de los límites permisibles.

Para el tetracloruro de carbono se obtuvo un límite de detección por SPME de 0,001 ng/mL, mientras que el método de referencia USEPA 502.1 marca 0,003 ng/mL. En este caso, el límite de detección obtenido por SPME supera el del método de referencia, lo que sitúa a la SPME como un buen método de extracción tomando en cuenta que el método de referencia utiliza el mismo tipo de detector de captura de electrones con el que se trabajó. Aunado a esto, la Máxima Concentración Permisible establecida por la Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos es de 5 ng/mL, lo que nos permite con toda seguridad monitorear el tetracloruro de carbono empleando SPME como método de extracción respetando los límites permisibles, detectando así, aumentos en su concentración que pondrían en riesgo a la población.

La comparación de los límites de detección obtenidos por SPME y los reportados por el método de referencia, así como, las máximas concentraciones permisibles de cada uno de los compuestos se observan en la TABLA XV.

TABLA XV. Límite de detección y máxima concentración permisible (MCP) para compuestos halogenados.

Compuestos halogenados	MCP	Límites de detección	
		Referencia	SPME
Diclorometano	420 ng/mL	0,25 ng/mL**	1,6 ng/mL
Cloroformo	7 ng/mL	0,05 ng/mL**	0,09 ng/mL
Tetracloruro	5 ng/mL	0,003 ng/mL*	0,001 ng/mL

*USEPA 502.1. **APHA 6230 B.
(Bellar, 1989; EPA, 1990; APHA, 1992).

5.3.2 Recuperación

En cuanto a los porcentajes de recuperación obtenidos por el método propuesto y los reportados por el método de referencia, se obtuvieron resultados muy similares para los diferentes contaminantes por ambos métodos. Así pues, para el diclorometano se obtuvo un porcentaje de recuperación del 85 % que resulta ser el mismo para el método de referencia USEPA 502.1; para el cloroformo se obtuvo un porcentaje de recuperación de 112 % por SPME, mientras que el método de referencia APHA 6230 B reporta un 98 %;

y por último el tetracloruro de carbono que por SPME reporta un 109 % de recuperación y por el método de referencia USEPA 502.1 un 90 %.

Nuestros porcentajes de recuperación obtenidos por SPME son equiparables a los reportados por los métodos de referencia, esto hace constar que la SPME es un buen método para la extracción para los VOCS halogenados, pues al minimizar la manipulación de la muestra, se reduce la pérdida de analito, lo cual se refleja en resultados más altos.

La comparación de los porcentajes de recuperación obtenidos por SPME y los reportados por los métodos de referencia para cada uno de los compuestos se observa en la tabla XVI.



UANL

TABLA XVI. Porcentajes de recuperación de los compuestos halogenados.

Compuestos halogenados	Recuperación (%)	
	Referencia	SPME
Diclorometano	85 *	85
Cloroformo	98 **	112
Tetracloruro	90 *	109

*USEPA 502.1. **APHA 6230 B.
(Bellar, 1989; APHA, 1992).

5.4 Análisis de VOCS aromáticos por SPME

5.4.1 Límites de detección

Comparando los límites de detección obtenidos por SPME con los establecidos por los métodos de referencia tenemos lo siguiente:

Para el benceno obtuvimos un límite de detección por SPME de 78 ng/mL, mientras que el método de referencia USEPA 503.1 marca 0,02 ng/mL. Nuestro límite de detección no supera, ni iguala por mucho a lo establecido por el método de referencia. Aunado a esto la Máxima Concentración Permisible establecida por la Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos es de 5 ng/mL. Con base en los resultados anteriores podemos ver claramente que nuestro método de extracción propuesto no es el adecuado para el benceno, pues no alcanzaríamos a monitorear los límites permisibles que marca la USEPA.

Para el tolueno obtuvimos un límite de detección por SPME de 120 ng/mL, y de 205 ng/mL para el xileno. El método de referencia USEPA 503.1 marca 0,02 ng/mL como límite de detección para el tolueno, y un rango de 0,002 a 0,004 ng/mL para el xileno. Los límites de detección obtenidos por el método de SPME están muy por arriba de los establecidos por el método de referencia, sin embargo, la Máxima Concentración Permisible establecida por la Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos es

de 1 000 ng/mL para el tolueno y 440 ng/mL para xileno, y si bien, nuestro método propuesto no supera al de referencia, sí puede ser usado para la determinación de tolueno y xileno, pues nos permite monitorear con toda seguridad su presencia en el agua respetando los límites permisibles marcados por la USEPA.

La comparación de los límites de detección obtenidos empleando SPME y los reportados por los métodos de referencia, así como, las MCP de cada uno de los compuestos se observa en la TABLA XVII.

TABLA XVII. Límite de detección y máxima concentración permisible (MCP) para compuestos aromáticos.

Compuestos aromáticos	MCP	Límites de detección	
		Referencia*	SPME
Benceno	5 ng/mL	0,02 ng/mL	78 ng/mL
Tolueno	1 000 ng/mL	0,02 ng/mL	120 ng/mL
Xileno	440 ng/mL	0,002 - 0,004 ng/mL	205 ng/mL

*Método USEPA 503.1.
(Bellar, 1989; EPA, 1990).

5.4.2 Recuperación

En cuanto a los porcentajes de recuperación obtenidos por el método propuesto y los reportados por el método de referencia, tenemos resultados muy similares para el benceno y tolueno. Así pues para el benceno obtuvimos un porcentaje de recuperación del 98 %, casi el mismo que establece el método de referencia USEPA 503.1 que es de 100 %; para el tolueno obtuvimos un porcentaje de recuperación de 104 % por SPME, mientras que el método de referencia USEPA 503.1 reporta un 94 %; y por último el xileno que por SPME reporta un 100 % de recuperación y por el método de referencia USEPA 503.1 de 85 a 90 %.

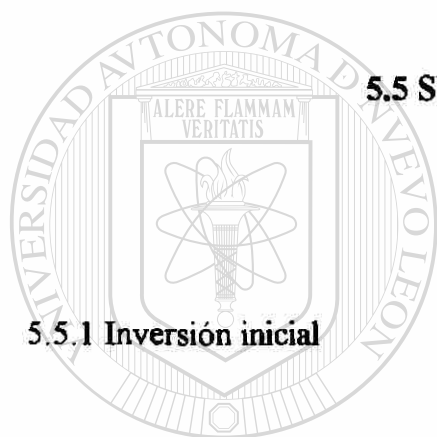
Nuestros porcentajes de recuperación obtenidos por SPME son equiparables a los reportados por los métodos de referencia, para el caso del xileno la SPME mejora el proceso de extracción, esto hace constar que la SPME es un buen método para la extracción de los VOCS, pues al minimizar la manipulación de la muestra, se reduce la pérdida de analito, lo cual se refleja en resultados más altos.

La comparación de los porcentajes de recuperación obtenidos por SPME y los reportados por los métodos de referencia para cada uno de los compuestos se observa en la TABLA XVIII.

TABLA XVIII. Porcentajes de recuperación de los compuestos aromáticos.

Compuestos aromáticos	Recuperación (%)	
	Referencia*	SPME
Benceno	100	98
Tolueno	94	104
Xileno	85 - 90	100

*Método USEPA 503.1.
(Bellar 1989).



5.5 SPME vs. Métodos de Referencia

5.5.1 Inversión inicial

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

La inversión inicial para obtener un equipo de purga y trampa (5 000 dólares aproximadamente) para trabajar los VOCS es bastante alta y representa una desventaja frente a la inversión para obtener un dispositivo de SPME con su juego de 3 fibras (250 dólares aproximadamente) La fibra para SPME es reutilizable, pudiendo llegar hasta las 1 000 inyecciones o más teniendo buen cuidado de ella. Por otro lado, no requiere de conexiones especiales para utilizarse con un cromatógrafo de gases y el tiempo de entrenamiento para el personal que va a realizar el análisis es corto.

5.5.2 Costo de mantenimiento

El sistema de purga y trampa, además de necesitar mantenimiento de rutina, implica un gasto mucho mayor en cuanto al gas acarreador, pues como mencionamos anteriormente ocupa 15 minutos de purga húmeda, 5 minutos de purga seca, 4 minutos de desorción y 10 minutos de limpieza de la trampa (*back flush*); hablando de un flujo promedio de 40 mL/min de gas de purga, se tendría un gasto de 1 400 mL/min de helio para la extracción de los VOCS de cada una de las muestras, y además el gasto de la separación cromatográfica dependiendo del tiempo que dure la misma. A diferencia de la SPME que solo conlleva el gasto de la separación cromatográfica “per se” en nuestro caso, 5 minutos para los compuestos halogenados y 10 minutos para los aromáticos con un flujo de 10 mL/ min.

Habiendo obtenido un tiempo de exposición relativamente muy corto, y teniendo la versatilidad de exponer la fibra un vial tras otro sin tratamientos intermedios, nuestro tiempo de análisis de 15 minutos promedio por muestra depende prácticamente del tiempo que dure la separación cromatográfica, eliminando así los tediosos “tratamientos previos de la muestra”. Por otro lado el sistema de purga y trampa tarda

aproximadamente 35 minutos para completar un ciclo de extracción de una muestra, aunado al tiempo que tarde la separación cromatográfica.

5.5.4 Separación cromatográfica y detectores

La separación cromatográfica es buena para ambos métodos; en cuanto a los detectores, los métodos de referencia hacen uso de detectores (de conductividad electrolítica y fotoionización) cuyo manejo resulta complicado y por lo tanto requieren de un periodo de entrenamiento para el personal, además de que, por ser más costosos, no son de fácil acceso. Por otro lado se utilizó la SPME acoplada a detectores de captura de electrones y ionización de flama, los cuales, son de operación muy sencilla y de fácil acceso pues se encuentran en la mayoría de los laboratorios que cuentan con un cromatógrafo de gases y presentan límites de detección semejantes a los obtenidos por los métodos de referencia.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

La comparación de la SPME con los métodos de referencia se encuentra en la TABLA XIX.

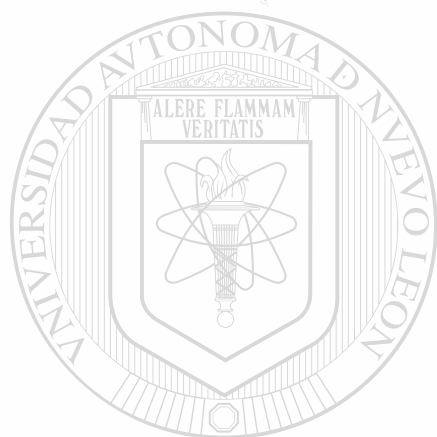
TABLA XIX. Comparación del método de referencia vs. SPME

Extracción	Purga y Trampa	SPME
Inversión inicial	Alta	Baja
Costo de mantenimiento	Alto	Bajo
Tiempo de análisis	Largo	Corto

Separación cromatográfica	Buena	Buena
Operación del Detector	Complicada*	Sencilla**

*Conductividad electrolítica y Fotoionización.

** Captura de electrones y ionización de flama.



UANL

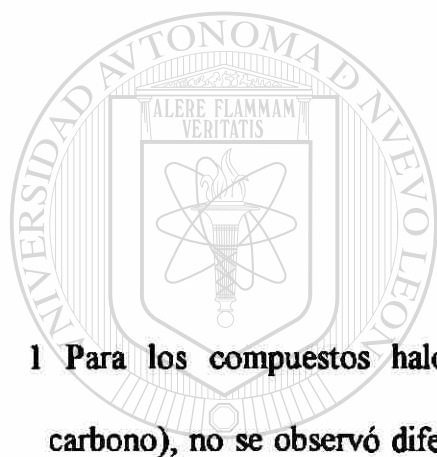
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPITULO 6

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIÓN



6.1 Conclusiones

1 Para los compuestos halogenados (diclorometano, cloroformo y tetracloruro de carbono), no se observó diferencia significativa entre límites de detección y porcentajes

de recuperación obtenidos por el método de SPME y los reportados por el método de referencia. Para los compuestos aromáticos (benceno, tolueno y xileno), no se encontró diferencia significativa entre los porcentajes de recuperación reportados por los métodos de referencia y los obtenidos por SPME.

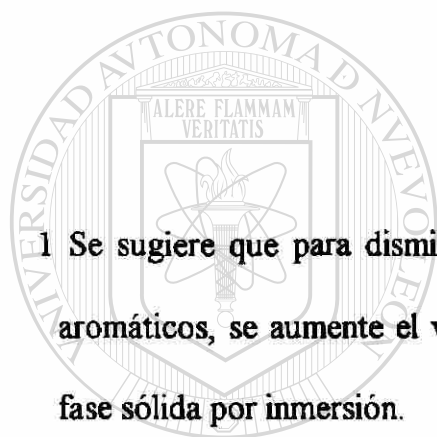
2 El método desarrollado para compuestos orgánicos volátiles halogenados puede ser propuesto como método oficial para el análisis de estos compuestos en agua potable, ya que, sus resultados son similares a los métodos de referencia y con las siguientes ventajas en relación al método de purga y trampa: reduce el tiempo de preparación de la muestra, minimiza la manipulación de la misma y es de bajo costo.

3 El método desarrollado para el análisis de compuestos orgánicos volátiles aromáticos en agua potable, no es adecuado para el análisis de benceno, ya que, el límite de detección encontrado está muy por arriba de la máxima concentración permisible.

4 El método desarrollado para el análisis de compuestos orgánicos volátiles aromáticos en agua potable, sí puede ser aplicado para el análisis de tolueno y xileno.

6.2 Recomendación

1 Se sugiere que para disminuir los límites de detección del método para compuestos aromáticos, se aumente el volumen de la muestra y/o se trabaje la microextracción en fase sólida por inmersión.



BIBLIOGRAFÍA

- APHA-AWWA-WPCF. Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales. Ed. Díaz de Santos, S.A.. Madrid, España 1992. pp. 6-87 a 6-94.
- ATSDR-Public Health Statement. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. ATSDR Atlanta, Georgia 30333, 1989. <http://www.atsdr.cdc.gov>.
- Ayala Cruz M. A. Calidad Físicoquímica y Bacteriológica de un Acuífero de Cadereyta Jiménez Nuevo León. Tesis Facultad de Ingeniería Civil, Universidad Autónoma de Nuevo León, 1996.
- Bellar T.A. Method 502.1 "Volatile Halogenated Organic Compounds in Water by Purge and Trap Gas Chromatography" and Method 503.1 "Volatile Aromatic and Unsaturated Organic Compounds in Water by Purge and Trap Gas Chromatography". Environmental Monitoring Systems Laboratory Office Research and Development. U.S. Environmental Protection Agency. Cincinnati, Ohio 45268, 1989. pp 5-30, 63-87.
- Bonate P. L.. Chromatographic Calibration Revisited. *Journal of Chromatographic Science*, **28**, 559-562.1990
- Budavari Susan, O'Neil Maryadele J., Smith Ann, Heckelman Patricia E.. The Merck Index an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. Published by Merck & CO. INC., USA, 1989. pp 166,276,330,954,1501,1590.
- Camel U., Caude M.. SPE of Organophosphorus Compound from Soil with Capillary G.C.. Analysis. *Journal of Chromatographic Science*. **33**, 123-132. 1995.
- Colunga L. Y., Heyer L..Técnicas Modernas de Extracción. V Congreso Regional de Estudiantes de Química. Sociedad de Química de México, Sección Nuevo León. Monterrey, N.L. 2000.
- EPA Seminar Publication. Risk Assessment, Management and Communication of Drinking Water Contamination. U.S. Environmental Protection Agency. Office of Research and Development Washington DC 20460, 1990. pp. 3-4.
- Fair G.M., Geyer J.C., Okun D.A.. Water Supply and Wastewater Removal. *Water and Wastewater Engineering*, **1**, 1st edition. Jonh Wiley and Son INC, 1990.
- Fernicola Nilda A. G. G. de. Efecto de los Contaminantes sobre el Hombre. *Ecología y Seguridad Química*. 33-37. UNICAMP/ECO/OPS/OMS. Metepec, México, 1987.

- Garrison Arthur W.. Analysis of Organic Compounds in Water to Support Health Effects Studies. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 298, 2-19. USEPA Athens Georgia 30601, 1977.
- Goodman G.A., Rall T.W., Nies A.S., Taylor P.. Las bases farmacológicas de la terapéutica, 8ª edición. Ed. Médica Panamericana S.A., 1991. pp. 1566-1569.
- Heyer L., Tchownowou P. B., Abdelghani A. A.. Evaluación de técnicas de extracción de Compuestos Organoclorados en Tejidos Biológicos. XIII Congreso Nacional de Química Analítica. Campeche, Campeche, 1998.
- Horwitz Abraham. Ingeniería Sanitaria y Ambiental: Importancia de la Planificación en Relación con las necesidades de Salud. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 101(3), 193-203. Panamá, 1986.
- Larousse. Diccionario Enciclopédico 2000. Agrupación Editorial, S.A. Santafé de Bogotá, D.C., Colombia, 2000.
- Lin Denis C. K.. Analysis of Water and Water Pollutants. Applications of Glass Capillary Gas Chromatography, 15, 123,174. Marcell Dekker, INC., Nueva York, 1981.
- Lord Heather L., Pawliszyn Janusz. Recent Advances in Solid-Phase Microextraction. Current Trends and Developments in Sample Preparation; Supplement to LC-GC The Magazine of Separation Science. S41-S46. May, 1998.
- Luna B. Leopold, Kenneth S. Davis. El agua. *Colección científica de Time Life*. Ed. Lito Offset Latina, S.A.. México, D.F., 1974. pp.9-10.
- Manahan Stanley E.. Toxicological Chemistry, 2nd edition. Lewis Publishers INC. Michigan, 1992. pp. 318-321, 365-368.
- Mani Venkatachalam, Woolley Cole. Solid-Phase Microextraction and Chiral Gas Chromatography Separations. *LC-GC The Magazine of Separation Science*. 13 (9), 734-740. September 1995.
- Michael L. C., Pellizarl E. P.. Development and Evaluation of a Procedure for Determining Volatile Organics in Water. *Environmental Science Thecnology*, 22, (5), 565-570.
- Miller J.C., Miller J.N.. Estadística para Química Analítica. Ed. Addison-Wesley Iberoamericana. EUA, 1993. pp. 96-98.
- Perkin Elmer. Japanese Standard Headspace Method for Analysis of VOCs in Water. Application Notes. Perkin Elmer Corporation, Norwalk CT. USA, 1994.

Skoog Douglas A., Leary James J.. Análisis Instrumental. Ed. McGraw-Hill. España, 1994. pp. 7-9.

Somers E.. Agentes Físicos y Químicos y Riesgo Carcinogénico. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 90(6), 478-493.

Supelco. The Supelco Guide to Solid Phase Extraction. Supelco INC.. Bellafonte P.A., 1986.

Swartz Michael E., Krull Ira S.. Analytical Method Development and Validation. Marcel Dekker, INC.. USA, 1997. pp 56-65

Tebbutt T.H.Y.. Principles of Water Quality Control, 4th edition. Pergamon Press. B, 1992. pp 1-2, 11-19.

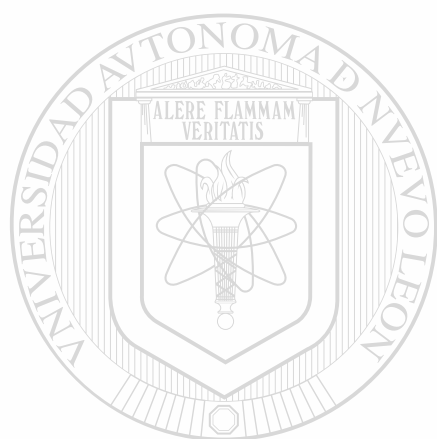
Treviño Flores N.N., Memorias del curso "Estrategias de Optimación", Sociedad de Química de México Sección Nuevo León, Febrero de 1999. pp. 3, 46-50.

Quattrocchi O.A., Abelaira de A.S.I., Laba R.F.. Introducción a la HPLC Aplicación y Práctica. Artes Gráficas Farro S.A.. Buenos Aires, 1992. pp. 312-323.

U.S.E.P.A. Method 5030: Purge and Trap and Method 8000A: Gas chromatography. Test Methods for Evaluating Solid Waste: Physical/Chemical Methods (SW-846), 3rd edition with updates III, 1995. U. S. Environmental Protection Agency. Office of Emergency Response, Washington, D.C., 1986.

Weiss G.. Hazardous Chemicals Data Book. NOYES Data Corporation. New Jersey, USA, 1986. pp. 152,245,261,362,967,1023-1025.

Yang Xiaogen, Peppard Terry. Solid-Phase Microextraction of Flavor Compounds – A Comparison of Two Fiber Coatings and Discussion of the Rules of Thumb for Adsorption. *LC-GC The Magazine of Separation Science*. 13 (11), 882-886. November, 1995.



ANEXOS
UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ANEXO A

MÉTODOS DE REFERENCIA

502.1 “Compuestos orgánicos volátiles halogenados en agua por cromatografía de gases de purga y trampa” y 503.1 “Compuestos orgánicos volátiles aromáticos e insaturados en agua por cromatografía de gases de purga y trampa”, de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos.

I Preparación de soluciones Stock para compuestos halogenados y aromáticos.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

1 Colocar en un matraz de aforación de 10 mL, 9,8 mL de metanol, permitir que las paredes del matraz se sequen completamente, y pesar el matraz en la balanza analítica.

2 Agregar, con una jeringa de 100 μL , 2 ó más gotas del solvente al matraz, cuidando que las gotas caigan directamente al metanol sin tocar el cuello del matraz (peso aproximado de las gotas 0,1 mg). Obtener el peso del matraz más las gotas.

3 Aforar el matraz y mezclarlo por inversión varias veces.

4 Calcular la concentración del stock en $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ por el peso neto ganado. Cuando la pureza del compuesto es de 96 % o más, el peso puede ser usado sin corrección para calcular la concentración del stock como sigue:

$$[(\text{peso de la gota en mg}) (1 \text{ mL})] / 10 \text{ mL} = \mu\text{g}/\mu\text{L} \text{ del Stock.}$$

II Preparación de soluciones estándar para compuestos halogenados y aromáticos.

El número de estándares de calibración a preparar, dependerá de los requerimientos de resolución y calibración en el rango designado. Un mínimo de tres soluciones de calibración se requieren para calibrar un rango de un factor de 20 en concentración. Para un factor de 50 se usa un mínimo de 4 estándares y para un factor de 100, un mínimo de 5 estándares.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

El estándar de concentración más baja de la curva de calibración, debe contener los analitos a una concentración 2 a 10 veces el límite de detección del método para cada compuesto. El resto de los estándares, deberá contener los analitos en concentraciones que definan el rango de las concentraciones del analito en la muestra.

Procedimiento:

1 Tomar el estándar cuidadosamente del frasco que la contiene con ayuda de una jeringa

con válvula, cerrar la válvula, invertir la jeringa y comprimir la solución presionando el émbolo.

2 Abrir la válvula y dejar salir cualquier residuo de aire mientras se ajusta el volumen del contenido a 5 mL.

3 Unir la válvula de la jeringa, a la válvula del dispositivo de purga, asegurándose que la trampa este a menos de 25 °C. (Sólo entonces, deberá inyectarse a la cámara de purgado).

4 Inyectar el estándar en la cámara de purgado donde permanecerá por 11 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente dejar secar la trampa al menos 4 minutos con el flujo del gas.

5 Conectar la trampa al cromatógrafo de gases ajustando el sistema de purga y trampa para la desorción de los analitos por un calentamiento rápido de la trampa a 180 °C, mientras se hace pasar un gas inerte a través de ella con un flujo entre 20 y 60 mL/min. durante 4 minutos. Los materiales atrapados son llevados a la columna del cromatógrafo.

III Condiciones cromatográficas

A) VOCS halogenados

Se utilizan las condiciones descritas en el método 502.1 de la USEPA, en el cual, se emplea una columna empacada con 1 % de SP-1000 sobre malla 60/80 carbopack-B de 1,5 a 2,5 m de longitud con 0,1 pulgadas de diámetro interno y helio como gas acarreador con un flujo de 40 mL/min. La columna permanece inicialmente a 45 °C por 3 min., posteriormente un aumento de 8 °C/min. hasta alcanzar 220 °C para permanecer así por 15 min. o hasta que todos los compuestos esperados hayan eluido

Las condiciones para el detector de conductividad electrolítica son: tubo reactor de níquel de 1/16 de diámetro externo a una temperatura de 810 °C, la temperatura base del reactor en 250 °C, como electrolito 100 % de n-propil alcohol con un flujo de 0,8 mL/min., como gas de reacción hidrógeno con un flujo de 40 mL/min. y como gas acarreador helio a 40 mL/min.

B) VOCS aromáticos.

Se utilizan las condiciones descritas en el método 503.1 de la USEPA, en el cual, se emplea una columna de 1,5 a 2,5 m x 0,1 pulgadas de diámetro interno, de acero inoxidable o vidrio, empacada con 5 % SP-1200 / 1,75 % Bentone 34, 100/120 Supelcoport. La temperatura de la columna inicia con 50 °C por 2 min., luego un aumento de 3 °C/min hasta 110 °C y permanece así hasta que todos los componentes hayan eluido. Cuando no está en uso la columna se mantiene a 110 °C. El detector

empleado es de fotoionización de flama.

IV Identificación

Tanto las muestras como los estándares deberán analizarse bajo condiciones idénticas para obtener datos exactos.

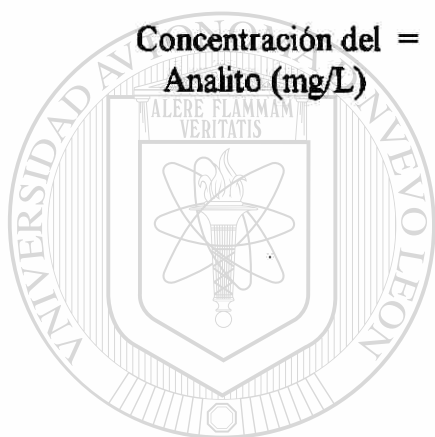
La identificación de cada analito se realiza por tiempos de retención absolutos, comparando los tiempos de retención de los picos que aparecen en el cromatograma de la muestra, contra los tiempos de retención generados por los estándares de calibración. Cuando los tiempos de retención de los picos incógnito caen dentro de la tercera desviación estándar de los picos conocidos, la identificación es positiva. Si no cae dentro de este rango, la identificación definitiva puede darse con la ayuda de un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas como detector.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

V Cuantificación

El método empleado para la determinación cuantitativa de los analitos es el de estándar externo, éste se lleva a cabo realizando una curva de calibración, o bien, comparando el área o altura del pico del analito contra el área o altura del pico del estándar de concentración conocida de la siguiente manera:

$$\text{Concentración del Analito (mg/L)} = \frac{\text{Altura del pico de la muestra}}{\text{Altura del pico del Estándar}} \times \text{Concentración del Estándar (mg/L)}$$



UANL

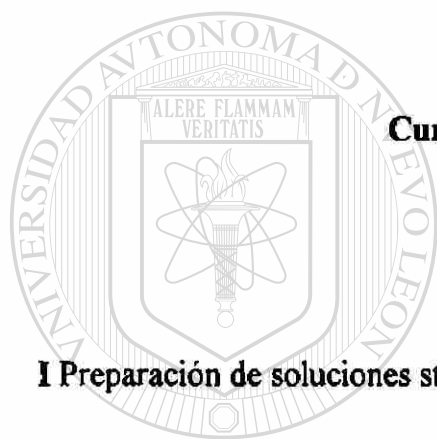
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ANEXO B

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES PARA VOCS HALOGENADOS



Curva de calibración por inyección

I Preparación de soluciones stock

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

Para cada uno de los compuestos a analizar, se prepara un stock de 1000 $\mu\text{g/mL}$ en metanol grado pesticida de acuerdo al siguiente procedimiento.

- 1 Llenar un matraz de aforación de 10 mL hasta la mitad con metanol grado pesticida, y obtener su peso empleando una balanza analítica.
- 2 Con la ayuda de una pipeta Pasteur, dejar caer en el metanol una gota del solvente para el cual será el stock y obtener el peso de la gota, que resulta aproximadamente de

0,01g.

3 Aforar el matraz con metanol grado pesticida y agitar.

4 Obtener la concentración real de la solución Stock con el peso de la gota, que teóricamente corresponde a 0,01 g en 10 mL, es decir 1000 µg/mL.

$$[(\text{peso de la gota en } \mu\text{g}) (1 \text{ mL})] / 10 \text{ mL} = \text{concentración del Stock en } \mu\text{g/mL}$$

II Preparación de soluciones estándar

Para realizar la curva de calibración se requiere de dos soluciones de trabajo consistentes en soluciones estándar que contengan 100 ng/mL y 10 ng/mL de cada uno de los siguientes compuestos diclorometano, cloroformo y tetracloruro de carbono[®] respectivamente, las cuales se preparan de la siguiente forma:

1 Colocar en un matraz de aforación de 10 mL, 1 mL del stock de diclorometano de 1000 µg/mL, 1 mL del stock de cloroformo de 1000 µg/mL y 1 mL del stock de tetracloruro de carbono de 1000 µg/mL.

2 Aforar el matraz con metanol grado pesticida y agitar. Esta solución contiene 100 µg/mL de cada uno de los tres solventes empleados en la mezcla.

3 Colocar 1 mL de la solución estándar de 100 $\mu\text{g/mL}$ y agregar 9 mL de metanol grado pesticida para obtener una solución estándar con 10 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano, 10 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 10 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono.

4 Colocar 1 mL de la solución estándar mezcla de 10 $\mu\text{g/mL}$ y agregar 9 mL de metanol grado pesticida para obtener una solución estándar con 1 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano, 1 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 1 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono.

5 Colocar 2 mL de la solución estándar de 1 $\mu\text{g/mL}$ y agregar 18 mL de metanol grado pesticida para obtener una solución estándar mezcla con 100 ng/mL de diclorometano, 100 ng/mL de cloroformo y 100 ng/mL de tetracloruro de carbono. Solución de trabajo 1.

6 Colocar 1 mL de la solución de trabajo 1 y agregar 9 mL de metanol grado pesticida para obtener una solución estándar con 10 ng/mL de diclorometano, 10 ng/mL de cloroformo y 10 ng/mL de tetracloruro de carbono. Solución de trabajo 2.

III Curva de calibración

1 Colocar 2,5 mL del estándar de 10 ng/mL (solución de trabajo 2) en un matraz de 5 mL, aforar con metanol grado pesticida y agitar para obtener el estándar de 5 ng/mL.

2 Colocar 1 mL del estándar de 100 ng/mL (solución de trabajo 1) en un matraz de 5 mL, aforar con metanol grado pesticida y agitar para obtener el estándar de 20 ng/mL.

3 Colocar 2 mL del estándar de 100 ng/mL (solución de trabajo 1) en un matraz de 5 mL, aforar con metanol grado pesticida y agitar para obtener el estándar de 40 ng/mL.

4 Colocar 3 mL del estándar de 100 ng/mL (solución de trabajo 1) en un matraz de 5 mL, aforar con metanol grado pesticida y agitar para obtener el estándar de 60 ng/mL.

5 Colocar 4 mL del estándar de 100 ng/mL (solución de trabajo 1) en un matraz de 5 mL, aforar con metanol grado pesticida y agitar para obtener el estándar de 80 ng/mL.

Nota: La inyección de los estándares de 10 y 100 ng/mL puede realizarse en forma directa a partir de los respectivos estándares (soluciones de trabajo 1 y 2).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Curva de calibración por SPME

I Preparación de soluciones stock

Para cada uno de los compuestos a analizar, se prepara un stock de 1000 $\mu\text{g/mL}$ en metanol grado pesticida.

1 Llenar un matraz de aforación de 10 mL hasta la mitad con metanol grado pesticida, y obtener su peso empleando una balanza analítica.

2 Con la ayuda de una pipeta Pasteur, dejar caer en el metanol una gota del solvente para el cual será el stock y obtener el peso de la gota, que resulta aproximadamente de 0,01g.

3 Aforar el matraz con metanol grado pesticida y agitar.

4 Obtener la concentración real de la solución Stock con el peso de la gota, que teóricamente corresponde a 0,01 g. en 10 mL., es decir 1000 µg/mL.

$$[(\text{peso de la gota en } \mu\text{g}) (1 \text{ mL})] / 10 \text{ mL} = \text{Concentración del Stock en } \mu\text{g/mL}$$

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

II Preparación de soluciones estándar

Para realizar la curva de calibración se requiere de un estándar que contenga 1 µg/mL de diclorometano, 0,1 µg/mL de cloroformo y 0,001 µg/mL de tetracloruro de carbono en metanol grado pesticida.

A) Tetracloruro de carbono

Se realizan diluciones seriadas 1:10 a partir de la solución stock de 1000 $\mu\text{g/mL}$. de tetracloruro de carbono:

1 Agregar 0,5 mL del stock de 1000 $\mu\text{g/mL}$ a 4,5 mL de metanol grado pesticida para obtener una solución de 100 $\mu\text{g/mL}$.

2 Agregar 0,5 mL de la solución de 100 $\mu\text{g/mL}$ a 4,5 mL de metanol grado pesticida para obtener una solución de 10 $\mu\text{g/mL}$.

3 Agregar 0,5 mL de la solución de 10 $\mu\text{g/mL}$ a 4,5 mL de metanol grado pesticida para obtener una solución de 1 $\mu\text{g/mL}$.

B) Cloroformo

Se realiza una dilución 1:10 a partir del stock de 1000 $\mu\text{g/mL}$. Para ello, se agregan 0,5 mL del stock de 1000 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo a 4,5 mL de metanol grado pesticida para obtener una solución de 100 $\mu\text{g/mL}$.

C) Estándar de trabajo

Se lleva a cabo la combinación de los siguientes estándares, 1 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono, 100 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 1000 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano de la siguiente manera:

- 1 Colocar en un matraz de aforación de 5 mL., 0,5 mL del stock de 1000 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano en metanol, 0,5 mL de la solución de 100 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo en metanol y 0,5 mL de la solución de 1 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono en metanol, y aforar con metanol grado pesticida, obteniendo una concentración final de 100 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano, 10 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 0,1 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono en metanol.

- 2 Agregar 0,5 mL de la solución que contiene 100 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano, 10 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 0,1 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono, a 4,5 mL de metanol para obtener una solución de 10 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano, 1 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 0,01 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono.

- 3 Agregar 0,5 mL de la solución que contiene 10 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano, 1 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 0,01 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono, a 4,5 mL de metanol para obtener una solución de 1 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano, 0,1 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 0,001 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono.

III Curva de Calibración

Con el estándar de 1 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano, 0,1 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 0,001 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono en metanol grado pesticida, se prepararán los

estándares en agua tipo I para la curva de calibración.

1 Colocar 5 mL de agua tipo I en un vial y agregar 10 μL del estándar de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de diclorometano, 0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de cloroformo y 0,001 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de tetracloruro de carbono en metanol, para obtener una concentración final de 2 ng/mL de diclorometano, 0,2 ng/mL de cloroformo y 0,002 ng/mL de tetracloruro de carbono.

2 Colocar 5 mL de agua tipo I en un vial y agregar 20 μL del estándar de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de diclorometano, 0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de cloroformo y 0,001 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de tetracloruro de carbono en metanol, para obtener una concentración final de 4 ng/mL de diclorometano, 0,4 ng/mL de cloroformo y 0,004 ng/mL de tetracloruro de carbono.

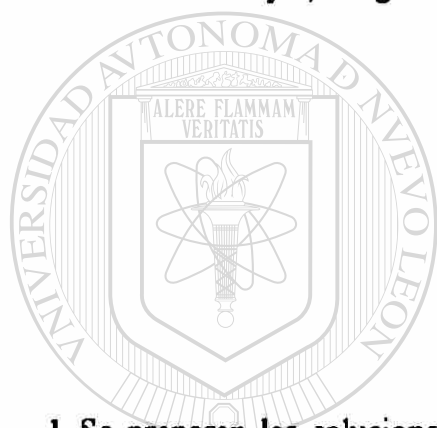
3 Colocar 5 mL de agua tipo I en un vial y agregar 40 μL del estándar de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de diclorometano, 0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de cloroformo y 0,001 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de tetracloruro de carbono en metanol, para obtener una concentración final de 8 ng/mL de diclorometano, 0,8 ng/mL de cloroformo y 0,008 ng/mL de tetracloruro de carbono.

4 Colocar 5 mL de agua tipo I en un vial y agregar 60 μL del estándar de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de diclorometano, 0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de cloroformo y 0,001 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de tetracloruro de carbono en metanol, para obtener una concentración final de 12 ng/mL de diclorometano, 1,2 ng/mL de cloroformo y 0,012 ng/mL de tetracloruro de carbono.

5 Colocar 5 mL de agua tipo I en un vial y agregar 80 μL del estándar de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de

diclorometano, 0,1 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 0,001 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono en metanol, para obtener una concentración final de 16 ng/mL de diclorometano, 1,6 ng/mL de cloroformo y 0,016 ng/mL de tetracloruro de carbono.

6 Colocar 5 mL de agua tipo I en un vial y agregar 100 μL del estándar de 1 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano, 0,1 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 0,001 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono en metanol, para obtener una concentración final de 20 ng/mL de diclorometano, 2 ng/mL de cloroformo y 0,02 ng/mL de tetracloruro de carbono.



Optimación

1 Se preparan las soluciones stock, y los estándares hasta obtener el estándar de: 10 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano, 1 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 0,01 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono en metanol, como se indicó anteriormente.

2 Colocar 5 mL de agua tipo I en un vial y agregar 40 μL del estándar de 10 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano, 1 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 0,01 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono en metanol, para obtener una concentración final de 80 ng/mL de diclorometano, 8 ng/mL de cloroformo y 0,08 ng/mL de tetracloruro de carbono.

Precisión, recuperación y estabilidad

I Preparación de la solución de trabajo

1 Colocar agua tipo I en un matraz de 100 mL llenándolo hasta la mitad aproximadamente.

2 Agregar 0,5 mL del estándar con 1 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano, 0,1 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 0,001 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono.

3 Aforar el matraz con agua tipo I para obtener una solución con 5 ng/mL de diclorometano, 0,5 ng/mL de cloroformo y 0,005 ng/mL de tetracloruro de carbono.

Dejar reposar la solución por 1 h.

II Prueba de precisión

Llenar 5 viales, cada uno con 5 mL de la solución preparada. Tapar inmediatamente y dejar reposar 10 minutos para alcanzar el equilibrio con el *head space*. Inyectarlos al cromatógrafo de gases consecutivamente empleando la SPME.

III Prueba de recuperación

Llenar 3 viales con 5 mL cada uno de la solución de trabajo y agregar 12,5 μL del estándar de 1 $\mu\text{g/mL}$ de diclorometano, 0,1 $\mu\text{g/mL}$ de cloroformo y 0,001 $\mu\text{g/mL}$ de tetracloruro de carbono, para obtener una solución de 7,5 ng/mL de diclorometano, 0,75 ng/mL de cloroformo y 0,0075 ng/mL de tetracloruro de carbono. Tapar inmediatamente y agitar en el vortex por 10 segundos. Dejar reposar 10 minutos hasta alcanzar el equilibrio entre ambas fases, e inyectar al cromatógrafo de gases empleando SPME.

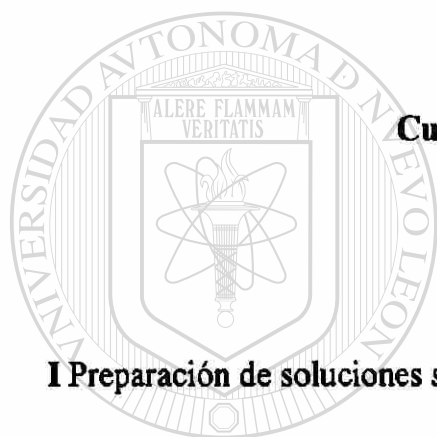
IV Prueba de estabilidad

Llenar 6 viales con 5 mL cada uno, de la solución de trabajo y almacenarlos a 4 °C en refrigeración para inyectarlos: 2 a las 24 h., 2 a las 48 h., y 2 a las 72 h. Junto con los 6[®] viales, almacenar 3 viales con 5 mL cada uno de agua tipo I como blancos.

NOTA: Para las soluciones de compuestos halogenados se emplea el detector de captura de electrones.

ANEXO C

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES PARA VOCS AROMÁTICOS



Curva de calibración por Inyección

I Preparación de soluciones stock

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

Para cada uno de los compuestos a analizar, se prepara un stock de 1000 $\mu\text{g/mL}$ en metanol grado pesticida de acuerdo al siguiente procedimiento:

- 1 Llenar un matraz de aforación de 10 mL hasta la mitad con metanol grado pesticida, y obtener su peso empleando una balanza analítica.
- 2 Con la ayuda de una pipeta Pasteur, dejar caer en el metanol una gota del solvente para el cual será el stock y obtener el peso de la gota, que resulta aproximadamente de

0,01g.

3 Aforar el matraz con metanol grado pesticida y agitar.

4 Obtener la concentración real de la solución Stock con el peso de la gota, que teóricamente corresponde a 0,01 g. en 10 mL., es decir 1000 µg/mL. Se trabaja igual para el stock de cada uno de los tres solventes.

$$[(\text{peso de la gota en } \mu\text{g}) (1 \text{ mL})] / 10 \text{ mL} = \text{Concentración del Stock en } \mu\text{g/mL}$$

II Preparación de soluciones estándar

A) Solución de trabajo 1

Para realizar la curva de calibración se requiere de un estándar que contenga 100 µg/mL de benceno, 100 µg/mL de tolueno y 100 µg/mL de xileno en metanol grado pesticida, la cual se prepara como sigue:

1 Colocar en un matraz de aforación de 25 mL, 2,5 mL del stock de benceno de 1000 µg/mL, 2,5 mL del stock de tolueno de 1000 µg/mL y 2,5 mL del stock de xileno de 1000 µg/mL.

2 Aforar el matraz con metanol grado pesticida y agitar. Esta solución contiene 100

$\mu\text{g/mL}$ de cada uno de los tres solventes empleados.

B) Solución de trabajo 2

Para realizar la curva de calibración, también se requiere de un estándar que contenga $200 \mu\text{g/mL}$ de benceno, $200 \mu\text{g/mL}$ de tolueno y $200 \mu\text{g/mL}$ de xileno en metanol grado pesticida, el cual se prepara como sigue:

1 Colocar en un matraz de aforación de 5 mL, 1 mL del stock de benceno de $1000 \mu\text{g/mL}$, 1 mL del stock de tolueno de $1000 \mu\text{g/mL}$ y 1 mL del stock de xileno de $1000 \mu\text{g/mL}$.

2 Aforar el matraz con metanol grado pesticida y agitar. Esta solución contiene $200 \mu\text{g/mL}$ de cada uno de los tres solventes empleados.

III Curva de Calibración

1 Colocar $0,5 \text{ mL}$ del estándar de $100 \mu\text{g/mL}$ (solución de trabajo 1) en un matraz de 10 mL , aforar con metanol grado pesticida y agitar para obtener el estándar de $5 \mu\text{g/mL}$.

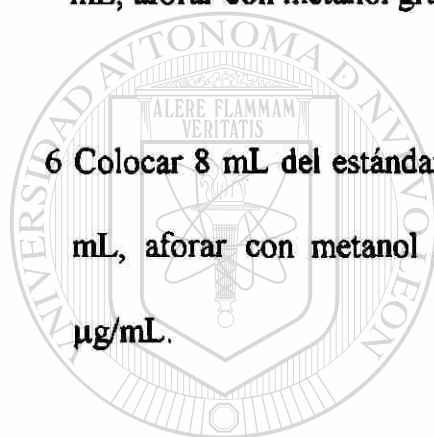
2 Colocar 1 mL del estándar de $100 \mu\text{g/mL}$ (solución de trabajo 1) en un matraz de 10 mL , aforar con metanol grado pesticida y agitar para obtener el estándar de $10 \mu\text{g/mL}$.

3 Colocar 2 mL del estándar de 100 $\mu\text{g/mL}$ (solución de trabajo 1) en un matraz de 10 mL, aforar con metanol grado pesticida y agitar para obtener el estándar de 20 $\mu\text{g/mL}$.

4 Colocar 4 mL del estándar de 100 $\mu\text{g/mL}$ (solución de trabajo 1) en un matraz de 10 mL, aforar con metanol grado pesticida y agitar para obtener el estándar de 40 $\mu\text{g/mL}$.

5 Colocar 8 mL del estándar de 100 $\mu\text{g/mL}$ (solución de trabajo 1) en un matraz de 10 mL, aforar con metanol grado pesticida y agitar para obtener el estándar de 80 $\mu\text{g/mL}$.

6 Colocar 8 mL del estándar de 200 $\mu\text{g/mL}$ (solución de trabajo 2) en un matraz de 10 mL, aforar con metanol grado pesticida y agitar para obtener el estándar de 160 $\mu\text{g/mL}$.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Curva de calibración por SPME

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

I Preparación de soluciones stock

Para cada uno de los compuestos a analizar, se prepara un stock de 1000 $\mu\text{g/mL}$ en metanol grado pesticida.

1 Llenar un matraz de aforación de 10 mL hasta la mitad con metanol grado pesticida, y obtener su peso empleando una balanza analítica.

2 Con la ayuda de una pipeta Pasteur, dejar caer en el metanol una gota del solvente para el cual será el stock y obtener el peso de la gota, que resulta aproximadamente de 0,01g.

3 Aforar el matraz con metanol grado pesticida y agitar.

4 Obtener la concentración real de la solución Stock con el peso de la gota, que teóricamente corresponde a 0,01 g. en 10 mL., es decir 1000 µg/mL. Se trabaja igual para el stock de cada uno de los tres solventes:

$$\text{---} \frac{[(\text{peso de la gota en } \mu\text{g}) (1 \text{ mL})]}{10 \text{ mL}} = \text{Concentración del Stock en } \mu\text{g/mL}$$

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

II Preparación de soluciones estándar

A) Solución de trabajo 1

Para realizar la curva de calibración se requiere de un estándar que contenga 100 µg/mL de benceno, 100 µg/mL de tolueno y 100 µg/mL de xileno en metanol grado pesticida, el cual se prepara como sigue:

- 1 Colocar en un matraz de aforación de 25 mL, 2,5 mL del stock de benceno de 1000 $\mu\text{g/mL}$, 2,5 mL del stock de tolueno de 1000 $\mu\text{g/mL}$ y 2,5 mL del stock de xileno de 1000 $\mu\text{g/mL}$.
- 2 Aforar el matraz con metanol grado pesticida y agitar. Esta solución contiene 100 $\mu\text{g/mL}$ de cada uno de los tres solventes empleados en la mezcla.

B) Solución de trabajo 2.

Para realizar la curva de calibración, también se requiere de un estándar que contenga 10 $\mu\text{g/mL}$ de benceno, 10 $\mu\text{g/mL}$ de tolueno y 10 $\mu\text{g/mL}$ de xileno en metanol grado pesticida. A partir de la solución de trabajo 1 que contiene 100 $\mu\text{g/mL}$ de benceno, tolueno y xileno, se realiza una dilución 1:10 de la siguiente manera:

- 1 Tomar con ayuda de una pipeta lineal 0,5 mL de la solución de trabajo 1 y agregar 4,5 mL de metanol grado pesticida, para obtener una solución de 10 $\mu\text{g/mL}$ de benceno, tolueno y xileno.

III Curva de Calibración.

Los estándares para la curva de calibración se preparan en agua tipo I.

- 1 Colocar 5 mL de agua tipo I en un vial y agregar 50 μL del estándar de 10 $\mu\text{g/mL}$ de

benceno, tolueno y xileno en metanol grado pesticida (solución de trabajo 2), para obtener una concentración final de 100 ng/mL de benceno, tolueno y xileno.

2 Colocar 5 mL de agua tipo I en un vial y agregar 10 μ L del estándar de 100 μ g/mL de benceno, tolueno y xileno en metanol grado pesticida (solución de trabajo 1), para obtener una concentración final de 200 ng/mL de benceno, tolueno y xileno.

3 Colocar 5 mL de agua tipo I en un vial y agregar 20 μ L del estándar de 100 μ g/mL de benceno, tolueno y xileno en metanol grado pesticida (solución de trabajo 1), para obtener una concentración final de 400 ng/mL de benceno, tolueno y xileno.

4 Colocar 5 mL de agua tipo I en un vial y agregar 30 μ L del estándar de 100 μ g/mL de benceno, tolueno y xileno en metanol grado pesticida (solución de trabajo 1), para obtener una concentración final de 600 ng/mL de benceno, tolueno y xileno.

5 Colocar 5 mL de agua tipo I en un vial y agregar 40 μ L del estándar de 100 μ g/mL de benceno, tolueno y xileno en metanol grado pesticida (solución de trabajo 1), para obtener una concentración final de 800 ng/mL de benceno, tolueno y xileno.

6 Colocar 5 mL de agua tipo I en un vial y agregar 50 μ L del estándar de 100 μ g/mL de benceno, tolueno y xileno en metanol grado pesticida (solución de trabajo 1), para obtener una concentración final de 1000 ng/mL de benceno, tolueno y xileno.

7 Colocar 5 mL de agua tipo I en un vial y agregar 60 μL del estándar de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de benceno, tolueno y xileno en metanol grado pesticida (solución de trabajo 1), para obtener una concentración final de 1200 ng/mL de benceno, tolueno y xileno.

Optimación

1 Preparar las soluciones stock y la solución de trabajo 2 tal como se indicó para la curva de calibración por SPME.

2 Colocar 5 mL de agua tipo I en un vial y agregar 100 μL del estándar de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de benceno, tolueno y xileno en metanol grado pesticida (solución de trabajo 2), para obtener una concentración final de 200 ng/mL de benceno, tolueno y xileno.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Precisión, recuperación y estabilidad

I Preparación de la solución de trabajo

1 Colocar agua tipo I en un matraz de 100 mL llenándolo hasta la mitad aproximadamente.

2 Agregar 0,5 mL del estándar de 100 $\mu\text{g/mL}$ de benceno, 100 $\mu\text{g/mL}$ de tolueno y 100 $\mu\text{g/mL}$ de xileno.

3 Aforar el matraz con agua tipo I para obtener una solución de concentración de 500 ng/mL de benceno, 500 ng/mL de tolueno y 500 ng/mL de xileno. Dejar reposar la solución por 1 h.

II Prueba de precisión.

Llenar 5 viales con 5 mL de la solución de trabajo cada uno. Tapar inmediatamente y dejar reposar 10 minutos para alcanzar el equilibrio con el *head space*. Inyectarlos al cromatógrafo de gases consecutivamente empleando la SPME.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



III Prueba de recuperación

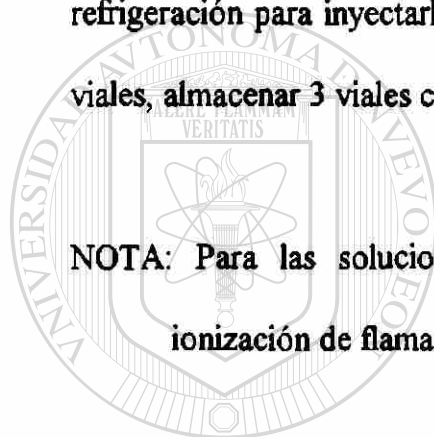
Llenar 3 viales con 5 mL cada uno de la solución de trabajo y agregar 12,5 μL del estándar de 100 $\mu\text{g/mL}$ de benceno, 100 $\mu\text{g/mL}$ de tolueno y 100 $\mu\text{g/mL}$ de xileno, para obtener una solución de 750 ng/mL de benceno, 750 ng/mL de tolueno y 750 ng/mL de xileno. Tapar inmediatamente y agitar en el vortex por 10 segundos. Dejar reposar 10

minutos hasta alcanzar el equilibrio entre ambas fases, e inyectar al cromatógrafo de gases empleando SPME.

IV Prueba de estabilidad

Llenar 6 viales con 5 mL cada uno, de la solución de trabajo y almacenarlos a 4 °C en refrigeración para inyectarlos: 2 a las 24 h., 2 a las 48 h., y 2 a las 72 h. Junto con los 6 viales, almacenar 3 viales con 5 mL cada uno de agua tipo I como blancos.

NOTA: Para las soluciones de compuestos aromáticos se emplea el detector de ionización de flama.

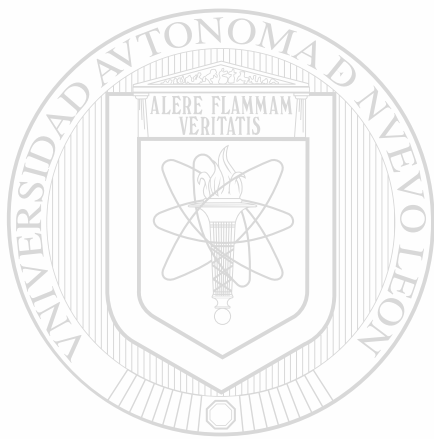


UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



