

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA



EVALUACIÓN DE FENOL Y CLOROFENOLES EN AGUA PURIFICADA

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS

Presenta

*MCQ. EUGENIA GABRIELA
CARRILLO CEDILLO*

Tijuana Baja California

Diciembre de 2008

Universidad Autónoma de Baja California
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
COORDINACIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

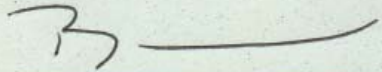
FOLIO No. 010

Tijuana, B. C., a 04 de noviembre de 2008

C. EUGENIA GABRIELA CARRILLO CEDILLO
Pasante de: Doctor en Ciencias
Presente

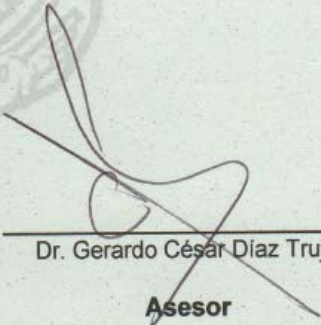
El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción TESIS
Es propuesto, por el C. Dr. Gerardo Cesar Díaz Trujillo
quien será el responsable de la calidad de trabajo que usted presente, referido al
tema EVALUACIÓN DE FENOL Y CLOROFENOLES EN AGUA PURIFICADA
el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I.- INTRODUCCIÓN
- II.- ANTECEDENTES
- III.- JUSTIFICACIÓN
- IV.- OBJETIVOS Y METAS
- V.- DESARROLLO EXPERIMENTAL
- VI.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN
- VII.- CONCLUSIONES
- VIII.- FUTURAS INVESTIGACIONES
- IX.- REFERENCIAS

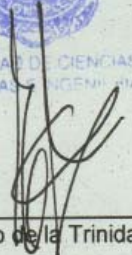

MC. Rubén Guillermo Sepúlveda Marqués

Sub-Director Secretario




Dr. Gerardo César Díaz Trujillo

Asesor


MC. Eduardo Raymundo de la Trinidad Reyes Rodríguez

Director

CONTENIDO

Agradecimientos.....	i
Dedicatoria.....	ii
Abreviaturas.....	iii
Lista de figuras.....	iv
Lista de tablas.....	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	01
2. ANTECEDENTES.....	02
2.1 FENOLES.....	02
2.1.1 <i>Características generales y estructuras</i>	02
2.1.2 <i>Descripción y propiedades físicas</i>	05
2.1.3 <i>Reactividad y persistencia</i>	06
2.1.4 <i>Toxicidad</i>	08
2.1.5 <i>Aplicaciones</i>	11
2.2 NORMATIVIDAD Y LEGISLACIÓN SOBRE EL CONTENIDO DE FENOLES EN AGUA.....	18
2.2.1 <i>Regulación en México</i>	18
2.2.2 <i>Regulación en Estados Unidos</i>	19
2.2.3 <i>Regulación en la Comunidad Europea</i>	19
2.3 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y PRECONCENTRACIÓN DE FENOLES.....	20
2.3.1 <i>Métodos de extracción</i>	20
2.3.2 <i>Fases móviles utilizadas en el análisis de fenoles</i>	27

2.4	REVISIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE FENOLES.....	28
2.4.1	<i>Métodos espectrofotométricos.....</i>	28
2.4.2	<i>Métodos cromatográficos</i>	30
2.4.3	<i>Métodos de análisis en flujo con preconcentración.....</i>	31
2.5	ADICIÓN DE PATRÓN.....	35
3	JUSTIFICACIÓN.....	37
4	OBJETIVOS Y METAS.....	41
4.1	Objetivo general.....	41
4.2	Objetivos específicos.....	41
4.3	Metas.....	42
5	DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	43
5.1	EQUIPO, MATERIALES REACTIVOS Y DISOLUCIONES.....	43
5.1.1	<i>Equipo y material.....</i>	43
5.1.2	<i>Reactivos y disoluciones.....</i>	44
5.2	METODOLOGÍA.....	45
5.2.1	<i>Preparación de derivados fluorescentes.....</i>	45
5.2.2	<i>Método espectrofotométrico de la 4-aminoantipirina.....</i>	46
5.2.3	<i>Método espectrofotométrico propuesto por Chunli Kang et al., (2000).....</i>	48
5.2.4	<i>Método espectrofotométrico modificado propuesto en esta tesis.....</i>	49
5.2.5	<i>Puntos de muestreo.....</i>	50

6	RESULTADOS Y DISCUSION.....	52
6.1	ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA.....	52
6.1.1	<i>Espectros de fluorescencia de los compuestos fenólicos puros....</i>	<i>52</i>
6.1.2	<i>Espectros de fluorescencia de los derivados fenólicos dansilados.....</i>	<i>55</i>
6.2	SEPARACION CROMATOGRAFICA POR CLAR.....	60
6.2.1	<i>Identificación cromatográfica de los compuestos fenólicos puros.....</i>	<i>60</i>
6.2.2	<i>Identificación cromatográfica de compuestos puros en una mezcla.....</i>	<i>64</i>
6.2.3	<i>Identificación cromatográfica de derivados fenólicos dansilados en una mezcla.....</i>	<i>70</i>
6.3	ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN UV – VIS.....	72
6.3.1	<i>Determinación de los espectros de absorción de los compuestos puros.....</i>	<i>72</i>
6.3.2	<i>Elaboración de curvas de calibración aplicando el método de la 4-aminoantipirina.....</i>	<i>74</i>
6.3.3	<i>Elaboración de curvas de calibración aplicando el método propuesto por Chunli Kang et al., (2000).....</i>	<i>77</i>
6.3.4	<i>Elaboración de curvas de calibración aplicando el método propuesto en esta tesis.....</i>	<i>80</i>

6.3.5	<i>Elaboración de curvas de calibración por el método de cloruro férrico con adición de estándar.....</i>	84
6.4	VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA EL MÉTODO PROPUESTO.....	88
6.4.1	<i>Precisión del sistema.....</i>	89
6.4.2	<i>Linealidad del sistema.....</i>	90
6.4.3	<i>Exactitud y repetibilidad del método (E y R).....</i>	92
6.4.4	<i>Linealidad del método.....</i>	94
6.4.5	<i>Porcentaje de recobro (%R).....</i>	96
6.4.6	<i>Límite de detección.....</i>	98
6.4.7	<i>Límite de cuantificación.....</i>	100
6.5	MEDICIÓN DE PARAMETROS A LAS MUESTRAS A LAS MUESTRAS DE AGUA PURIFICADA.....	102
6.5.1	<i>Parámetros fisicoquímicos.....</i>	103
6.5.2	<i>Parámetros microbiológicos.....</i>	112
7	CONCLUSIONES.....	114
8	FUTURAS INVESTIGACIONES.....	119
9	REFERENCIAS.....	120

AGRADECIMIENTOS

- ♣ A la Universidad Autónoma de Baja California y mi Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería por otorgarme horas de formación docente.
- ♣ A la Novena Convocatoria Interna de Proyectos de Investigación de la UABC, en la modalidad de nueva investigadora.
- ♣ Al CONACYT por la beca otorgada durante 11 meses.
- ♣ A la Coordinación de Cooperación Internacional e Intercambio Académico de la UABC por los apoyos recibidos en la diferentes convocatorias de Movilidad Académica.
- ♣ Al Instituto de Química de la UNAM por aceptarme en estancias de investigación.
- ♣ Al Instituto Tecnológico de Tijuana, Centro de Graduados e Investigación en Química, por dejarme utilizar su equipo de fluorescencia.
- ♣ A mi director de tesis Dr. Gerardo Cesar Díaz Trujillo por el apoyo brindado durante esta larga travesía.
- ♣ A mi amiga Dra. Ma. Del Pilar Haro Vázquez por darme su apoyo incondicional tanto en mi vida académica como en lo personal.
- ♣ Al Dr. José Manuel Cornejo Bravo y al Dr. Marco Antonio Ramos Ibarra por su apoyo y ayuda.
- ♣ A todas aquellas personas que de alguna forma ayudaron a que este trabajo se haga realidad.

DEDICATORIA

- ♣ Este trabajo se lo dedico a mis hijos Karla Gabriela, Juan Alberto y Nataly por apoyarme y no reclamar el tiempo que no estoy con ustedes.
- ♣ A mi esposo Juan, como deseo que te recuperes. Este trabajo es parte de ti por apoyarme en este largo trayecto de nuestra vida que no ha sido fácil, pero aquí están los frutos de horas de trabajo y desvelo.
- ♣ A mi madre por haberme dado la vida y educarme con tanta tenacidad, eres un gran ejemplo para mí.
- ♣ A mi padre por quererme y animarme a seguir adelante.
- ♣ A mi hermana Adriana y cuñado Ricardo, a mis sobrinos: Karina, Ricardo y Leonardo por ayudarme en momentos difíciles y estar siempre al pendiente de nosotros.
- ♣ A mi Dios que me da fuerza y vitalidad para afrontar las adversidades y guiarme por el sendero del bienestar.

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
DnsCl	Cloruro de dansilo (Cloruro de 1-dimetilaminonaftaleno-5 sulfonilo)
4-AAP	4-aminoantipirina
F	Fenol
2-CF	2-clorofenol
2,4-DC	2,4-diclorofenol
3-NF	3-Nitrofenol (m-nitrofenol)
4-NF	4-Nitrofenol (p-nitrofenol)
2,4-DNF	2,4-Dinitrofenol
ACN	Acetonitrilo
MeOH	Metanol
DCM	Diclorometano
HPLC	(High Performance Liquid Chromatography) CLAR
CLAR	Cromatografía Líquida de Alta Eficacia
UV	Ultravioleta
VIS	Visible
Abs	Absorbancia
USEPA	Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos (United State Enviromental Protecction Agency)
NOM	Norma Oficial Mexicana
NMX	Norma Mexicana
HACH	Nombre de la Compañía Estadounidense para análisis de agua

Lista de Figuras

Figura 1. Estructuras de fenol y principales derivados.....	04
Figura 2. Efecto de matriz en el análisis de $[\text{ClO}_4]^-$	36
Figura 3. Espectro de fluorescencia de fenol.....	52
Figura 4. Espectro de fluorescencia de 2-clorofenol.....	53
Figura 5. Espectro de fluorescencia de 4-clorofenol.....	53
Figura 6. Espectro de fluorescencia de 2, 4-diclorofenol.....	54
Figura 7. Espectros de fluorescencia para Nitrofenoles.....	54
Figura 8. Espectros de fluorescencia del fenol dansilado.....	56
Figura 9. Espectros de fluorescencia del 2-clorofenol dansilado.....	56
Figura 10. Espectros de fluorescencia del 4-clorofenol dansilado.....	57
Figura 11. Espectros de fluorescencia del 2,4-diclorofenol dansilado.....	57
Figura 12. Espectros de fluorescencia de compuestos fenólicos dansilados.....	59
Figura 13. Cromatograma del 2,4 Dinitrofenol.....	60
Figura 14. Cromatograma de fenol.....	61
Figura 15. Cromatograma de 4-nitrofenol.....	61
Figura 16. Cromatograma de 3-nitrofenol.....	62
Figura 17. Cromatograma de 2-clorofenol.....	62
Figura 18. Cromatograma de 2,4- Diclorofenol.....	63
Figura 19. Cromatograma de mezcla 10 μL de Fenoles.....	64
Figura 20. Espectro de absorción del 2,4 Dinitrofenol.....	65
Figura 21. Espectro de absorción del Fenol.....	65

Figura 22. Espectro de absorción del 4-Nitrofenol.....	66
Figura 23. Espectro de absorción del 3-Nitrofenol.....	66
Figura 24. Espectro de absorción del 2-Clorofenol.....	67
Figura 25. Espectro de absorción del 2,4 –Diclorofenol.....	67
Figura 26. Cromatograma de mezcla 20 µL de fenoles.....	68
Figura 27. Cromatograma de mezcla 50 µL de fenoles.....	68
Figura 28. Cromatograma de mezcla 100 µL de fenoles.....	69
Figura 29. Cromatograma de cloruro de dansilo.....	70
Figura 30. Cromatograma mezcla fenoles dansilados con fase móvil de ACN.....	71
Figura 31. Cromatograma mezcla fenoles dansilados con fase móvil de metanol...	72
Figura 32. Espectros de absorción de compuestos fenólicos puros.....	73
Figura 33. Curva fenol método 4-aminoantipirina (HACH).....	74
Figura 34. Curva fenol método 4-aminoantipirina (NMX).....	75
Figura 35. Curva 2-clorofenol método 4-aminoantipirina(HACH).....	75
Figura 36. Curva 4-clorofenol método 4-aminoantipirina (HACH).....	76
Figura 37. Curva 2,4-diclorofenol método 4-aminoantipirina (HACH).....	76
Figura 38. Espectro de absorción del blanco método nitroferricianuro de sodio.....	77
Figura 39. Curva del fenol por el método de nitroferricianuro de sodio.....	78
Figura 40. Curva del 2-clorofenol por el método de nitroferricianuro de sodio.....	79
Figura 41. Curva del 4-clorofenol por el método de nitroferricianuro de sodio.....	79
Figura 42. Espectros de absorción de los blancos método cloruro férrico.....	81
Figura 43. Curva del fenol por el método de cloruro férrico.....	82

Figura 44. Curva del 2-clorofenol por el método de cloruro férrico.....	82
Figura 45. Curva del 4-clorofenol por el método de cloruro férrico.....	83
Figura 46. Curva del 2,4-Diclorofenol por el método de cloruro férrico.....	83
Figura 47. Adición de 4-clorofenol en muestra 14, $\lambda = 720$ nm, 15 min.....	84
Figura 48. Adición de 4-clorofenol en muestra 14, $\lambda = 770$ nm, 15 min.....	85
Figura 49. Adición de 4-clorofenol en muestra 14, $\lambda = 720$ nm, 30 min.....	85
Figura 50. Adición de 4-clorofenol en muestra 14, $\lambda = 770$ nm, 30 min.....	86

Lista de tablas

Tabla 1. Lista de sustancias peligrosas clasificadas por la CERCLA.....	09
Tabla 2. Coeficientes de partición (K_{ow}) y constantes de acidez (K_a) de compuestos fenólicos reportados por la EPA.....	22
Tabla 3. Volúmenes de muestra recomendado para las diferentes fases estacionarias....	25
Tabla 4. Puntos de muestreo de agua purificada.....	51
Tabla 5. Longitudes de excitación y emisión de los compuestos puros.....	55
Tabla 6. Longitudes de excitación y emisión de los derivados fluorescentes.....	58
Tabla 7. Tiempo de retención de los compuestos fenólicos puros.....	63
Tabla 8. Ecuaciones de regresión de los compuestos fenólicos puros.....	69
Tabla 9. Longitudes máximas de absorción de los compuestos fenólicos puros....	73
Tabla 10. Ecuaciones de regresión para muestras de agua purificada.....	87
Tabla 11. Absorbancia de las disoluciones de referencia.....	89
Tabla 12. Respuesta de la disolución de referencia a diferentes concentraciones..	91
Tabla 13. Cantidad adicionada y porcentaje de recobro para fenol (E y R).....	93
Tabla 14. Cantidad adicionada y recuperada para fenol.....	95
Tabla 15. Cantidad adicionada y porcentaje de recobro para fenol (%R).....	97
Tabla 16. Cantidad adicionada y respuesta analítica para fenol para LD.....	99
Tabla 17. Cantidad adicionada y respuesta analítica para fenol para LC.....	101
Tabla 18. Especificaciones físicas.....	102

Tabla 19. Especificaciones químicas.....	102
Tabla 20. Especificaciones microbiológicas.....	102
Tabla 21. Resultados de los análisis físicos y sólidos disueltos totales.....	105
Tabla 22. Resultados de los análisis químicos.....	111
Tabla 23. Resultados de análisis microbiológico a muestras de agua purificada....	113

INTRODUCCIÓN

El estudio de fenoles y sus derivados en la mayoría de los países no solo se explica por el sabor y olor desagradable que imparte en los alimentos y agua sino por el efecto tóxico y su persistencia, estos compuestos son generados por actividades antropogénicas.

Los compuestos fenólicos están en el medio ambiente acuático como resultado de procesos industriales, estos compuestos son generados en la producción de plásticos, tintas, productos farmacéuticos, plaguicidas, antioxidantes, papel y en la industria petroquímica.[1] El pentaclorofenol (PCP) es utilizado como preservador en la madera. [2] El fenol es generado en la degradación de lignina en la producción de papel [3] y los clorofenoles pueden ser generados en la cloración de agua purificada. Los nitrofenoles son formados fotoquímicamente en la atmósfera por las emisiones de los vehículos.[4] Por su toxicidad y propiedades organolépticas desagradables que infiere en el agua en concentraciones pequeñas en $\mu\text{g/L}$ la Agencia de Protección al Ambiente (EPA) en Estados Unidos los tiene clasificados como contaminantes prioritarios en los métodos 604 [5] y 8041 [6]. La Unión Europea (EU) los tiene clasificados como contaminantes en la Directiva 80/778/EC con una concentración máxima de $0.5 \mu\text{g/L}$ para fenoles totales en agua purificada y en concentraciones individuales debajo de $0.1 \mu\text{g/L}$. En México se encuentran regulados en agua potable con un límite permisible de 0.3 mg/L de fenoles o compuestos fenólicos en la norma oficial mexicana (NOM), específicamente en la Modificación a la NOM-127-SSA1-1994.[17]

ANTECEDENTES

2.1 FENOLES

2.1.1 Características generales y estructuras

Recibe el nombre de fenol, el alcohol monohidroxílico derivado del benceno; dándosele, además, a todos los compuestos que tengan un radical oxidrónico unido al anillo bencénico. El fenol fue obtenido por Ruge en 1834; separó del asfalto lo que le llamó ácido carbónico. Nombre con el que se conoció hasta principios de este siglo. En 1914 Meyers y Bergius, proponen hidrolizar el monoclorobenceno con hidróxido de sodio. Proceso que se generalizó pocos años después.

Hasta la Primera Guerra Mundial, solo se había logrado obtener el fenol ó ácido carbónico por la separación del asfalto; hasta que se estableció el proceso basado en la sulfonación del benceno hidrolizado con hidróxido de sodio, y volviendo a hidrolizar el producto, que era el bencensulfonato de sodio; a este se le llamó fenol sintético.

En 1930, se transforma el proceso de hidrólisis del monoclorobenceno, obteniéndose el fenol, en fase vapor, hidrolizando al monoclorobenceno con agua, en lo que se conoce como proceso de Rashig-Hooker. En 1950, la B.P. Internacional Ltd y la Hercules Chemical, Inc., instituyen un nuevo proceso para la obtención del fenol, oxidando el cumeno hasta hidroperóxido de cumeno y catalizando la reacción de éste para obtener fenol y un segundo producto comercial, la acetona.

Este proceso surgió debido a la sobreproducción del cumeno que era subproducto en la reacción de obtención del hule sintético GRS, además de la necesidad de la obtención de acetona que se usaba como aditivo en gasolinas de aviación. En 1961, se busca reformar los procesos de obtención del fenol, y debido a esto, la Dow Chemical of Canada, Ltd., lo obtiene por medio de la oxidación del tolueno hasta ácido benzoico, y la reoxidación de éste para obtener fenol.

El fenol se extrae del alquitrán de hulla y se produce sintéticamente en grandes cantidades. Se usa bastante en síntesis de compuestos orgánicos, en especial resinas de tipo fenólico. Existe como componente natural en los desechos naturales del gas carbón, del carbón coque y de las industrias del petróleo, además de encontrarse en una gran variedad de desechos industriales de procesos que usan el fenol como materia prima. [7]

Los fenoles son compuestos orgánicos de fórmula general $ArOH$, donde Ar corresponde a un compuesto aromático que puede tener sustituyentes. Además, difieren de los alcoholes en que tienen el grupo $-OH$ directamente unido al anillo aromático. En la Figura 1 se presenta la serie de estructuras que incluyen al Fenol y sus derivados.

Ciertos fenoles y sus éteres pueden encontrarse en la naturaleza principalmente en los aceites esenciales de varias plantas. Algunos de estos fenoles como el eugenol, el isoeugenol, el acetol, la vainilla y el timol son responsables del olor del clavo, nuez moscada, anís, vainilla, tomillo y de la menta. [8]

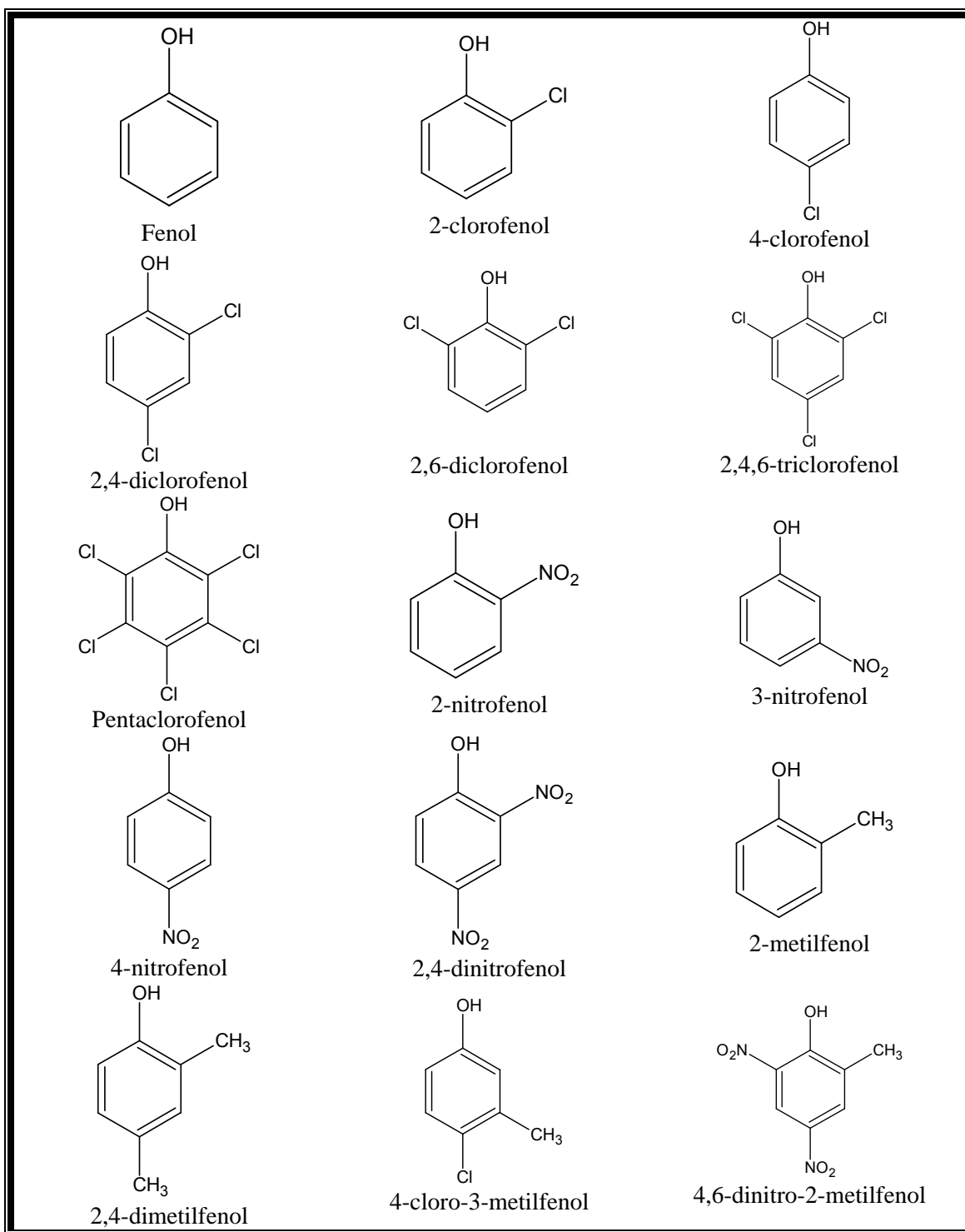


Figura 1. Estructuras de fenol y principales derivados.

2.1.2 Descripción y propiedades físicas

El fenol es un hidroxiderivado del benceno que se utiliza para la fabricación de resinas sintéticas, colorantes, medicamentos (como antisépticos y anestésicos locales), plaguicidas, curtientes sintéticos, sustancias aromáticas, aceites lubricantes, plásticos, reactivos químicos y antioxidantes. Es un compuesto orgánico de fórmula empírica C_6H_6O y peso molecular 94.11 g/mol.

El nombre de la I.U.P.A.C. del fenol es el 1-hidroxibenceno; y otros nombres asignados a este compuesto son: ácido fénico, ácido carbólico, hidroxibenceno, monohidroxibenceno, hidróxido de fenilo y oxibenceno

Es un sólido cristalino incoloro o blanco rosado, de olor dulce y sabor amargo, que funde a 40.85 °C, con tendencia a adquirir una coloración rojiza en presencia de luz y aire que se acelera en medios alcalinos. Es soluble en agua (1 g en 15 mL), en benceno (1 g en 12 mL) y muy soluble en alcohol, cloroformo, éter, glicerol, en disoluciones acuosas de hidróxidos alcalinos y es prácticamente insoluble en éter de petróleo.

El fenol presenta una absorbancia máxima en el UV a una longitud de onda de 272 nm cuando se encuentra disuelto en metanol y a 287 nm para disoluciones de fenol NaOH 0.1 M en metanol. [9]

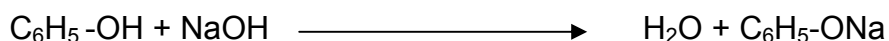
El fenol se presenta en la naturaleza en la madera y agujas de pino, en la orina de los herbívoros (como fenolsulfato) y en el alquitrán de hulla. Los fenoles sintéticos se obtienen a partir de la destilación del alquitrán de hulla (1 tonelada de hulla = 0.25 kg

de fenol), aunque actualmente predomina la producción sintética por disociación del hidroperóxido de cumeno, obteniéndose acetona como producto secundario y en parte aún se recurre a la síntesis a partir del benceno, utilizando ácido benzenosulfónico o clorobenceno.

2.1.3 Reactividad y persistencia

Químicamente, el fenol, se caracteriza por la influencia mutua entre el grupo hidroxilo u oxidrilo (HO:) y el anillo aromático. El grupo fenilo ó fenil negativo, es la causa de una leve acidez del grupo oxidrílico (Ka en solución acuosa a 25 °C es 1.3×10^{-10}).

El fenol reacciona con las bases fuertes para formar sales llamadas fenóxidos (algunas veces fenolatos):



Los fenolatos de sodio y potasio, son rápidamente descompuestos por el bióxido de azufre; éste compuesto, también descompone al fenol. El grupo hidroxilo puede ser fácilmente eterificado y esterificado. El acetato de fenilo $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3\text{COO}$, el fosfato de trifenilo $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{PO}_4$ y el salicilato de fenilo $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{O}$ son los éteres comerciales más conocidos del fenol.

El fenol es rápidamente oxidado a una variedad de productos que incluye a los bencenodiolos (hidroquinona, resorcinol y pirocatecol), bencenotrioles y derivados del difenilo (difenoles ó bifenoles) $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{OH}$, y óxido de difenilo (dibenzofurano) y productos de descomposición, dependiendo este del agente oxidante y de las condiciones de operación. La reducción del fenol con zinc por destilación, da benceno, y la hidrogenación del fenol, finalmente, es método para la obtención del ciclohexanol.

El grupo hidroxilo da una alta reactividad al grupo fenilo. Los átomos del hidrógeno en las posiciones **o**- (orto) y **p**- (para), con respecto del grupo hidroxilo, son altamente reactivos (orienta las sustituciones hacia esas posiciones); o sea, los hidrógenos en 2- y 4- son los primeros en ser sustituidos para formar el monoderivados para formar el monoderivado inicial, después el 2- 4- ó el 2- 6- derivado, y finalmente el 2- 4- 6- triderivado, esto si las condiciones lo permiten.

Entre las propiedades químicas más importantes de los fenoles se encuentran su elevada reactividad, puesto que es común que se presenten reacciones de oxidación y de formación de sales:

a) Formación de sales: Los fenoles al igual que los alcoholes, experimentan reacciones que comprenden la ruptura del enlace oxígeno-hidrógeno del grupo $-\text{OH}$, aunque a diferencia de la mayoría de estos que son ácidos bastante débiles, los fenoles poseen carácter ácido, que tiene su origen en la relativa estabilidad de los aniones, las bases conjugadas que se forman en la ionización, y en el efecto de solvatación. [10]

b) Formación de Esteres y Éteres: A partir de los fenoles se pueden obtener éteres por vía indirecta, dado el casi nulo rendimiento que se obtiene por vía directa, mediante la reacción de estos con cloruros y anhídridos de ácido. Los ésteres se forman por acción de los cloruros de ácidos con los fenolatos alcalinos. La esterificación es muy importante, ya que muchos productos como grasas, aceites vegetales y ceras, pertenecen a este tipo de compuestos, los cuales son la base de los productos industriales plásticos y resinas. [11]

c) Oxidación: La oxidación se puede realizar por deshidrogenación o por adición de un oxidante como el cloro, el permanganato de potasio o incluso el oxígeno, obteniéndose como producto, a través de una reacción reversible, la benzoquinona, compuesto de color amarillo. Las benzoquinonas sustituidas son amarillas, naranjas o rojas. Su fácil formación es la causa de la aparición de impurezas de color en la mayoría de las muestras de fenoles. [8]

2.1.4 Toxicidad

El fenol puede entrar al cuerpo humano a través de agua contaminada, comidas u otros productos que contengan compuestos fenólicos. Es fácilmente absorbido a través de la piel, o las mucosas, particularmente por el tracto gastrointestinal e igualmente puede ser inhalado con el aire o el humo. La cantidad de fenol que ingresa al cuerpo depende de la forma como este presente y del tiempo de exposición. [12]

El hígado, los pulmones y la mucosa gastrointestinal constituyen los sitios más importantes del metabolismo fenólico según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1994) su acción corrosiva mata las terminaciones nerviosas y causa necrosis

muscular [13,14] disritmias, acidosis metabólica, hiperventilación, disnea, insuficiencia y lesiones renales, metahemoglobinemia, colapso cardiovascular y trastornos neurológicos. [14] En la Tabla 1 se observa el posicionamiento de los fenoles de acuerdo a su toxicidad en una lista publicada por la ley de Responsabilidad, Compensación y Recuperación Ambiental (CERCLA por sus siglas en inglés) en 2007, el puntaje total es obtenido mediante la suma de los valores obtenidos en base a tres criterios: frecuencia de ocurrencia en los sitios, la toxicidad del compuesto y la exposición potencial para el humano.[63]

Tabla 1. Lista de sustancias peligrosas clasificadas por la CERCLA

Lugar 2007	NOMBRE DEL COMPUESTO	PUNTAJE TOTAL
45	Pentaclorofenol	1028.01
87	2,4-dinitrofenol	860.45
88	2,4,6-triclorofenol	853.71
177	2,3,4,6 Tetraclorofenol	702.54
182	Fenol	696.96
188	2,4-dimetilfenol	685.76
209	2,4-diclorofenol	616.45
222	2,4,5-triclorofenol	604.83
245	2-clorofenol	599.62
257	4-nitrofenol	567.79

Se ha comprobado que la intoxicación por fenol produce coma, convulsiones, hemólisis, edema cerebral y pulmonar, provocando la muerte por falla respiratoria o shock. La dosis de exposición máxima es 5 mg/L y la dosis letal es 1.5 mg. Para los fenoles clorados resultantes de la cloración de agua para consumo humano las dosis revisten gran importancia. En particular para el pentaclorofenol la dosis máxima de exposición es 0.0005 mg/L y la dosis fatal es 1 mg. Respecto a los efectos a largo plazo, en células *in vitro* de mamíferos se han observado mutaciones, lesiones cromosómicas, y efectos en el ADN. Igualmente se encontró que el fenol tiene efectos activadores del cáncer. [12]

El fenol es tóxico para los seres vivos. En los humanos y otros mamíferos los vapores y los líquidos pueden ingresar fácilmente al cuerpo por vía cutánea. Los vapores inhalados ocasionan lesiones en las vías respiratorias y en el pulmón, mientras que el contacto con los líquidos produce severas quemaduras en la piel y en los ojos. Además, una exposición prolongada paraliza el sistema nervioso central, pudiendo provocar la muerte. En las plantas inhibe la permeabilidad pasiva y el crecimiento.

La biodegradación de los fenoles naturales es en general muy buena, de modo que casi no hay acumulación en las plantas o animales, ya que, la acción bacteriana provoca la descomposición del mismo en dióxido de carbono. Sin embargo, los fenoles sintéticos se degradan con menos facilidad, puesto que muchos de ellos son tóxicos para los microorganismos, permaneciendo por esta razón en el medio ambiente.

El agua natural contiene pequeñas concentraciones de fenol, pero estas cantidades pueden verse incrementadas por la contaminación con agua residual, industrial y doméstica, así como por la degradación de plaguicidas, fungicidas o herbicidas. El fenol, en el agua clorada contribuye a la formación de clorofenoles que comunican al agua un sabor y olor extremadamente desagradable incluso para concentraciones bajas, además de transmitir cierta toxicidad, que puede ser más o menos aguda para la vida acuática y los mamíferos dependiendo a la concentración en que se encuentren.

Por esta razón, la Agencia de Protección Medioambiental de Estados Unidos clasifica como contaminantes medioambientales al fenol y sus derivados fenólicos, aumentando su toxicidad a medida que se incrementa el número de átomos de cloro o de nitrógeno incorporados al fenol, siendo el pentaclorofenol el más tóxico de los clorofenoles y el trinitrofenol (ácido pícrico) el más tóxico de los nitrofenoles.

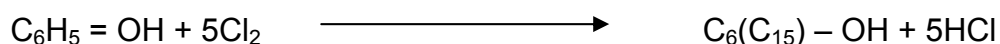
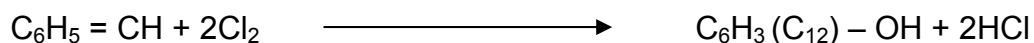
2.1.5 Aplicaciones

Los fenoles y compuestos fenólicos se encuentran comúnmente en el agua residual de varias industrias, entre ellas, las industrias papeleras, de remoción de pinturas, industrias químicas de producción de plaguicidas, herbicidas y fungicidas, las diferentes etapas de la industria del petróleo, generadoras de resinas y la preservación de madera. Algunas concentraciones típicas de efluentes fenólicos industriales importantes son: en hornos de coque de 28 a 3900 mg/L, en proceso de conversión de carbón de 9 a 6800 mg/L y en la industria petroquímica de 2.8 a 1250 mg/L.

La industria papelera, en particular la operación de blanqueo de las pastas químicas, en la que las astillas de madera se lavan para obtener fibras puras de celulosa.[16]

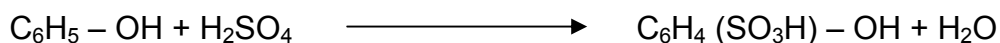
La industria del petróleo en sus procesos de producción, refinación, transporte y almacenamiento de hidrocarburos genera gran cantidad de corrientes fenólicas, las cuales poseen concentraciones de fenol que oscilan entre 0.7 y 500 mg/L. La composición química de esta agua es variable puesto que depende de la naturaleza del hidrocarburo, método de tratamiento de emulsiones del yacimiento y del funcionamiento de las diferentes operaciones del proceso. [10]

Los halógenos, forman principalmente, dihalofenoles y trihalofenoles; los derivados del cloro, son los principales, puesto que el cloro con el fenol, forma dos derivados principales, que se usan como herbicidas y preservadores de madera, como son el diclorofenol y el pentaclorofenol:

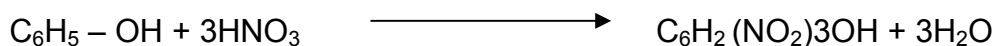


Estas reacciones se llevan a cabo en presencia de los llamados ácidos Lewis, por ejemplo: cloruro de aluminio, fluoruro de boro, etc.

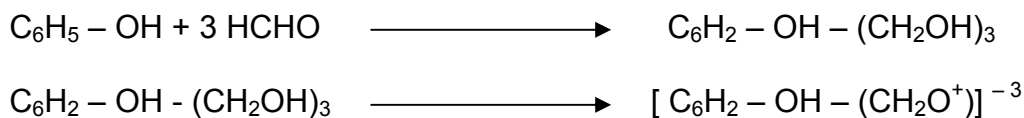
La reacción del fenol con el ácido sulfúrico, es para la obtención del ácido hidroxibencensulfónico:



La nitración del fenol, se lleva a cabo con el ácido nítrico diluido, el producto final, es el 2,4,6 - trinitrofenol, o sea, el explosivo ácido pícrico:



Por oxidación forma el ácido oxálico y productos resinosos. La reacción más importante del fenol, es su condensación con el formaldehído, contándose con el 60% de la producción del fenol en los EEUU., para la obtención de las llamadas resinas fenólicas:



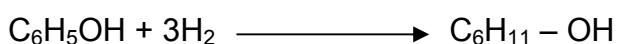
La condensación del fenol y la acetona, dan el 4,4`isopropilidendifenol ó bisfenol A.

La condensación del fenol con el anhídrido ftálico da la fenolftaleína; su reacción con el fenolato de sodio y el bióxido de carbono, para formar el ácido salicílico por la síntesis de Kolbe para la fabricación de aspirina. El salicilato de metilo y otros esterres del ácido salicílico se usan como saborizantes y perfumes.

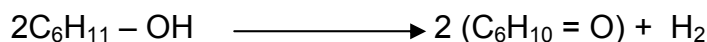
También es de importancia comercial el acoplamiento del fenol con las sales de diazonio, para la obtención de tinturas azo.

El fenol, sirve como materia prima para obtener la E-caprolactama, que a su vez es la materia prima para la obtención del Nylon 6, por medio de las siguientes reacciones.

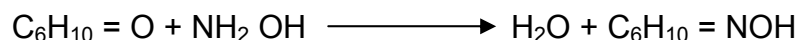
1. Deshidrogenación del fenol a ciclohexanol:



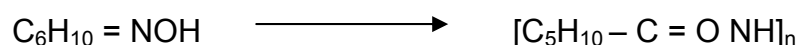
2. Deshidrogenación a ciclohexanona:



3. Conservación de esta ciclohexanona a ciclohexanonaoxima, por la reacción de aquella con la hidroxilamina y en presencia de un catalizador de ácido sulfúrico:



4. Arreglo final a E- caprolactama:



La producción de los derivados alquilados del fenol, o alquilfenoles, ocupa el 7% del volumen de la producción total del fenol en los EE.UU., teniendo buena importancia comercial cada uno de ellos. A continuación se mencionan los alquilfenoles más importantes y sus usos:

- a) o-terbutilfenol . Se sugiere su uso como producto intermedio en la obtención de resinas sintéticas, perfumes, agentes tensoactivos y en plastificantes.
- b) m-terbutilfenol. Se sugiere su uso para prevenir la oxidación en hules, aceites y resinas, además como agente anti-natas.
- c) p-terbutilfenol. La reacción más importante es su condensación con el formaldehído en presencia de catalizadores ácidos ó básicos, para dar colorantes mate y resinas solubles en aceite, que se caracterizan por su buena resistencia a los ácidos, álcalis, el agua y la luz. Las resinas de p-terbutilfenol son importantes también en la formulación de adhesivos. La condensación de p-terbutilfenol con el acetileno da un producto de polimerización, aplicable en hules y otros elastómeros, de igual forma sirve

como agente anti-cracking en hules y como estabilizador de jabones. Su hidrogenación da cis- y trans- 4- terbutilciclohexanol, cuyos acetatos se usan en perfumería como sustitutos del aceite de limón.

- d) p-teramilfenol: Como otros fenoles para sustituidos puede condensarse con el formaldehído para formar resinas termoestables solubles en benceno, tolueno y en aceites secantes; estas resinas tienen valor en la manufactura de pinturas y barnices. Otro uso y mejor es en la producción de agentes tensoactivos por su reacción con el óxido de etileno. Las soluciones de p-termilfenol en alcohol / agua se usan en la manufactura de germicidas, insecticidas y fumigantes. Finalmente, dentro de su aplicaciones considerables, es utilizado como intermedio para obtener aditivos para hules y petróleo
- e) Heptilfenol. Se usa comúnmente como intermedio en las reacciones de obtención de aditivos de detergentes-dispersantes y en aditivos de aceites lubricantes, así como intermediarios en la producción de plastificantes, estabilizadores y hules químicos.
- f) p-teroctilfenol. Los usos comerciales más frecuentes es en la manufactura de resinas fenólicas por condensación con el formaldehído y en la manufactura de secantes no-iónicos y de agentes dispersantes por condensación con el óxido de etileno. Las sales de calcio y bario de los sulfuros y formaldehído condensados con el p-tercotilfenos se usan como aditivos en aceites. Asimismo, le da estabilidad térmica y ultravioleta a la etil-celulosa, que se

utiliza también en la fabricación de pinturas, insecticidas, bactericidas y compuestos farmacéuticos.

- g) Nonilfenol. Su reacción industrial más importante es su eterificación, por condensación con el óxido del etileno usando un catalizador básico dando al agente tenso-activo no iónico del tipo del nonilfenoxipolietoxietanol, estos éteres tienen buena estabilidad química y excelentes propiedades secantes emulsificantes y detergentes. El nonilfenol reacciona con los aldehídos, para dar resinas fenólicas, cuando lo hace con otros fenoles, da resinas más resistentes al agua, más solubles en aceites y que dan ciertas propiedades eléctricas. Una variedad de nonilfenoles, está siendo usada como productos intermedios en la fabricación de plastificantes de cloruro de polivinilo. Otras aplicaciones van hacia productos farmacéuticos, inhibidores de corrosión, pinturas, agentes de flotación, insecticidas, bactericidas y estabilizadores químicos.
- h) Dodecilfenol. Las sales de los metales alcalinos del ácido dodecilfenoldulfónico, tienen propiedades tenso-activas. Tal como el nonilfenol, reacciona con los óxidos de alquileo para formar largas cadenas poliéter, que tienen usos como detergentes no-iónicos de tipo casero e industrial, además de su uso como agente secante y emulsificante. Se preparan surfactantes aniónicos por la sulfación de los condensados que contengan de 4 a 7 moléculas de óxido de etileno por molécula de alquilfenol (se usan como detergentes líquidos).

- i) 2,6-diterbutilfenol. Se obtiene haciendo reaccionar fenol con isobutileno usando fenato de aluminio como catalizador y se sugiere como producto intermedio para obtener resinas sintéticas, plastificantes, y agentes tenso-activos. Se usa como antioxidante para inhibir la formación de gomas en gasolinas que contengan tetraetilo de plomo, su producto de condensación con formaldehído se usa particularmente como antioxidante para polímeros, aceites y ceras.
- j) 3-metil-6-terbutilfenol. Es un antioxidante efectivo y un estabilizador de resinas cumarona-indeno, éteres polivinílico e hidrocarburos halogenados, tales como el tricloroetileno y el percloroetileno y es también un producto intermedio en la manufactura de antioxidantes para hules y polímeros de alto peso molecular. Otras de sus aplicaciones son: como germicida en formulaciones desinfectantes y antisépticas.
- k) 3-metil-4,6-diterbutilfenol. Este fenol alquilado es efectivo como antioxidante y estabilizador de éteres polivinílicos. Se propone su uso en la producción de hule duro o ebonita de copolimerización de butadieno-acrilonitrilo.
- l) 4-metil-2-terbutilfenol. Tiene buen valor comercial en el presente y es en la preparación de sus productos de condensación con aldehídos para formar antioxidantes, sobre todo para hules.
- m) 4-metil-2,6-diterbutilfenol. En presencia de catalizadores ácidos, tales como cloruro de aluminio, en los ácidos sulfúrico y fosfórico, el alquilfenol puede ser butilado para formar terbutil p- cresol. Por medio de la oxidación con ácido crómico, ó con bromo se convierte a aldehído el grupo metilo. El 4-metil-2, 6-

diterbutilfenol, se usa en gasolina para motores automotrices ó de aviación, lubricación turbinas, aceites, ceras, hules sintéticos y naturales, pinturas, plásticos y elastómeros como protección de los materiales contra los efectos del oxígeno atmosférico durante su almacén y servicio. En grado de alta pureza es muy usado en los alimentos para delatar cuando estos entran en estado de descomposición, especialmente para alimentos de origen animal, aceites vegetales y vitaminas solubles en aceite. También se usa en el empaque de alimentos, tales como papel de aluminio y polietileno.

- n) 2,4-dimetil- 6-terbutilfenol. Se encontró su aplicación como: antioxidante de olefinas y gasolinas; inhibidor de la polimerización prematura de monómeros reactivos particularmente acrilatos y metilicrilatos; para restringir la decoloración durante el proceso de obtención de las resinas cumarona-indeno, y es un agente anti-natas para pinturas, barnices, aceites secantes y tintas de impresión.[11]

2.2 Normatividad y legislación sobre el contenido de fenoles en agua

2.2.1 Regulación en México

En México se encuentran regulados en agua potable en la modificación de la NOM-127-SSA1-1994 como fenoles o compuestos fenólicos con un límite máximo permisible de 0.3 mg/L, para agua purificada anteriormente en la NOM-041-SSA1-1993 se estableció 0.001 mg/L como límite y actualmente se debe de cumplir con el límite para agua potable. [17]

2.2.2 Regulación en Estados Unidos

La Agencia de Protección al Ambiente (EPA por sus siglas en inglés) en Estados Unidos a través de sus Estándares del Reglamento Nacional Primario de Agua Potable regula al pentaclorofenol con un nivel máximo de contaminante de 0.001 mg/L en agua potable y purificada. [15]

2.2.3 Regulación en la Comunidad Europea

La Comunidad Económica Europea (CEE) los tiene clasificados como contaminantes en la Directiva 80/778/CEE con una concentración máxima de 0.5 µg/L para fenol en agua para consumo humano y en concentraciones individuales debajo de 0.1 µg/L [59]. En agua superficial destinada al baño recreativo el límite es 5 µg/L regulado en la directiva del consejo 76/160/CEE [60] y en agua superficial dirigida a la extracción de agua potable esta situado entre 1-100 µg/L y regulado en la Directiva 75/440/CEE [61].

En el agua residual, se establecen unos límites de vertido cuantitativos que no se podrán sobrepasar. Estos parámetros de vertido dependen de la actividad de la industria y se encuentran legislados en la Tabla 1, 2, 3 del Título IV del Real Decreto 849/1986 de la “Ley de aguas” [18]. Los límites de fenol se encuentran entre 0.5 y 1 mg/L.

En el agua superficial destinada a la producción de agua potable, se fijan niveles de calidad clasificados en tres grupos, de acuerdo al tratamiento que vayan a recibir para su potabilización. Estos parámetros se establecen en el Real Decreto 927/1988 de la “Ley de aguas” y la cantidad aceptada para fenol varía entre 1 y 100 µg/L [19]

- Tratamiento físico simple y desinfección, 1 µg/L.
- Tratamiento físico normal, tratamiento químico y desinfección, 5 µg/L.
- Tratamiento físico-químico intensivos y desinfección, 100 µg/L

En el agua dulce superficial destinada a ser aptas para el baño, los parámetros de calidad se establecen en el Real Decreto 927/1988 de la “Ley de aguas” [19]. Para los fenoles el valor máximo es de 5 µg/L, siempre y cuando no presenten un olor específico.

En el agua de abastecimiento o consumo público, la concentración máxima admisible se detalla en una normativa específica, que surge como consecuencia de la adhesión de España a la Comunidad Económica Europea, en el que se hace necesario armonizar la legislación española a las disposiciones comunitarias, concretamente a la Directiva 80/778/CEE, relativa a la calidad del agua de consumo humano. El Real Decreto 1138/1990 [20] aprueba la “Reglamentación técnico sanitaria” que regula las normativas para el abastecimiento y control de las aguas potables de consumo humano, en la que se define a la fenoles como sustancias no deseables y fija su concentración máxima admisible en 0.5 µg/L.

2.3 Métodos de extracción y preconcentración de fenoles

2.3.1 Métodos de extracción

La extracción líquido-líquido (LLE) es usada como método oficial por la EPA de preconcentración en la determinación de fenoles en agua, sin embargo a incrementado la tendencia de remplazar la LLE por le extracción en fase sólida (SPE por sus siglas en inglés) y la micro extracción en fase sólida (SPME por sus siglas en

inglés), debido a que esta técnicas usan cantidades pequeñas en volumen de disolventes orgánicos. Las metas de la SPE de fenoles en agua son:

- La concentración de grandes volúmenes de agua con recobros cuantitativos.
- La elusión de fenoles retenidos con una mínima cantidad de disolventes orgánicos.
- La compatibilidad del eluente en fase sólida con el sistema analítico, esto es especialmente importante en sistemas en línea.
- La selectividad en la concentración

Llevar a cabo estos requerimientos no es tan fácil debido al diferente comportamiento de los fenoles en términos de acidez y polaridad (Tabla 2).

El fenol, el 2-cloro fenol y el 2-nitro fenol son compuestos hidrofílicos con baja afinidad a absorbentes no polares en comparación con el 2,4,6 triclorofenol, 2,3,5,6 tetra clorofenol y pentaclorofenol. En otros el valor del pKa puede ser selectivo en la separación de los diferentes fenoles. En la Tabla 2 se presentan los valores para los 11 fenoles incluidos en las lista del método 604-EPA.

Tabla 2. Coeficientes de partición (K_{ow}) y constantes de acidez (K_a) de compuestos fenólicos reportados por la EPA.

Compuesto	Log K_{ow}	pKa
Fenol	1.50	9.99
2,4-Dinitrofenol	1.53	4.09
2-Nitrofenol	1.78	7.21
4-Nitrofenol	1.90	7.16
2-metil-4,6-dinitrofenol	2.12	4.34
2-clorofenol	2.15	8.55
4-clorofenol	2.41	9.53
2,4-dimetilfenol	2.42	10.60
3-clorofenol	2.50	9.26
2,4-diclorofenol	3.08	7.85
4-cloro-3-metilfenol	3.10	9.55
2,4,6-triclorofenol	3.69	7.42
Pentaclorofenol	5.01	4.93

Los materiales para la extracción de fenoles en fase sólida pueden ser: absorbentes de sílica, materiales poliméricos, absorbentes fusionalizados y con carbón grafitizado.

a) Absorbentes de Sílica

Los absorbentes en fase reversa no polar con base de sílica fueron los primeros materiales de SPE para fenoles en agua con C₁₈, siendo esta la más popular, teóricamente es necesario ajustar el pH entre 2-3 para minimizar la ionización de los compuestos fenólicos. Comercialmente los diámetros de poro de los materiales están entre 60 y 125 Å. Los poros más pequeños tienen área de superficie mayor. Una vez retenidos los fenoles en los materiales estos tienen que ser eluidos con diferentes disolventes como acetato de etilo [20], metanol, acetonitrilo o acetona, el tipo de disolvente usado depende de la clase de cartucho con el absorbente y de la polaridad del fenol. El C₈, ciclohexil, fenil y el ciano son otro tipo de sílicas absorbentes usadas en la SPE para fenoles en muestras de agua. El Ciclohexil y el fenil son absorbentes que incrementan la habilidad de absorción del fenol comparado con C₁₈

b) Materiales Poliméricos

Los absorbentes poliméricos son resinas modificadas e incorporadas comercialmente como cartuchos, membranas o fibras de micro extracción. Estas incluyen al poliestireno-divinilbenceno (PS-DVB) estructuras hidrofóbicas con diferente tamaño de partícula y área superficial. En comparación con los absorbentes de sílica son más estables en valores de pH ácidos, normalmente usados en la preconcentración de fenoles con una alta capacidad polar, atribuido al alto contenido de carbón (cerca del 90% comparado con el 18% del C₁₈). Para los materiales poliméricos el área superficial va de 600 - 1200 m²/g comparado con los

absorbentes de silica que va de 200-600 m²/g. Los eluentes usados son metanol, acetonitrilo, metanol-acetonitrilo, acetato de etilo, o terbutil etil eter.

c) Absorbentes Fusionalizados

Los absorbentes fusionalizados son resinas modificadas los grupos comúnmente modificados en estos absorbentes poliméricos son acetilo, hidroximetilo, benzolilo, o-carboxibenzoilo, ácido carboxílico y ácido sulfónico; algunos absorbentes son modificados con sales cuaternarias de amonio, estos no se encuentran comercialmente, se encuentran publicadas en la literatura diferentes artículos que describen los detalles de la modificación polimérica en la retención de fenoles.

Piangerelli et al [21] reporta recobros obtenidos para 12 compuestos fenólicos en un litro de agua, usando acetil fusionalizado y una la resina copolimérica no modificada de estireno-divinilbenceno. Recobros del 95% y de 60% son obtenidos para fenol respectivamente.

d) Carbón Grafitisado

El carbón grafitisado es otro tipo de absorbente usado en la SPE de fenoles. La ventaja de la retención de fenol en este material es que no hay necesidad de acidificar la muestra de agua, y la retención de las especies fenólicas es mas alta que cuando se usa C₁₈. Los eluentes usados para desorber los fenoles son diclorometano-metanol (90:10) o (80:20), tambien se han usado mezclas con ácido trifluoroacetico o con sales de terbutil amonio.

En la tabla 3 se muestra la relación de fase estacionaria usada, el nombre comercial, la cantidad de fase estacionaria, la presentación, el tipo de muestra, el flujo en mL/min y el volumen de muestra necesario [22]

Evaluación de fenol y clorofenoles en agua purificada

Tabla 3. Volúmenes de muestra recomendado para las diferentes fases estacionarias [22]

Fase	Nombre comercial	Cantidad (g)	Presentación	Muestra	Flujo mL/min	Volumen mL
Absorbente de sílica						
C ₁₈	J&W Scientific	0.50	Cartucho	Agua de mar	----	20
C ₁₈	J.T Baker	0.50	Membrana	Agua de mar	20-25	<50
C ₁₈	Varian	0.50	Membrana	Milli -Q water	----	<100
Phenil	J.T Baker	0.50	Cartucho	Milli -Q water	4	<100
Absorbente de materiales poliméricos						
PS-DVB	LiChrolut EN, Merck	0.20	Cartucho	Tratamiento terciario de agua residual	5	>400
*PS-DVB	LiChrolut EN, Merck	0.25	Cartucho	Agua purificada	---	>1000
*PS-DVB	ENVI-Chrom P, Supelco	0.50	Cartucho	Milli -Q water	---	>200
*PS-DVB	Analytichem Internacional	0.50	Membrana	Agua de mar	20-25	250
*PS-DVB	Amberlite XAD-4	0.20	Cartucho	Agua destilada	----	200
Absorbente de carbón grafitizado						
Carbón	Carbochimica Romana	1.00	Cartucho	Agua purificada	70	2000
Carbón	Vulcan, Supleco	0.25	Cartucho	Agua superficial	32	180
Carbón	Carbograph 4, Carbochimica Romana	0.50	Cartucho	Agua purificada	100	4000
Carbón	Carbopack B, Supelco	0.50	Cartucho	Milli -Q water	---	200
Absorbente fusionalizado						
*PS-DVB acetilado	Laboratory-made	0.50	Membrana	Agua destilada	200	500
*PS-DVB acetilado	Laboratory-made	0.25	Cartucho	Milli -Q water	5	800
*PS-DVB sulfonatado	IST	0.20	Cartucho	Milli -Q water	100	1000
C ₁₈ positivamente cargado	Laboratory-made	0.50	Cartucho	Milli -Q water	15	500

*PS-DVB (Poliestireno-divinilbenceno)

Una técnica de extracción mas reciente es la micro extracción en fase sólida (SPME). En este método de extracción, el absorbente es cubierto con fibras de silica y es usado en la extracción de analitos acuosos y gaseosos. En muestras de agua la fibra es usualmente inmersa con los extractos de los analitos y las fibras son directamente transferidas al inyector del cromatógrafo donde los analitos son desabsorbidos y subsecuentemente separados y cuantificados.[23,24] La SPME consiste en una fibra de silica fusionada cubierta con diferentes polímeros y comercialmente existen dos tipos las cuales son: polidimetilsiloxano (PDMS) de 7.30 y 100 μm y el poliacrilato (PA) el cual contiene 85 μm y 4 mezclas de fases: polidimetilsiloxano-divilbenceno (PDMS-DVB) de 65 μm y 60 μm para análisis por cromatografía de gases (GC) y análisis por cromatografía de líquidos (HPLC) respectivamente, el polietilen glicol divinil benceno (Carbowax-DVB) de 65 μm para GC, el polietilen glicol templado polidivinil benceno (Carbowax-TPR) de 50 μm para HPLC y carboxen-polidimetilsiloxano (Carboxen-PDMS) de 75 μm para GC.

Para la SPME de fenoles es necesario usar fases más polares como PA o derivados de este compuesto. Los PA contienen una fase polimérica con afinidad polar y no polar su estructura consiste en una cadena de hidrocarburos con una cadena de ester parte relativamente polar. La afinidad de la película de PA por los analitos de fenol esta relacionada con su coeficiente de partición octanol - agua (K_{OW}) y con la solubilidad de los fenoles en agua. Valores altos de K_{OW} y bajas solubilidades, da altos valores de acrilato. En este caso los compuestos de fenol con bajos valores de K_{OW} y alta solubilidad, presenta baja afinidad por esta fase polimérica. Como el

número de sustituyentes clorados en la molécula incrementa la afinidad por valores altos de acrilato también incrementa. [22]

2.3.2 Fases móviles utilizadas en el análisis de fenoles

Una vez que se hace la extracción de compuestos fenólicos ya sea con SPE o SPME estos son inyectados al cromatógrafo de líquidos y en algunos casos usan un proceso isocrático en el que el flujo de la fase móvil permanece constante en toda la corrida. Para otros sistemas usan gradiente, en este el flujo de las fases móviles es variable. Existen diferentes fases móviles que se pueden usar en cromatografía de líquidos, se mencionan algunas:

- Isildak [25] usa acetonitrilo –tetrahidrofurano-agua (56:06:40) por 15 minutos a un flujo de 1 mL/min.
- Marce [26] usa Milli-Q water conteniendo 1% de ácido acético y 0.5 g/L de KCl como solvente A y metanol como solvente B. En este caso ellos usan gradiente del 25% de B a los 0 min., 50 % de B a los 25 min., y de 100% de B a los 30 min, seguido de una elusión isocrática por 5 min.,
- Bolzacchini [27] usa un corrida isocrática con fase móvil de A-B (55-45). La fase A contiene 0.005 M KH_2PO_4 (pH 4.5 con H_3PO_4)- CH_3CN (90:10) y la fase B contiene 0.005 M KH_2PO_4 (pH 4.5 con H_3PO_4)- CH_3CN (25:75)
- Gonzalez-Toldeo [28] usa gradiente binario la fase A es 1% de ácido acético en agua y la fase B es 1% de ácido acético en acetonitrilo. La composición de las fases es de 70:30 (A-B) por 7 min. Seguido de la elusión de 30 al 70 % de

la fase B en 3 min. y sostener la elusión por 5 min. y regresar a las condiciones iniciales por 3 min.

2.4 Revisión de los métodos analíticos para la determinación de fenoles

2.4.1 Métodos espectrofotométricos

A) Métodos cualitativos

Se han descrito tres ensayos colorimétricos que permiten la determinación cualitativa de fenol en agua.

1) **Método del reactivo de Millon**, donde tras la destilación de la muestra acidificada con ácido sulfúrico y la mezcla a ebullición del destilado con ácido acético y el reactivo de Millon, en presencia de fenol el líquido se colorea del rojo amarillento al rojo oscuro dependiendo de su contenido.

2) **Método de la paranitroanilina**, que consiste en mezclar la muestra con una disolución saturada de paranitroanilina, ácido clorhídrico y una disolución saturada de nitrito potásico. En presencia de fenol, la disolución transcurridos 10 minutos y después de adicionar unas gotas de potasa, toma un coloración amarillo anaranjada.

3) **Método de la 4-aminoantipirina**, en el que al mezclar la muestra con la 4-aminoantipirina, amoníaco y ferricianuro potásico, la presencia de fenol se verifica por la aparición de una coloración rojiza.

B) Métodos cuantitativos

1) Método de la 2,6-dibromoquinona cloroimida

Se trata de un método colorimétrico que requiere de una etapa de extracción previa de la muestra con éter, para eliminar interferente como sulfuros y sustancias orgánicas animales o vegetales que alteran el desarrollo de la coloración final. De forma que en medio alcalino y tras la extracción, el fenol reacciona con el indicador (2,6-dibromoquinona 4-cloroimida) para dar lugar a los indofenoles, que pueden ser detectados espectrofotométricamente a 625 nm. Este método ofrece buenos resultados para concentraciones de fenol comprendidas entre 0.01 y 2 mg/L. [29]

2) Método de la 4-aminoantipirina

Es el método normalizado para la determinación de fenol en agua. Este método se basa en la oxidación del fenol en medio básico con el $K_3Fe(CN)_6$ y la posterior condensación con la 4-aminoantipirina para formar una imina coloreada que puede ser detectada espectrofotométricamente. Es necesario también un proceso de destilación previa de la muestra en medio ácido, con el propósito de eliminar las impurezas no volátiles, como las aminas aromáticas e incrementar la selectividad. Una vez destilada la muestra, el método de la 4-aminoantipirina se puede desarrollar de dos formas según la sensibilidad deseada [30]:

- a) Extracción con cloroformo, para el análisis de agua cuyo contenido en fenol sea inferior a 1 mg/L
- b) Fotometría directa, adaptable a agua con cantidades de fenol superiores a 1 mg/L

2.4.2 Métodos cromatográficos

Los métodos cromatográficos permiten la determinación individual de cada fenol y en general son más sensibles y selectivos que la espectrofotometría ultravioleta-visible. Dentro de los métodos cromatográficos se utilizan con mas frecuencia la cromatografía liquida de alta eficacia y la cromatografía de gases.

La cromatografía liquida de alta eficacia se utilizado para determinar compuestos fenólicos en diferentes matrices: agua, madera y fluidos biológicos principalmente en orina humana.

Entre las fases móviles mas utilizadas se encuentran metanol, acetonitrilo [31,32,34,36], en ocasiones es necesario ajustar el pH y se logra con acetato de amonio [39], o acido acético [40] con el fin de lograr disminuir el ensanchamiento de las bandas.

Con relación a los detectores el mas utilizado es el detector de ultravioleta- visible por su respuesta selectiva a 254 nm y 280 nm [41-46] algunos autores determinan pentaclorofenol a 302 nm [33,41]

Alarcon, P., et al., (1987) han separado también mezclas de los fenoles contaminantes prioritarios usando detector de ultravioleta-visible. [39]

Cappillo, A. et al., (1997) determinaron nitrofenoles, incluyendo el 2,4-dinitro-6-secbutilfenol, usando detector ultravioleta-visible.[44]

También se han utilizado detectores electroquímicos [37,38,47] y de espectrofotometría con diodos integrados [33,34,36]

Cardellicchio N., et al., (1997) determinaron diversos compuestos fenólicos en agua de mar y sedimentos marinos. [38]

En los últimos años, se han utilizado diversos métodos matemáticos y diseños experimentales para optimizar las condiciones de separación e identificación de los fenoles a través de la cromatografía de fase inversa. La fase móvil es el parámetro que más se optimiza, tanto en elución isocrática [34,35] como en gradiente [38,48].

2.4.3 Métodos de análisis en flujo con preconcentración

Se seleccionaron algunos métodos analíticos para la determinación de fenol en agua que incluyen una etapa de preconcentración en línea acoplada a un sistema de análisis en flujo (FIA).

Moskvin, et al., [49] han descrito un nuevo método de análisis que permite en un sistema FIA realizar un pretratamiento en línea de la muestra mediante una extracción-separación cromatográfica del analito, para posteriormente, separar la fase orgánica de la acuosa de manera automatizada con una membrana de separación cromatográfica, siendo determinado fluorimétricamente en la fase orgánica la cantidad de analito presente en aguas naturales. El intervalo de linealidad se establece entre 0.5 y 30.0 ppb.

Se ha desarrollado un trabajo para la determinación quimioluminiscente de fenoles en agua natural mediante análisis en flujo. [50] La cantidad de reactivos necesarios son dispensados según el tiempo en el que un conjunto de válvulas solenoide se encuentran en posición OFF/ON controladas a través del “software”. Básicamente se trata de la oxidación de los fenoles con permanganato potásico en medio ácido, en donde se incluye en línea un reactor relleno de una resina polimérica no polar tipo XAD-4 con una gran superficie de contacto, que permite preconcentrar el analito y eliminar interferencias de la matriz, aumentando la sensibilidad y selectividad del

método. El límite de detección establecido es de 5.0 ppb. Según datos bibliográficos el método más utilizado para la determinación de fenoles totales en agua es el de la 4-aminoantipirina, por ser el que mayores ventajas presenta en cuanto a la velocidad de muestreo, precisión y reproducibilidad. Para ello, es necesario que los compuestos fenólicos tengan la posición para desbloqueada, de forma que pueda producirse una reacción de oxidación del analito en medio alcalino y una posterior condensación con la 4-aminoantipirina, para formar una imina coloreada que puede ser detectada espectrofotométricamente. La adaptación del método de la 4-aminoantipirina fue trasladada al análisis FIA por Möller y Martin [51] en 1988. Este método ha sido automatizado con éxito y existen diversos trabajos donde el oxidante utilizado para la determinación del fenol, puede ser el ferricianuro potásico o el persulfato potásico.

Erleben, et al., [52] incluyen una membrana cromatográfica en la celda de flujo para preconcentrar el fenol y realizar una pretratamiento de la muestra totalmente automatizado mediante una extracción líquido-líquido. Con este propósito la solución acuosa de muestra se inyecta en una corriente de cloroformo durante 4 minutos, para reaccionar posteriormente con la 4-aminoantipirina y con el oxidante $K_2S_2O_8$. Finalmente mediante la formación de un complejo colorido en la fase orgánica es posible medir espectrofotométricamente a 460 nm la cantidad de fenol presente en agua natural y de consumo. En este caso el límite de detección alcanzado es de 5 ppb.

Li, et al., [53] incorporan una columna de intercambio catiónica a un sistema de análisis por inyección en flujo para la determinación de fenol en agua de lago contaminada. En primer lugar la disolución de muestra a 40 °C y a pH 8 se inyecta en el portador y se transporta al reactor donde se produce una preconcentración en línea de la misma, a continuación el analito eluído con NaCl reacciona con la 4-aminoantipirina y posteriormente con ferricianuro potásico, formando un derivado coloreado que puede ser detectado espectrofotométricamente a 510 nm. El intervalo de linealidad comprende entre 0.01 y 1.4 mg/L

Zheng-Liang [54] determina la cantidad de fenol en agua mediante un sistema en flujo continuo, que conlleva un proceso de separación en fase sólida con una resina XAD-4 y una extracción líquido-líquido con cloroformo. La muestra a un determinado pH circula continuamente por la columna durante 5 minutos, de forma que el fenol es preconcentrado y se elimina al mismo tiempo interferentes de la matriz. Tras la elución con KOH, el fenol eluído reacciona con la 4-aminoantipirina y el oxidante $K_2S_2O_8$, formándose un derivado coloreado que es extraído con cloroformo, con el propósito de incrementar la selectividad del método. Además, antes del detector se incorpora una membrana hidrofóbica para separar ambas fases y determinar espectrofotométricamente la cantidad de fenol en el extracto orgánico. El intervalo de linealidad se establece con este método desde 0.5 a 60.0 ppb.

Esta misma resina XAD-4 ha sido incorporada por Wen-Lu, et al., [55] a un sistema FIA para la separación-preconcentración de fenol en aguas residuales. En este caso se combina exclusivamente el reactor en fase sólida y la reacción de la 4-aminoantipirina para obtener una adecuada sensibilidad, omitiéndose la extracción líquido-líquido, que requiere el uso de disolventes orgánicos altamente contaminantes. Para llevar a cabo este método analítico se necesita una válvula conmutadora, donde se incluyen dos columnas rellenas de XAD-4, de forma que mientras una columna está en la posición de preconcentración la otra está en elución. Así que, la muestra a pH 2 se preconcentra durante 5 minutos y posteriormente se eluye el analito con la disolución alcalina, para seguidamente reaccionar con la 4-aminoantipirina y el ferricianuro potásico. La cantidad de fenol presente en el agua residual se determina espectrofotométricamente a 490 nm. El intervalo de linealidad se establece entre 0.01 a 1 ppm y el límite de detección alcanzado es de 4 ppb.

2.5 Adición de patrón

El método de adición de estándar consiste en añadir cantidades conocidas de analito al problema, cuyo contenido de analito se quiere determinar. A partir del aumento de señal se deduce cuanto analito había en la muestra problema. En este método se requiere una respuesta lineal frente al analito.

La adición de patrón es especialmente apropiada cuando la composición de la muestra es desconocida o compleja y afecta la señal analítica. La **matriz** es todo lo que hay en el problema, que no sea analito. Se define el **efecto de matriz** como el cambio que experimenta una señal analítica por todo lo que hay en la muestra excepto analito.

En la figura 2 se muestra un fuerte efecto de matriz en el análisis de perclorato $[(ClO_4)^-]$ por espectrometría de masas. Se tiene que controlar el perclorato en agua potable por que por encima de 18 $\mu g/L$ para reducir la producción de hormonas en la tiroides. Disoluciones padrón de $[(ClO_4)^-]$ en agua pura (calidad reactivo) origina la curva de calibrado superior que aparece en la figura 2. La respuesta a disoluciones patrón con la misma concentración de $[(ClO_4)^-]$ en agua subterránea es 15 veces menor, como se ve en la curva inferior. La disminución de la señal de $[(ClO_4)^-]$ es el **efecto de matriz** atribuido a otros aniones presentes en el agua subterránea.

Dado que diferentes tipos de agua subterránea tienen diferentes concentraciones de muchos aniones, no es posible construir una curva de calibrado para este análisis que pueda aplicarse a más de una agua subterránea. Y de ahí que se requiera el método de adición de patrón. Si se añade un pequeño volumen de una disolución concentrada del patrón al problema desconocido, no se modifica mucho la concentración de la matriz. El supuesto que se hace en el método de la adición de patrón es que la influencia de la matriz es la misma que el analito añadido que en el analito original de la muestra problema. [56]

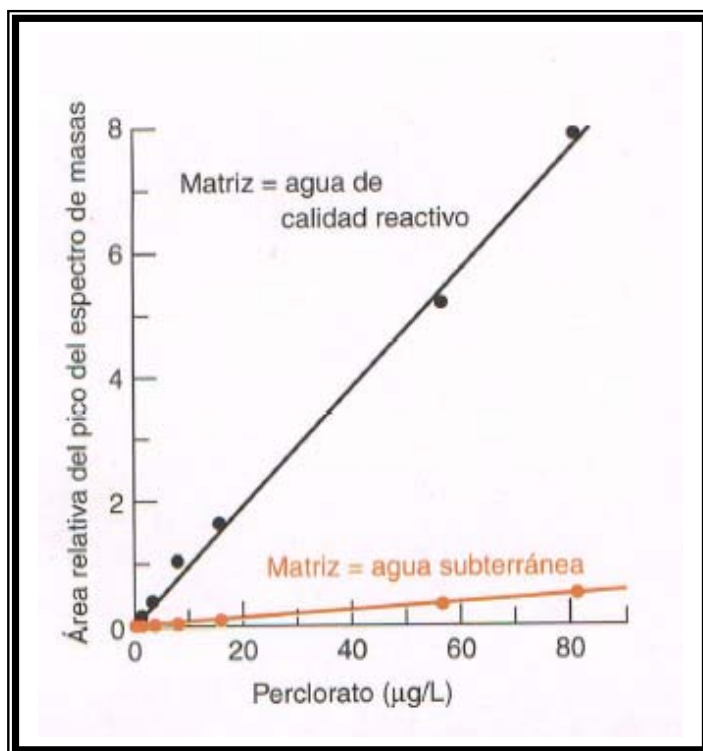


Figura 2. Efecto de matriz en el análisis de $[\text{ClO}_4]^-$

JUSTIFICACIÓN

Baja California colinda al norte con Estados Unidos de América, Sonora y el Golfo de California; al este con el Golfo de California; al sur con Baja California Sur y el Océano Pacífico; al oeste con el Océano Pacífico. El estado de Baja California representa el 3.7% de la superficie del país. (FUENTE: **INEGI**. Marco Geoestadístico, 2000)

El rápido crecimiento de la región Tijuana-San Diego demuestra que en los últimos 50 años se ha transformado el medio ambiente ocasionando diversos problemas de salud. Debido a que California y Baja California comparten el mismo canal de distribución de agua, ambos comparten también la misma responsabilidad relacionada con el tratamiento de aguas residuales. Hasta este momento, salvo pequeñas excepciones, poco se ha hecho por mejorar la calidad de este tipo de agua.

La composición del agua se analiza con diversas mediciones físicas, químicas y biológicas. Las mediciones más comunes incluyen la determinación del contenido en sólidos, la demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5), la demanda química de oxígeno (DQO) y el pH. Los residuos sólidos comprenden los sólidos disueltos y en suspensión. Los sólidos disueltos son productos capaces de atravesar un papel de filtro, y los suspendidos los que no pueden hacerlo. Los sólidos en suspensión se dividen a su vez en depositables y no depositables, dependiendo del número de miligramos de sólido que se depositan a partir de 1 litro de agua residual en una

hora. Todos estos sólidos pueden dividirse en volátiles y fijos, siendo los volátiles, por lo general, productos orgánicos y los fijos materia inorgánica o mineral.

La concentración de materia orgánica se mide con los análisis DBO₅ y DQO. La DBO₅ es la cantidad de oxígeno empleado por los microorganismos a lo largo de un periodo de cinco días para descomponer la materia orgánica de las aguas residuales a una temperatura de 20 °C. De modo similar, la DQO es la cantidad de oxígeno necesario para oxidar la materia orgánica por medio de dicromato en una solución ácida y convertirla en dióxido de carbono y agua. El valor de la DQO es siempre superior al de la DBO₅ porque muchas sustancias orgánicas pueden oxidarse químicamente, pero no biológicamente. La DBO₅ suele emplearse para comprobar la carga orgánica de las aguas residuales municipales e industriales biodegradables, sin tratar y tratadas. La DQO se usa para comprobar la carga orgánica de aguas residuales que, o no son biodegradables o contienen compuestos que inhiben la actividad de los microorganismos. El pH mide la acidez de una muestra de aguas residuales. Los valores típicos para los residuos sólidos presentes en el agua y la DBO₅ del agua residual doméstica aparecen en la tabla adjunta. El contenido típico en materia orgánica de estas aguas es un 50% de carbohidratos, un 40% de proteínas y un 10% de grasas; y entre 6,5 y 8,0, el pH puede variar.

Además que la calidad del agua es de gran trascendencia social, sirve para despertar el interés por la investigación. Muchas son las razones para recomendar vivamente la utilización de métodos normalizados para el análisis de agua purificada, potable y residual, se mencionan las más importantes: La primera es la continua revisión a que están sometidos sus métodos de análisis. A la creciente diversidad de

contaminantes que aparecen en el medio ambiente, se debe responder con una sistemática revisión de la técnica que permita afrontar los nuevos problemas, con métodos actuales, utilizando los más modernos procesos de análisis y el desarrollo instrumental existente.

Los fenoles, definidos como hidroxiderivados del benceno y sus núcleos condensados, pueden estar presentes en las aguas residuales domésticas e industriales (desinfectantes, fungicidas, germicidas y conservadores), en las aguas naturales y en los suministros de agua potable. La cloración de tal agua puede producir clorofenoles olorosos, que producen mal sabor y que son carcinogénicos. Los procesos de eliminación de los fenoles en el tratamiento del agua incluyen la supercoloración, tratamiento con dióxido de cloro o cloramina, la ozonización y adsorción con carbón activado. Para poder realizar de manera adecuada esta eliminación, el prevenir problemas y daños a los ecosistemas, así como de evitar los riesgos a la salud humana es muy importante el conocer cuantitativamente la presencia de éstos. Puesto que existe una gran variedad de compuestos fenólicos, sus efectos en organismos vivos varían según la especie. De forma genérica, los fenoles son sustancias muy tóxicas en estado puro. Por lo general, el fenol se utiliza como producto intermedio diversos procesos de producción, siendo producido y consumido por la propia industria (industria farmacéutica, producción de resinas fenólicas y resinas epoxi, industria petroquímica). En bajas concentraciones causan problemas de olor y sabor en el agua; en altas concentraciones pueden eliminar la vida acuática y humana.

Existe una amplia variedad de compuestos y la ley de Responsabilidad, Compensación y Recuperación Ambiental (CERCLA por sus siglas en inglés) en 2007, los clasifica en base a su toxicidad, el puntaje total es obtenido mediante la suma de los valores obtenidos en base a tres criterios: frecuencia de ocurrencia en los sitios, la toxicidad del compuesto y la exposición potencial para el humano. Los derivados fenólicos más importantes desde el punto de vista del control analítico del agua son: Fenol, 2-Monoclorofenol, 4-Monoclorofenol, 2,4-Diclorofenol, 2,6-Diclorofenol, 2,4,6 -Triclorofenol, Tretraclorofenoles, Pentaclorofenoles, Cresoles, Naftoles.[63]

OBJETIVOS Y METAS

4.1 Objetivo General

El presente proyecto de investigación, propone la implementación de una metodología alternativa al método oficial NMX-AA-050-SCFI-2001 para determinación de fenol, 2-clorofenol, 4-clorofenol y 2,4-diclorofenol en agua purificada.

4.2 Objetivos Específicos

1. Optimizar las condiciones de formación de derivados fenólicos dansilados.
2. Implementar un método por CLAR que permita cuantificar la presencia de derivados fenólicos dansilados.
3. Aplicar los métodos de la 4-aminoantipirina [57] y el propuesto por Chunli Kang et al., [58] para la cuantificación de fenol, 2-clorofenol, 4-clorofenol y 2,4-diclorofenol en muestras de agua
4. Desarrollar una metodología alternativa para la cuantificación de fenol, 2-clorofenol, 4-clorofenol y 2,4-diclorofenol en muestras de agua purificada sin tener que destilar la muestra.
5. Validar la metodología alternativa para la cuantificación de fenol.
6. Comparar la metodología alternativa propuesta con las anteriormente mencionadas.

4.3 Metas

1. Implementar un método analítico alternativo para la cuantificación de fenol, 2-clorofenol, 4-clorofenol y 2,4-diclorofenol en agua purificada por espectrofotometría en la región del visible.
2. Discutir las bondades del método analítico alternativo para la cuantificación de fenol, 2-clorofenol, 4-clorofenol y 2,4-diclorofenol en agua purificada por espectrofotometría en la región del visible.
3. Obtener del grado de Doctora en Ciencias.
4. Difundir la investigación a nivel nacional e internacional por medio de publicaciones y participación en congresos.
5. Fortalecer el Cuerpo Académico de Química Aplicada.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

5.1 EQUIPO, MATERIALES REACTIVOS Y DISOLUCIONES

5.1.1 Equipo y material

- a) Espectrofotómetro DR4000 marca HACH con adaptador para celdas de vidrio con tapón de rosca
- b) Cromatógrafo de líquidos acoplado con detector de Fluorescencia marca Perkin Elmer serie 200 y UV/VIS modelo 785^a, Bomba Binaria Perkin Elmer serie 200, Interface NCI 900 PE Nelson, Columna Supelcosil C18 de 25 cm
- c) Waters 1525 Binary HPLC puma, Detector de arreglo de diodos modelo 2996 marca Waters, Detector de fluorescencia modelo 2475 marca Waters, Detector de absorbancia modelo 2487 marca Waters
- d) Espectrofluorómetro modelo RF-5301 PC marca Shimadzu con microcelda de 150 μL de capacidad.
- e) Potenciómetro marca Orion modelo 525 A, con electrodo para pH
- f) Balanza analítica marca Scientech con capacidad de $120 \pm 0.0001\text{g}$
- g) Digestor para tubos con rosca marca HACH con ajuste de temperatura hasta 150°C . Digestor para tubos eppendorf marca VWR con regulador digital de temperatura hasta $150 \pm 0.1^\circ\text{C}$.
- h) Micropipetas marca Ependorf de volumen variable, rangos: 10 a 20, 20 a 100 y de 100 a 1000 μL

5.1.2 Reactivos y disoluciones

Ampolleta estándar de compuestos fenolicos en diclorometano, Supelco, Fenol 99.5% pureza Aldrich, 2-clorofenol 99% Aldrich, 4-clorofenol 99% Aldrich, 2,4 Diclorofenol 99% Aldrich, Acetonitrilo grado HPLC Fermont, Metanol grado HPLC Fermont, Diclorometano grado HPLC Fermont, Acido acético grado HPLC Fisher Scientific, Acido clorhídrico 37% de pureza Mallinckrodt Inc., Cloroformo 99.8% de puereza Fermont, Carbonato de sodio monohidratado 99.9% pureza Mallinckrodt Inc, Bicarbonato de sodio 100% pureza Mallinckrodt Inc, Hidróxido de sodio 97.8% de pureza Productos Monterrey, Cloruro ferrico hexahidratado 99% pureza Mallinckrodt Inc., Ferricianuro de potasio 99% pureza JT Baker Chemical Co., Clorhidrato de hidroxilamina 99.8% pureza Mallinckrodt Inc., 4-aminoantipirina pureza marca, Cloruro de dansilo 95% pureza grado TLC Sigma, Acido clorhídrico pureza, marca, Acido acético, Agua destilada grado HPLC Spectrum., Nitroferricianuro de sodio dihidratado 100.8% pureza Mallinckrodt Inc., Fosfato dibásico de potasio 99.5% pureza JT Baker Chemical Co., Cloruro de amonio 99.9% pureza JT Baker Chemical Co, Sulfato de sodio anhidro 99.9% pureza Mallinckrodt Inc., Composición de la fases móviles acetonitrilo: acido acético al 1%, metanol: acido acético al 1%.

5.2 METODOLOGÍA

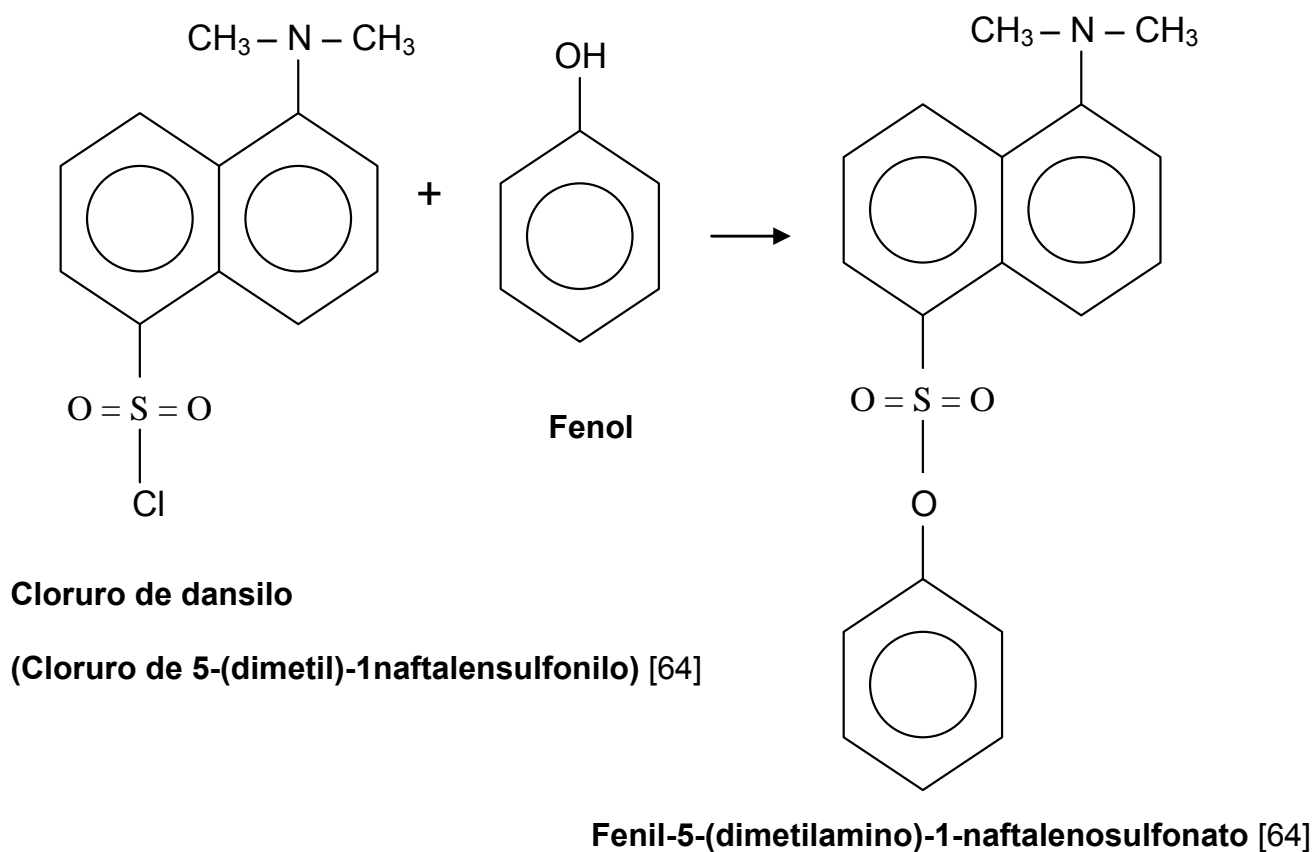
El fenol y sus derivados son serios contaminantes del agua. Pequeñas cantidades de fenoles influyen directamente en el sabor y el olor del agua. La cromatografía en fase reversa utiliza las propiedades de solubilidad de la muestra para distribuirla entre un solvente hidrofílico y otro lipofílico. La distribución de los componentes de la muestra entre las dos fases va a depender de sus respectivas características de solubilidad. Los componentes menos hidrofóbicos se asociaran primeramente con la fase hidrofílica, y los componentes mas hidrofóbicos se encontraran en la fase lipofílica, esta metodologia acoplada a un detector de fluorescencia la hace mas eficiente y sensible. Los métodos basados en medidas de absorbancia UV-Visible son muy útiles, además proporcionan una buena estimación de la concentración total de fenoles que es el parámetro que está legislado. Esto es importante cuando el número de muestras que deben ser procesadas es elevado, permiten reducir costos y ahorrar tiempo en el laboratorio. En este sentido las posibilidades que se han planteado son:

5.2.1 Preparación de derivados fluorescentes

Se seleccionan 40 μL de cada uno de los compuestos fenólicos en recipientes independientes, se adicionan 400 μL de solución amortiguadora de carbonatos a pH 11 y se procede a digerir a 80 $^{\circ}\text{C}$ durante 20 minutos. Posteriormente, se agregan 160 μL de disolución de cloruro de dansilo (240 $\mu\text{g}/\text{mL}$), seguido de una digestión por un periodo adicional de 20 minutos a 80 $^{\circ}\text{C}$. Finalmente se enfría y se obtiene el

espectro de fluorescencia correspondiente a cada muestra con el espectrofluorómetro para determinar la longitud de onda de absorción y emisión.

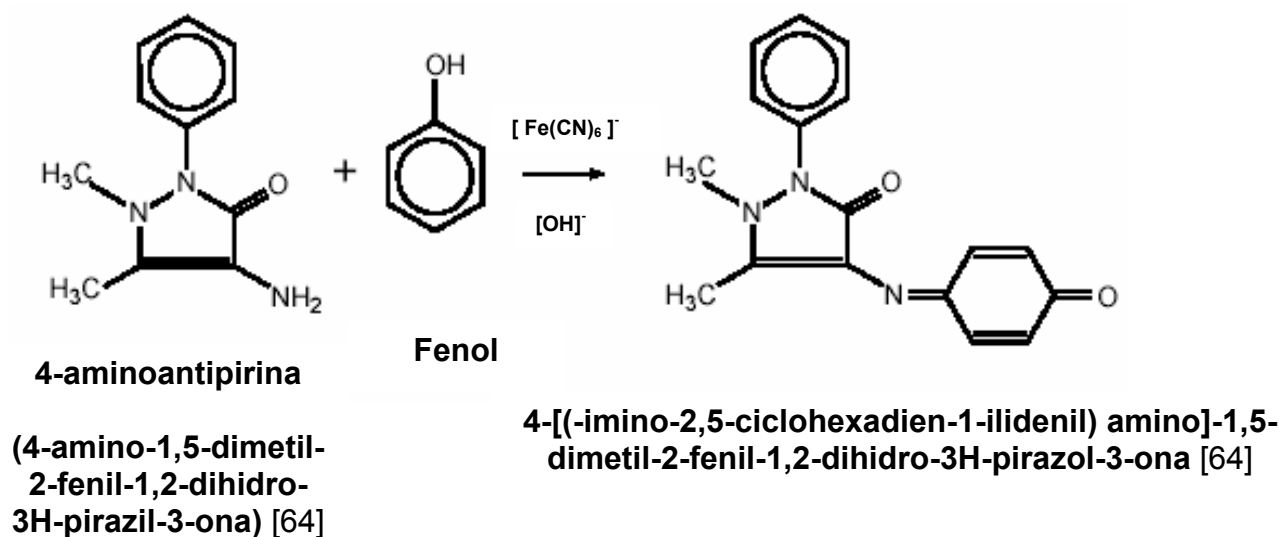
Inyectar los derivados preparados al cromatógrafo de líquidos acoplado con detector de fluorescencia ($\lambda_{\text{excitación}} = 360 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{emisión}} = 530 \text{ nm}$) y UV ($\lambda_{\text{absorción}} = 280 \text{ nm}$) usando el siguiente gradiente: Acético: acetonitrilo inicial 70:30 (v/v), 20 min 20:80 (v/v), 30 min 0:100 (v/v), con el fin de lograr la mejor resolución de los picos. La reacción que se lleva a cabo es la siguiente:



5.2.2 Método espectrofotométrico de la 4-aminoantipirina

Colocar 500 mL de muestra destilada en base a la norma mexicana [57] en un vaso de precipitado de 1000 mL, se añaden 10.0 mL de disolución de cloruro de amonio

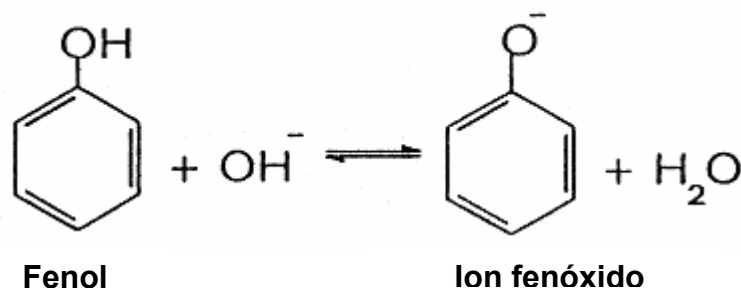
(50 mg/mL) se coloca un magneto y se agita por 5 minutos, se ajusta inmediatamente el pH entre 10 ± 0.2 con disolución de hidróxido de sodio (100 mg/mL). Posteriormente, se realiza la transferencia a un embudo de separación de 1 L, se agregan 3.0 mL de disolución de 4-aminoantipirina (20 mg/mL), agite hasta homogenizar y adicione 3.0 mL de disolución de ferricianuro de potasio (80 mg/mL), homogenicé nuevamente por agitación y deje reposar por 15 min; hasta que se lleve a cabo la reacción y se desarrolle el color, el cual es indicativo de que ha llegado a su término. El producto de reacción, se extrae de manera inmediata en un embudo de separación con 20 mL de cloroformo. Agitar el embudo al menos 10 veces y dejar que el cloroformo se ubique nuevamente en el fondo del embudo, filtrar el extracto de cloroformo a través de un papel filtro y embudo de vidrio que contenga una capa de 5 g de sulfato de sodio anhidro, recolectando el filtrado en un matraz volumétrico de 25 mL. Aforar el matraz con cloroformo (no lavar el papel filtro ni el embudo con cloroformo). Medir la absorbancia de las disoluciones a $\lambda = 460$ nm utilizando celdas con paso óptico de 1 a 5 cm. La reacción que se lleva a cabo es la siguiente:

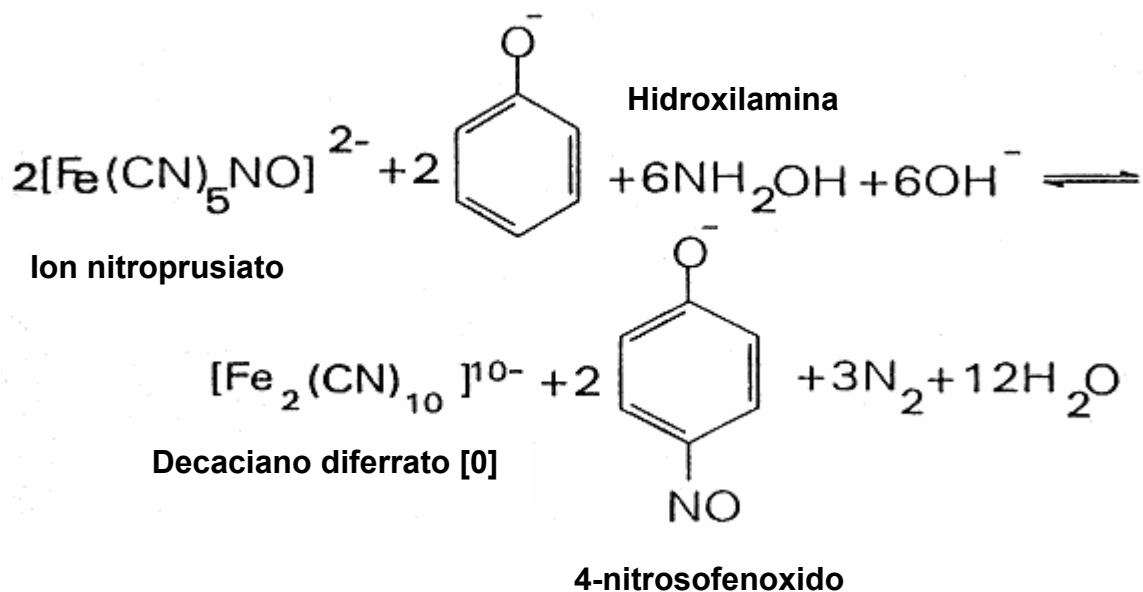


5.2.3 Método espectrofotométrico propuesto por Chunli Kang et al.,

(2000)

Preparar disoluciones de cada compuesto de fenol o clorofenoles en matraces volumétricos de 10 mL en un rango de 0.05 a 5 µg/mL agregar los microlitros correspondientes de la disolución estándar (10 µg/mL) y aforar con agua destilada, coloque cada una de las disoluciones en una celda de vidrio con tapa de rosca a la par preparar una celda adicional con agua destilada a fin de que sea el blanco, a cada celda adicionar 1 mL de disolución de nitroferricianuro de sodio dihidratado (2980 µg/mL), 1 mL de clorhidrato de hidroxilamina (2780 µg/mL) y 3 mL de disolución reguladora de fosfatos a pH 12, agitar vigorosamente a fin de promover la homogeneización de la mezcla. Se deja reposar un período de 15 min para que se efectúe la reacción, y tomar la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro a $\lambda = 700$ nm. La reacción que proponen se lleva a cabo es la siguiente:



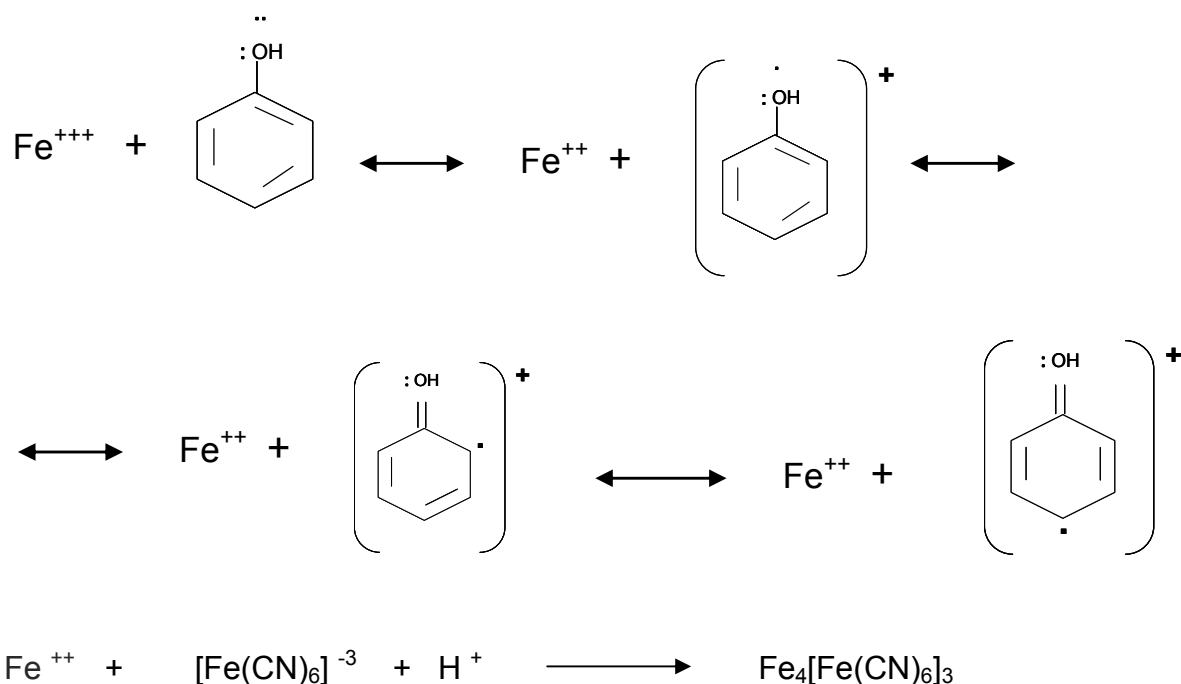


5.2.4 Método espectrofotométrico modificado propuesto en esta tesis

Colocar los microlitros correspondientes de la disolución estándar (10 µg/mL) de cada de compuesto de fenol o clorofenol en un rango de 0.01 a 5 µg/mL , en una celda de vidrio con tapón de rosca y agregar 5 mL de agua destilada, a la par prepare un blanco de reactivos. A cada celda agregar 500 µL de disolución de cloruro ferrico (56.6 mg/mL), 500 µL de ferricianuro de potasio (6.64 mg/mL), agitar vigorosamente y esperar que la reacción se lleve a cabo en la oscuridad por un tiempo de 5 minutos, posteriormente adicionar 500 µL de ácido clorhídrico (1 M), agitar para realizar una homogeneización y se deja en reposo en la oscuridad por un periodo de 15 minutos para que se lleve a cabo la reacción y finalmente tomar la lectura de absorbancia a $\lambda = 720$ y $\lambda = 770$ nm. A fin de evaluar el grado de estabilidad de la reacción, se dejan transcurrir 15 minutos adicionales en la

oscuridad y se repite el proceso de lectura de absorbancia, bajo mismas condiciones, agitando las celdas antes de tomar las lecturas; de tal forma que se tiene datos a 15 y 30 min.

Para el procesar de muestras de agua purificada se siguen los mismos pasos, solo se reemplaza el agua destilada por la muestra a analizar.



Ferrocianuro férrico

5.2.5 Puntos de muestreo

La selección de los puntos de muestreo se considero en función a las zonas con baja urbanización, altamente pobladas y cuya forma de expender el agua purificada es mediante el uso de depósitos de plástico expuestos al sol, para tal efecto se han elegido 18 zonas de muestreo distribuidas en dos delegaciones cuyos nombres son: La Presa y el Centenario por otro lado se tienen 2 zonas que se consideran plantas purificadoras de agua. En la tabla 4 se indican los nombres de los lugares de

muestreo de agua purificada y los puntos 17 y 18 son lugares que se consideran plantas purificadoras.

Tabla 4. Puntos de muestreo de agua purificada.

Muestra	Nombre del lugar	Ubicación	Distribuidor
1	Mi Farmacita	Ruta Mariano, Ruta independencia	*****
2	Carnicería el Dorado	Baylon Chacon, Mariano	Ultra Pura
3	Abarrotes Reyna	Lázaro Cárdenas, Mariano	Ultra Pura
4	Mini Market 3jO	Real de San Francisco, Ejido Villa	El Manantial
5	Abarrotes Che Che	Alta Tensión, Ejido Villa	*****
6	Abarrotes García	Nayarit, Ejido Villa	Mas Pura
7	Abarrotes Chato	Venadito, Ejido Villa	Ultra Pura
8	Abarrotes Esmeralda	Ejido Villa	*****
9	Abarrotes Angelina	Romero Norte, Morita 2	Mas Pura
10	Abarrotes La nenas	Fresa, Morita 2	Mas Pura
11	Abarrotes Laurita	Buenos Aires, Las Torres	Agua Clara
12	Sin nombre	Mezquite Rinconada 1	Purificadora River
13	Carnicería La Pequeña	Chabacanos Rinconada 2	Ultra Pura
14	Internet El marcianito	Chamizos Rinconada 2	Ultra Pura
15	Abarrotes Mi Chui	Chamizos Rinconada 2	Purificadora Rivera
16	Tortillería Sinaloa	Altamirano, El Aguilón	Purificadora River
17	Purificadora La Cascada	Av. Las Torres	La Cascada
18	Agua purificada Fresk	Imperial Las Torres	Fresk
19	Abarrotes Hernández	26 de Septiembre, Insurgentes	Agua Clara
20	Abarrotes S/N	25 de Septiembre, 10 de Mayo	Purificadora River

RESULTADOS Y DISCUSION

6.1 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA

6.1.1 Espectros de fluorescencia de los compuestos fenólicos puros

Los espectros de fluorescencia nos permiten obtener las longitudes de onda de excitación y emisión de cada uno de los compuestos puros, así como su intensidad fluorescente la cual es proporcional a la concentración. En las figuras de la 3 a la 7 se muestran los espectros de fluorescencia de: fenol, 2-clorofenol, 4-clorofenol 2,4-diclorofenol, 3-nitrofenol, 4-nitrofenol y del 2,4-dinitrofenol; en las cuales se puede apreciar la longitud de excitación y de emisión.

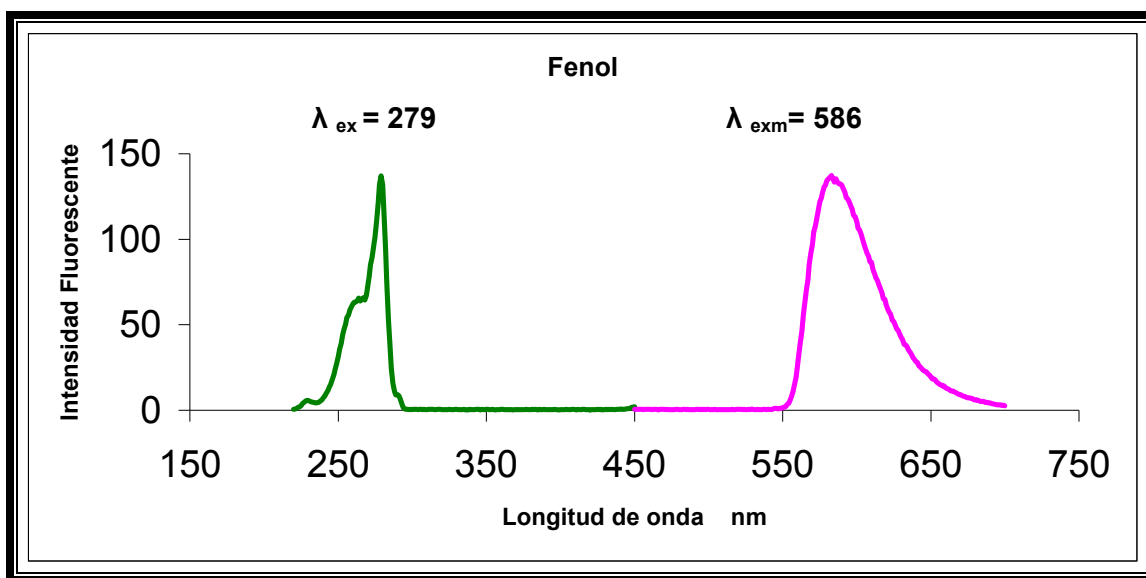


Figura 3. Espectro de fluorescencia de fenol

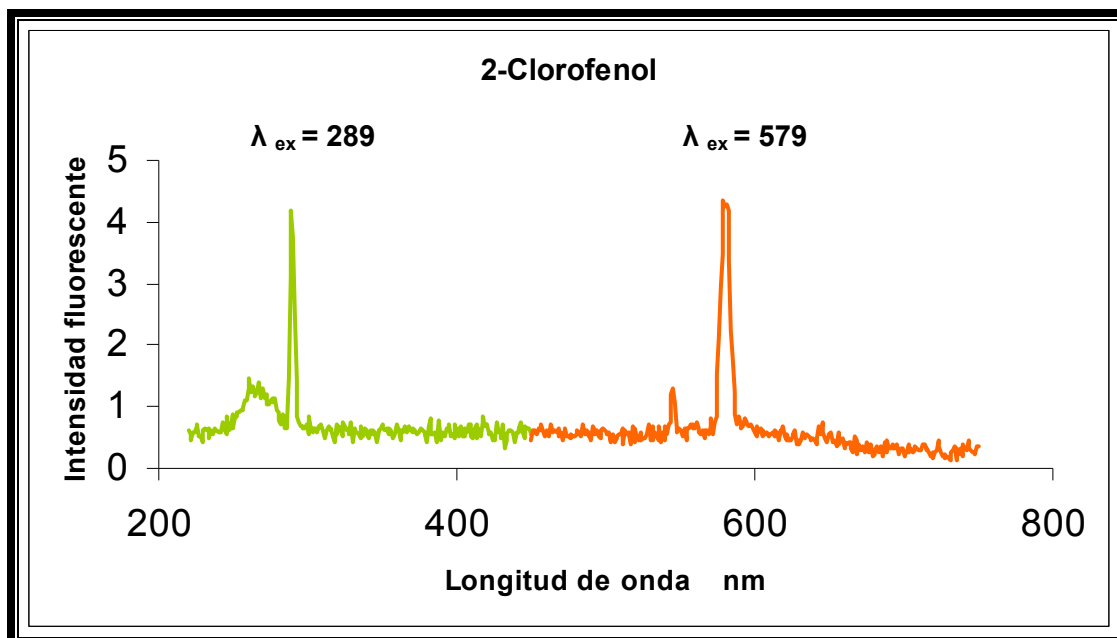


Figura 4. Espectro de fluorescencia de 2-clorofenol

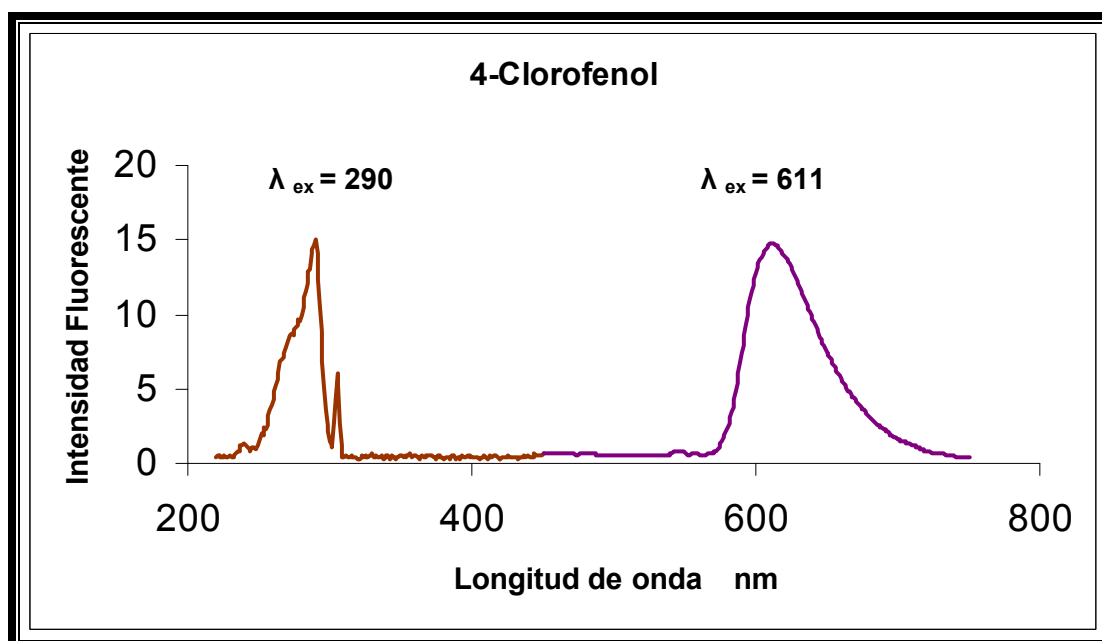


Figura 5. Espectro de fluorescencia de 4-clorofenol

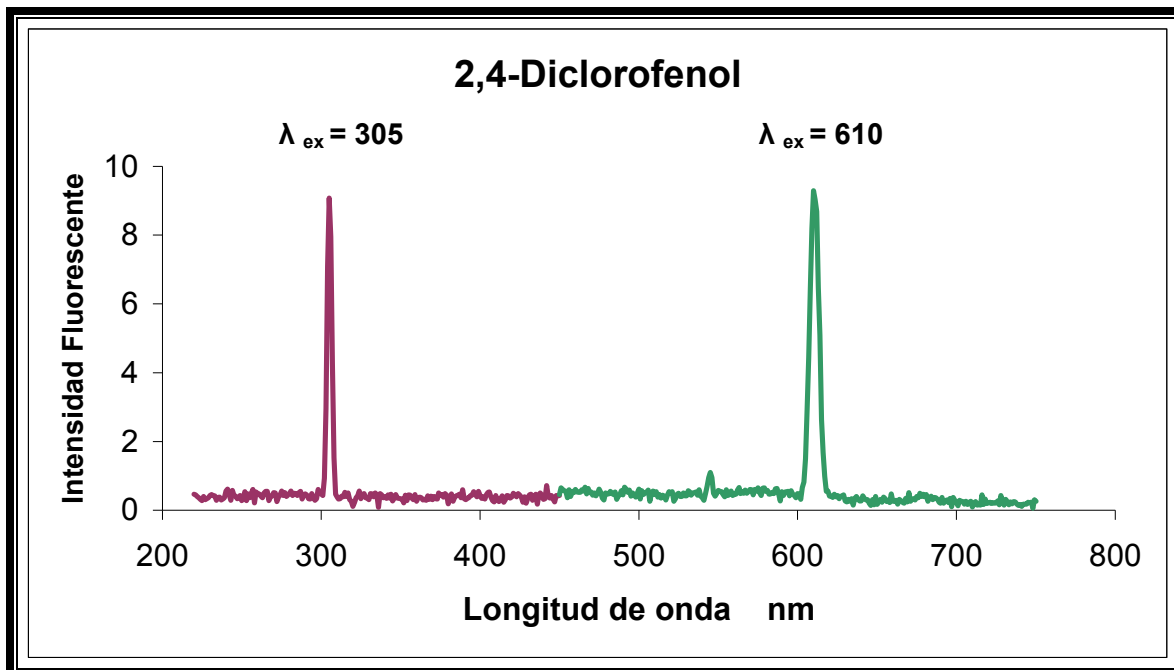


Figura 6. Espectro de fluorescencia de 2, 4-diclorofenol

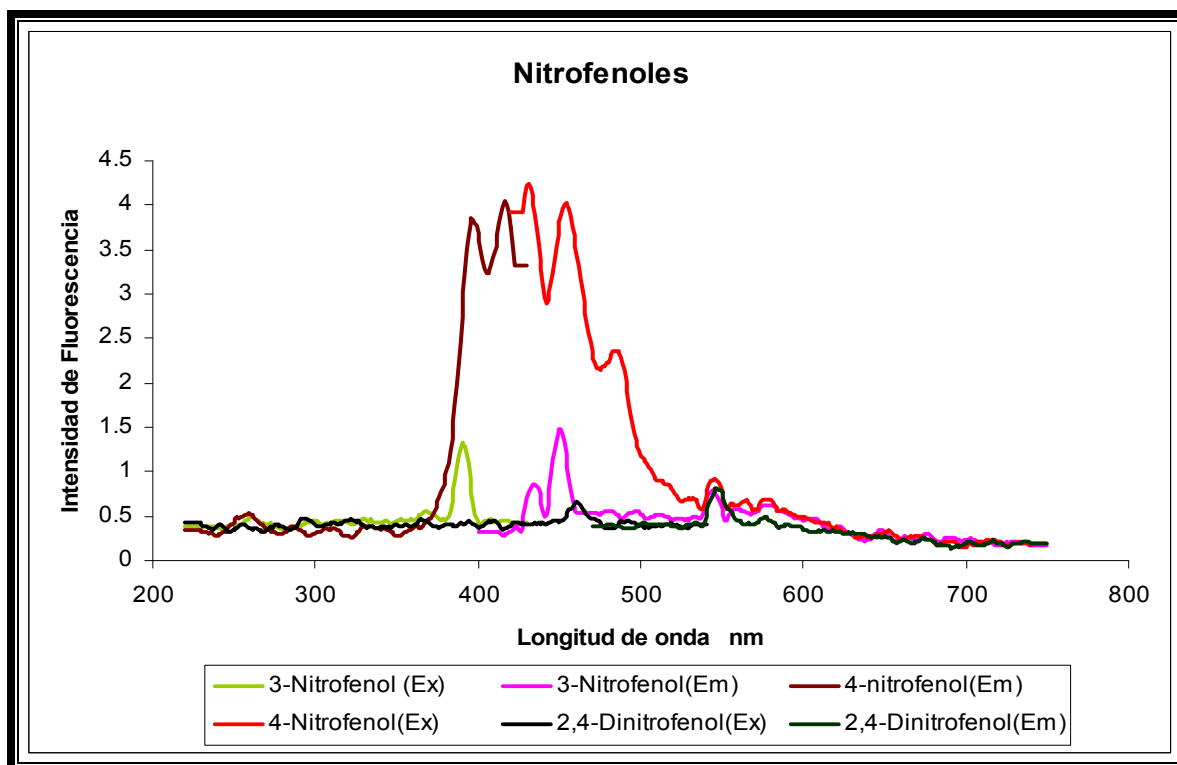


Figura 7. Espectros de fluorescencia para Nitrofenoles

En la tabla 5 se muestra las longitudes de excitación y de emisión de los compuestos puros, así como su intensidad fluorescente. El fenol es el compuesto que presenta mayor intensidad fluorescente, esto al efecto del pH y a la estabilidad de las formas resonantes del fenol; la intensidad fluorescente en los clorofenoles disminuye enormemente debido a la presencia del sustituyente halogenado; para los nitrofenoles el grupo nitro abate la señal fluorescente de los compuestos.

Tabla 5. Longitudes de excitación y emisión de los compuestos puros

Compuesto	Excitación λ nm	Intensidad Fluorescente	Emisión λ nm	Intensidad Fluorescente
Fenol	279	137.202	586	135.507
2-clorofenol	289	4.178	579	4.348
4-clorofenol	290	14.981	611	14.776
2,4-diclorofenol	305	9.081	610	9.292
3-nitrofenol	392	1.285	544	0.789
4-nitrofenol	397	3.840	454	4.029
2,4-dinitrofenol	461	0.655	547	0.817

6.1.2 Espectros de fluorescencia de los derivados fenólicos dansilados.

En las figuras de la 8 a la 11 se muestran los espectros de fluorescencia de los derivados dansilados de: fenol, 2-clorofenol, 4-clorofenol y del 2,4-diclorofenol. Al llevar a cabo la formación de los derivados fenólicos dansilados se observa que las longitudes de excitación se desplazan a longitudes de onda más largas en cambio la longitud de emisión se acorta.

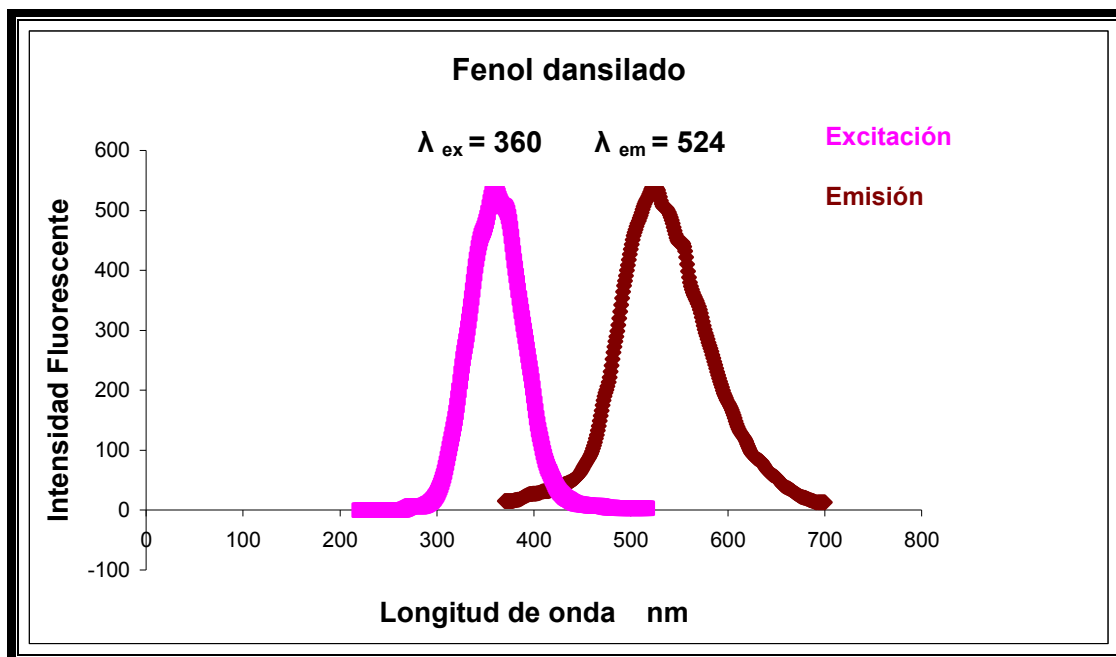


Figura 8. Espectro de fluorescencia del fenol dansilado

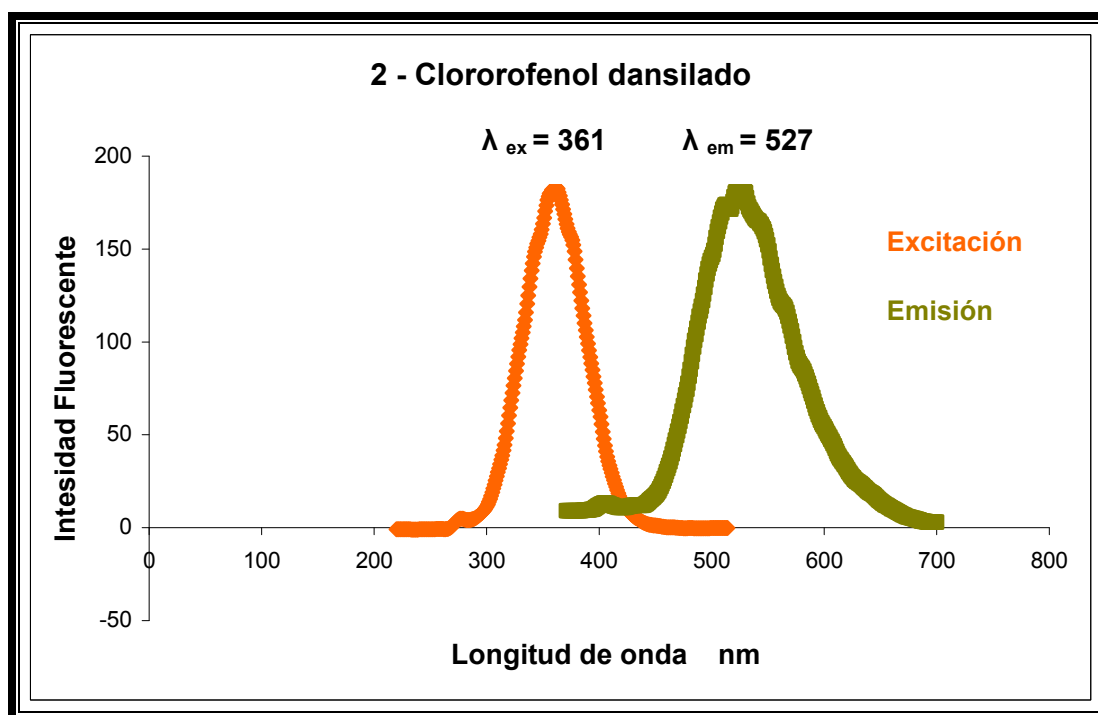


Figura 9. Espectro de fluorescencia del 2-clorofenol dansilado

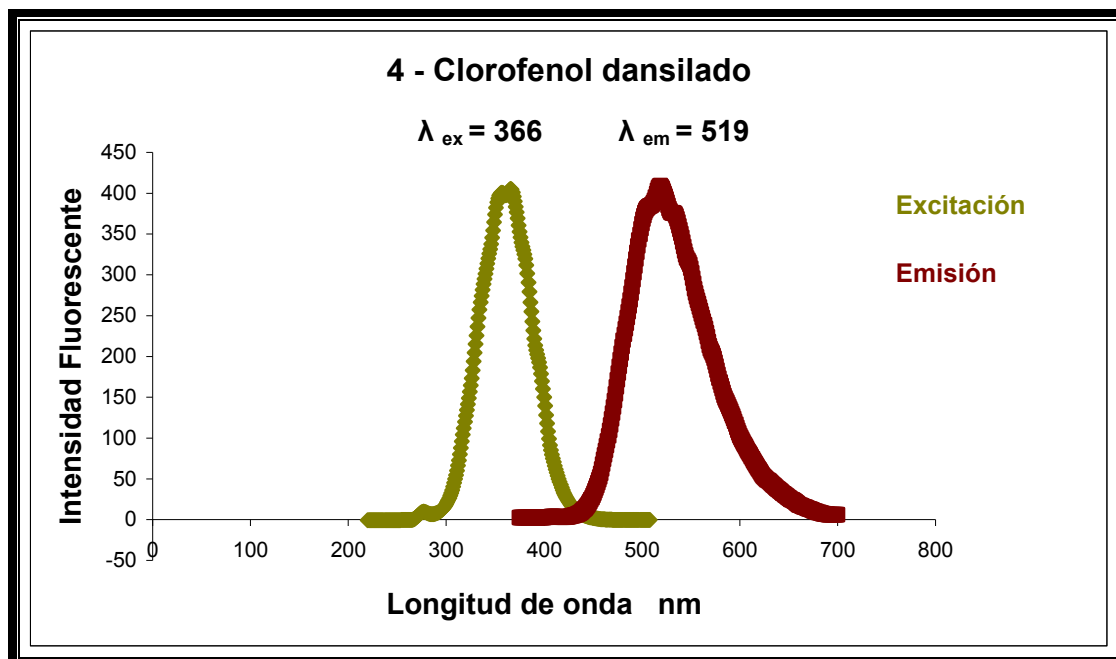


Figura 10. Espectro de fluorescencia del 4-clorofenol dansilado

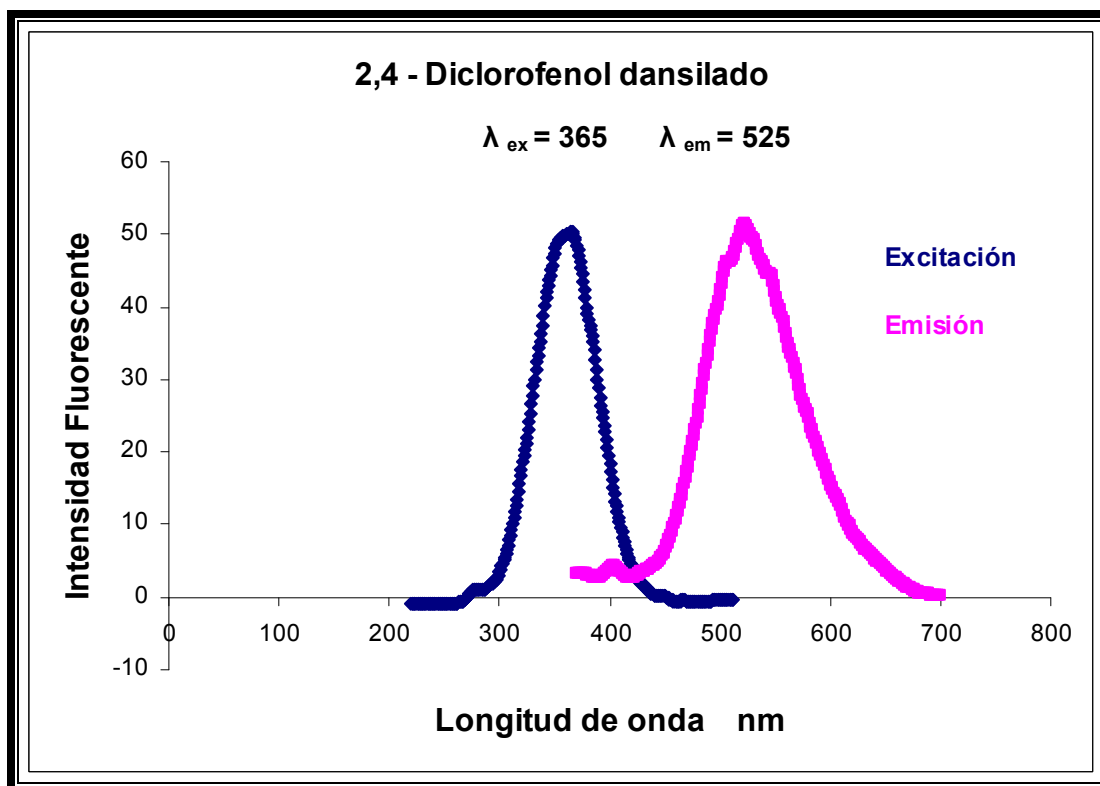


Figura 11. Espectro de fluorescencia del 2,4-diclorofenol dansilado

En la tabla 6 se puede apreciar como mejora en gran medida la intensidad fluorescente de los compuestos fenólicos cuando se encuentran acoplados al cloruro de dansilo; esto es debido al efecto de rigidez estructural que le infiere. Los derivados de los compuestos nitrados se prepararon bajo la misma metodología, encontrando que las intensidades fluorescentes son muy bajas, razón por la cual no se incluyen los espectros de fluorescencia de los derivados dansilados.

Tabla 6. Longitudes de excitación y emisión de los derivados fluorescentes

Derivado	Excitación λ nm	Intensidad Fluorescente	Emisión λ nm	Intensidad Fluorescente
Fenol	360	537.474	524	540.255
2-clorofenol	361	183.455	527	184.790
4-clorofenol	366	405.549	519	409.124
2,4-diclorofenol	365	50.399	525	50.880

En la figura 12 se compararon las intensidades fluorescentes de los 4 derivados dansilados formados y nuevamente, el compuesto con mayor fluorescencia es el derivado de fenol y el de menor intensidad fluorescente es el derivado del 2,4 diclorofenol debido a la disminución del rendimiento cuántico que le infieren los sustituyentes halogenados.

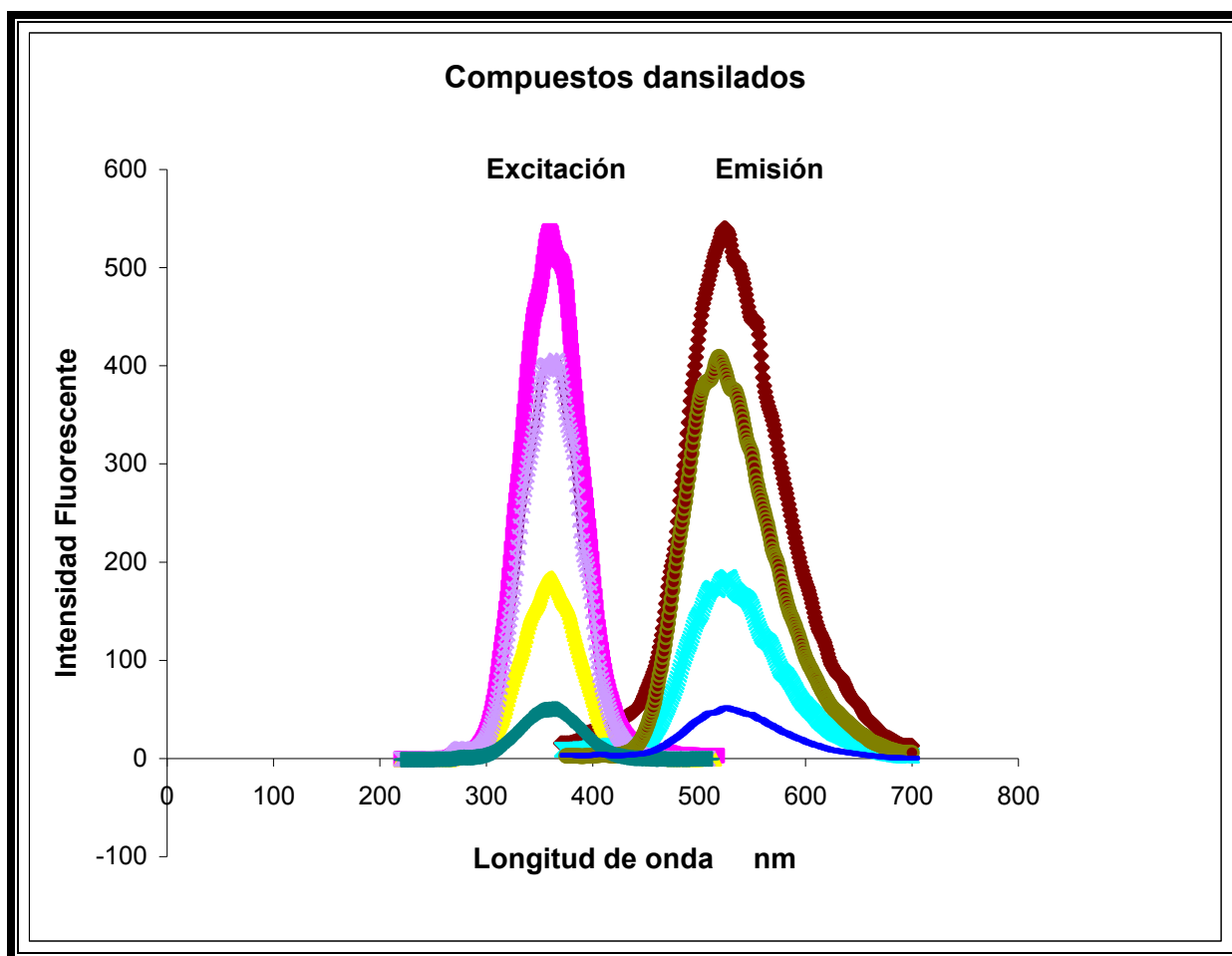


Figura 12. Comparación de intensidad fluorescente de compuestos fenolicos dansilados

6.2 SEPARACION CROMATOGRAFICA POR CLAR

6.2.1 Identificación cromatográfica de los compuestos fenólicos puros

Para identificar los tiempos de retención de cada uno de los analitos se inyectaron por separado cada uno de los compuestos puros en el cromatografo de líquidos acoplado con detector de arreglo de diodos a una longitud de onda de 280 nm, la cual fue seleccionada debido a que los compuestos estudiados presentan absorción en este punto. En las figuras del 13 a la 18 se muestran los cromatogramas de los analitos, fenol, clorofenoles y nitrofenoles con sus respectivos tiempos de retención.

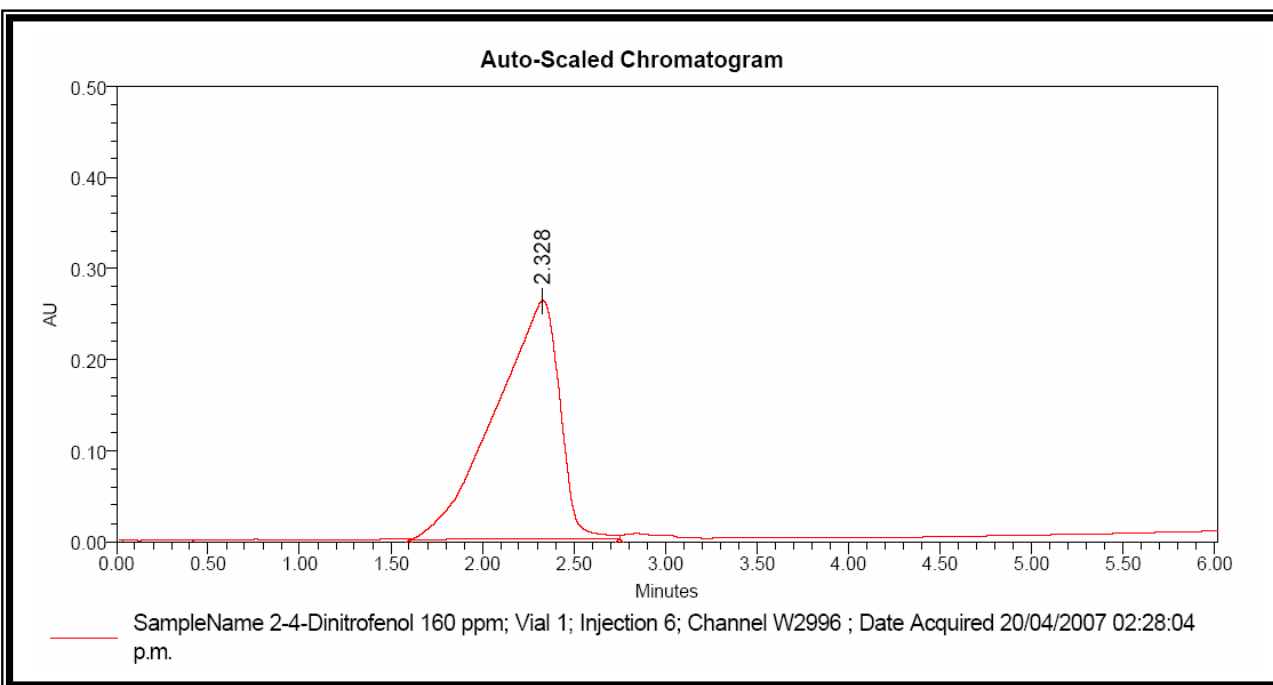


Figura 13. Cromatograma del 2,4 Dinitrofenol

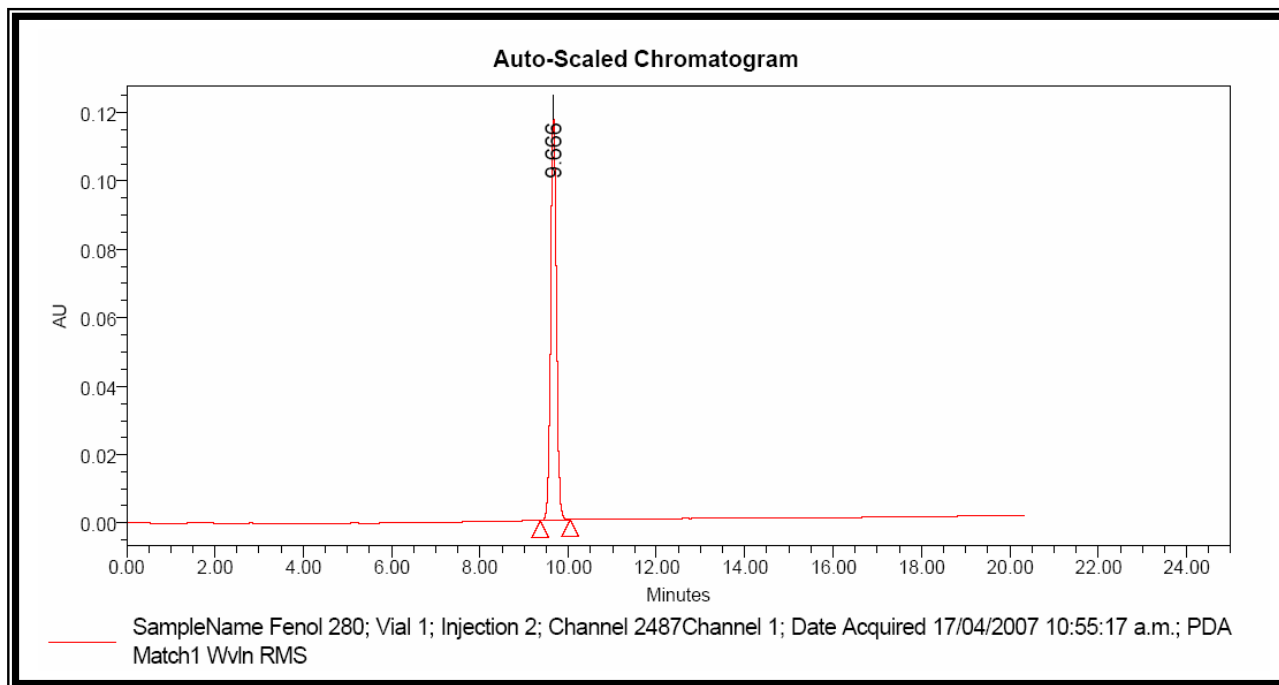


Figura 14. Cromatograma de fenol

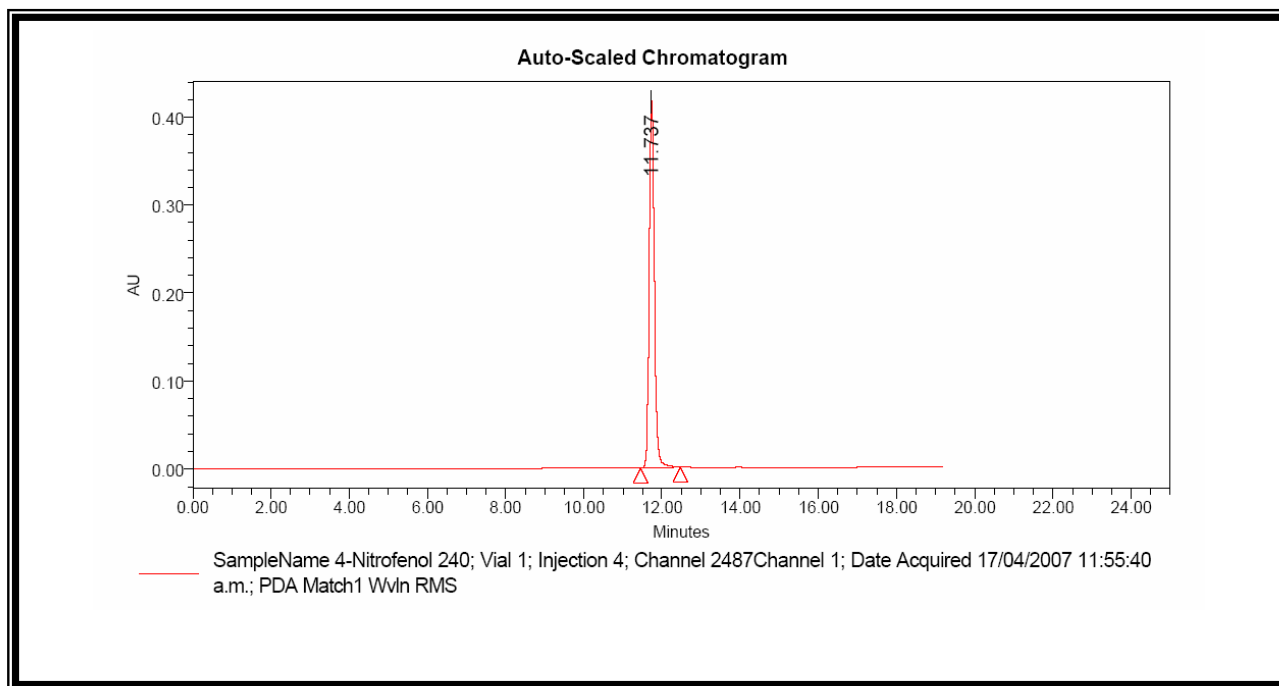


Figura 15. Cromatograma de 4-nitrofenol

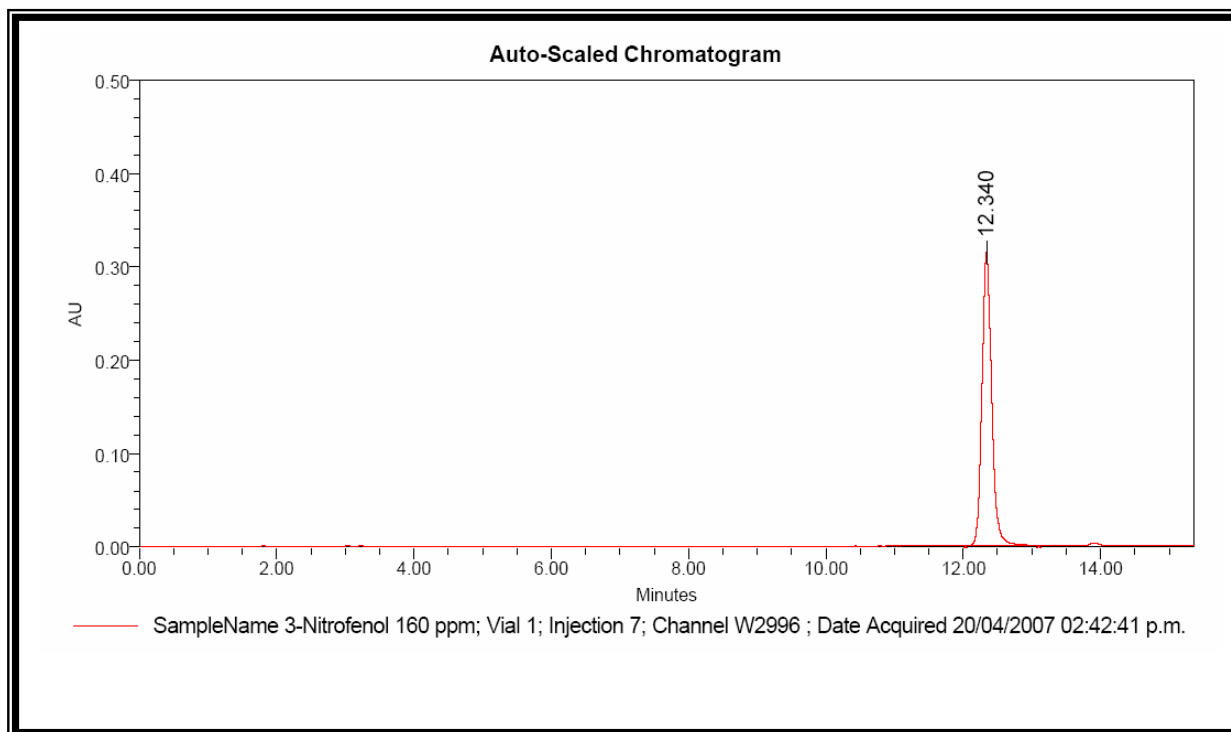


Figura 16. Cromatograma de 3-nitrofenol

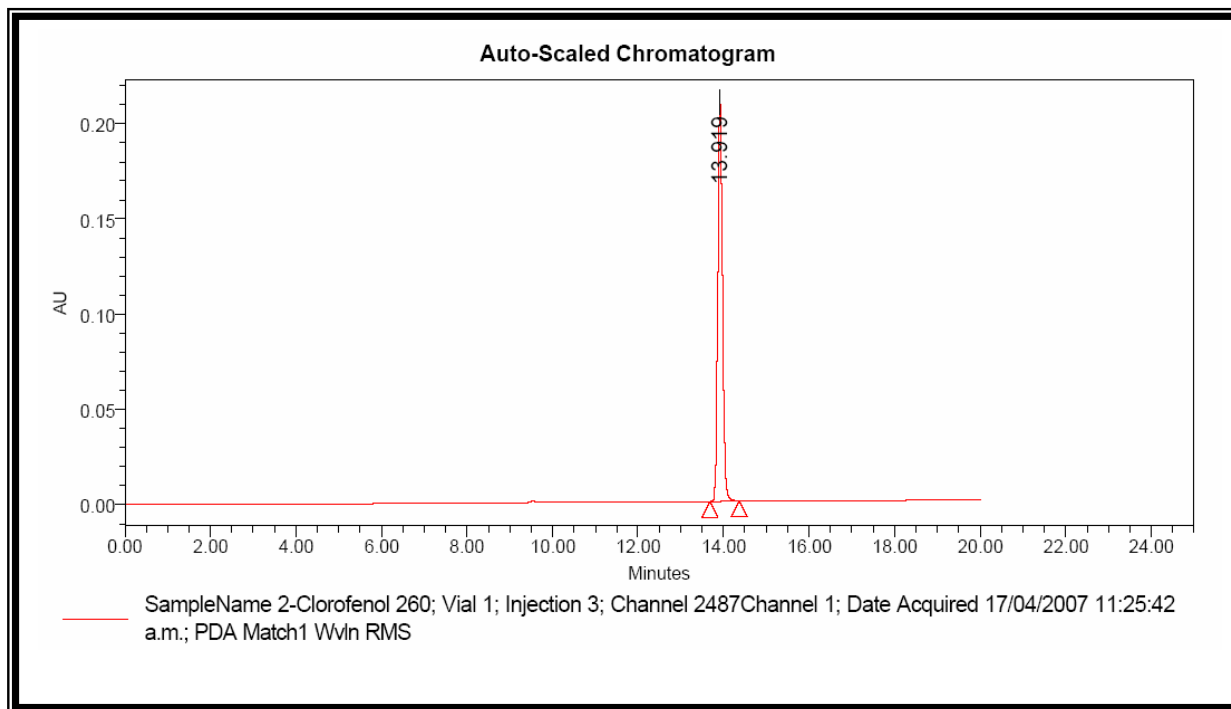


Figura 17. Cromatograma de 2-clorofenol

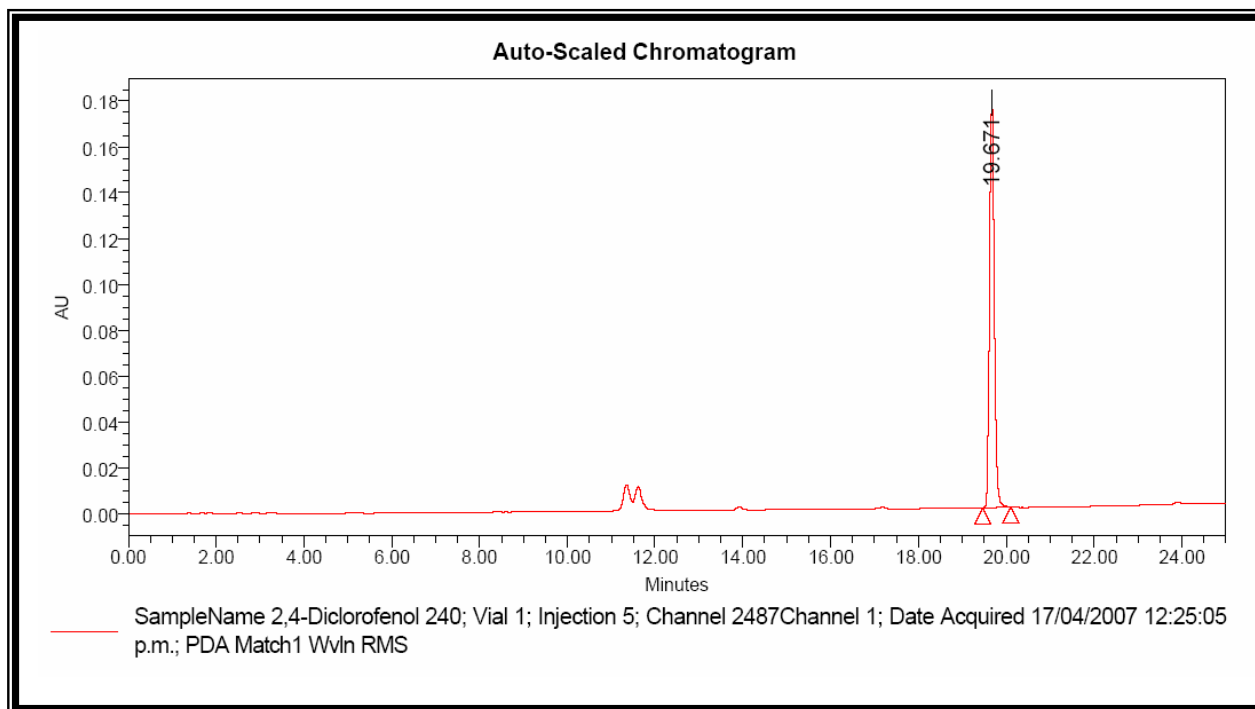


Figura 18. Cromatograma de 2,4- Diclorofenol

En la tabla 7 se puede apreciar el orden de elusión de los compuestos fenólicos puros cuando se inyectan por separado al cromatógrafo de líquidos con detector de arreglo de diodos.

Tabla 7. Tiempo de retención de los compuestos fenólicos puros

Compuesto	Tiempo de retención
2,4-dinitrofenol	2.328
Fenol	9.666
4-nitrofenol	11.737
3-nitrofenol	12.340
2-clorofenol	13.919
2,4-diclorofenol	19.671

6.2.2 Identificación cromatográfica de compuestos puros en una mezcla

Para conocer el comportamiento de los analitos cuando se encuentran mezclados en una disolución, se inyectaron al cromatógrafo de líquidos con detector de arreglo de diodos diferentes mezclas conteniendo al 2,4 dinitrofenol, fenol, 4-nitrofenol, 3-nitrofenol, 2-clorofenol y 2,4 diclorofenol; variando la concentración en dichas mezclas. Los cromatogramas con sus respectivos espectros de absorción obtenidos se presentan en las figuras del 19 a la 28.

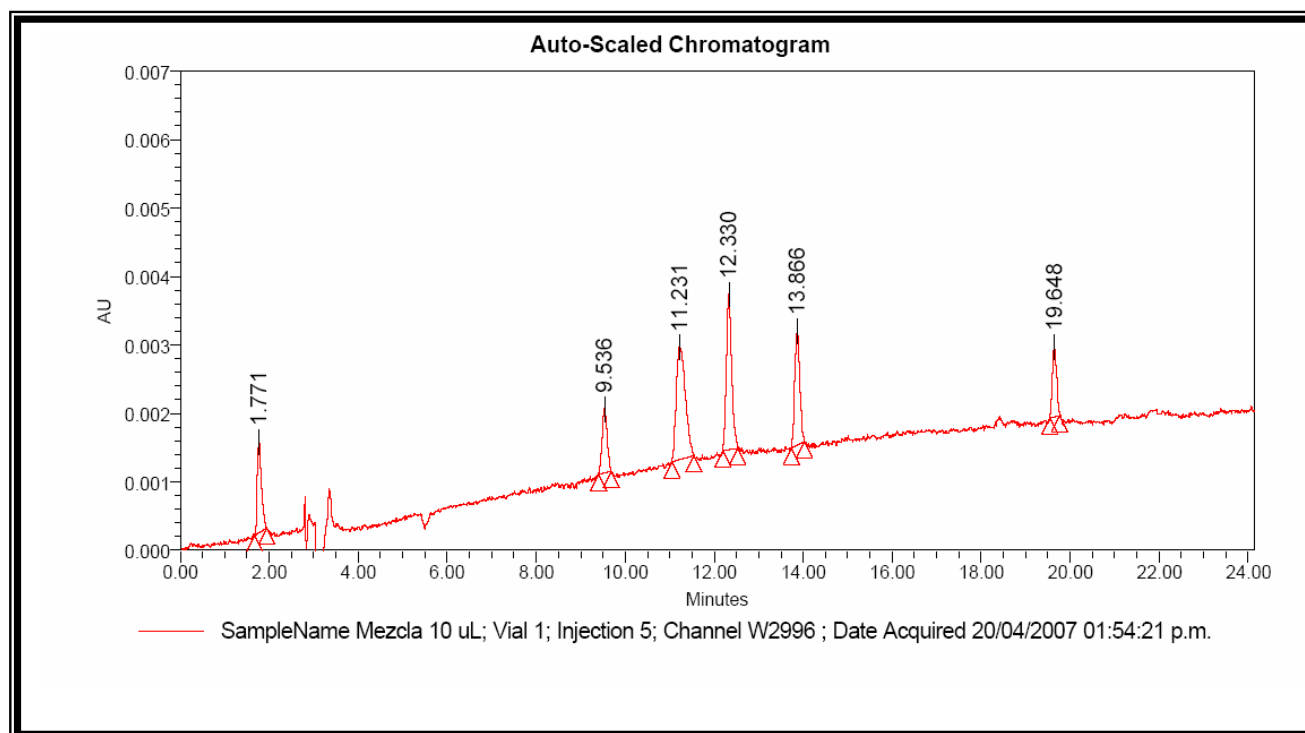


Figura 19. Cromatograma de mezcla 10 μ L de mezcla de fenoles

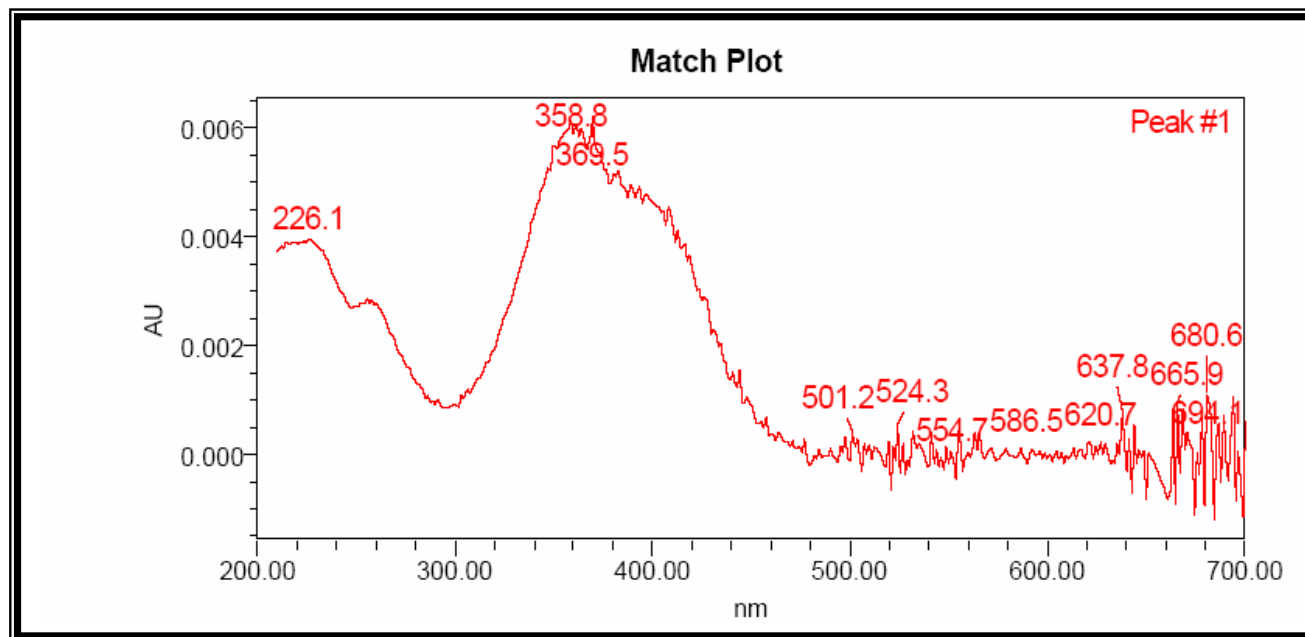


Figura 20. Espectro de absorción del 2,4 Dinitrofenol

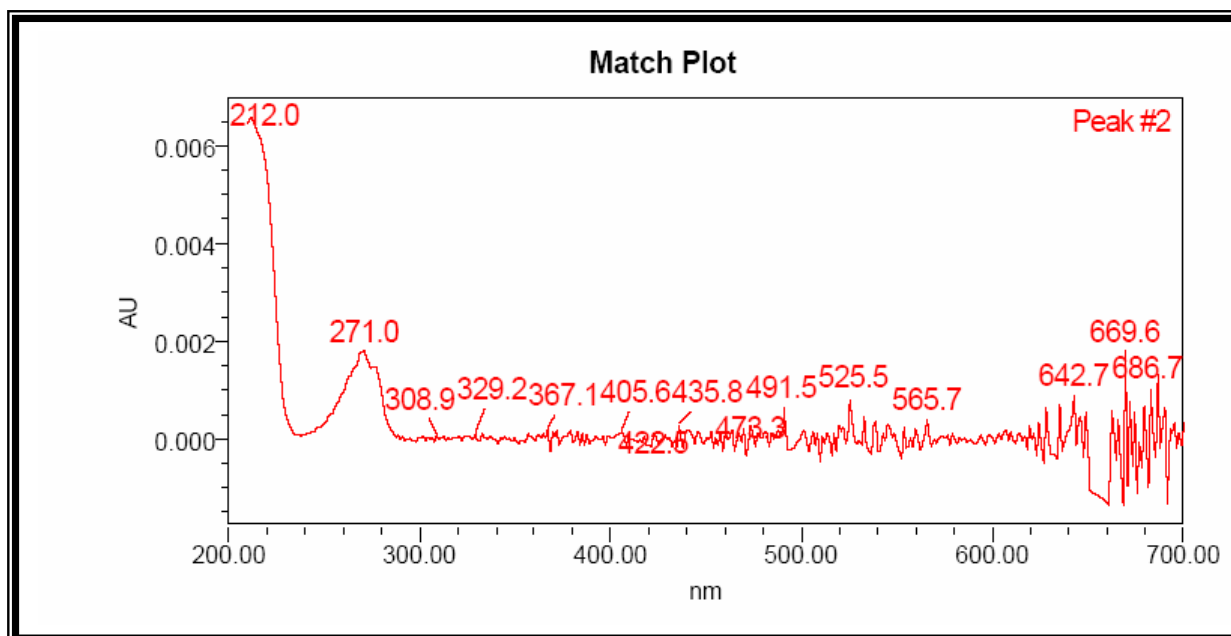


Figura 21. Espectro de absorción del Fenol

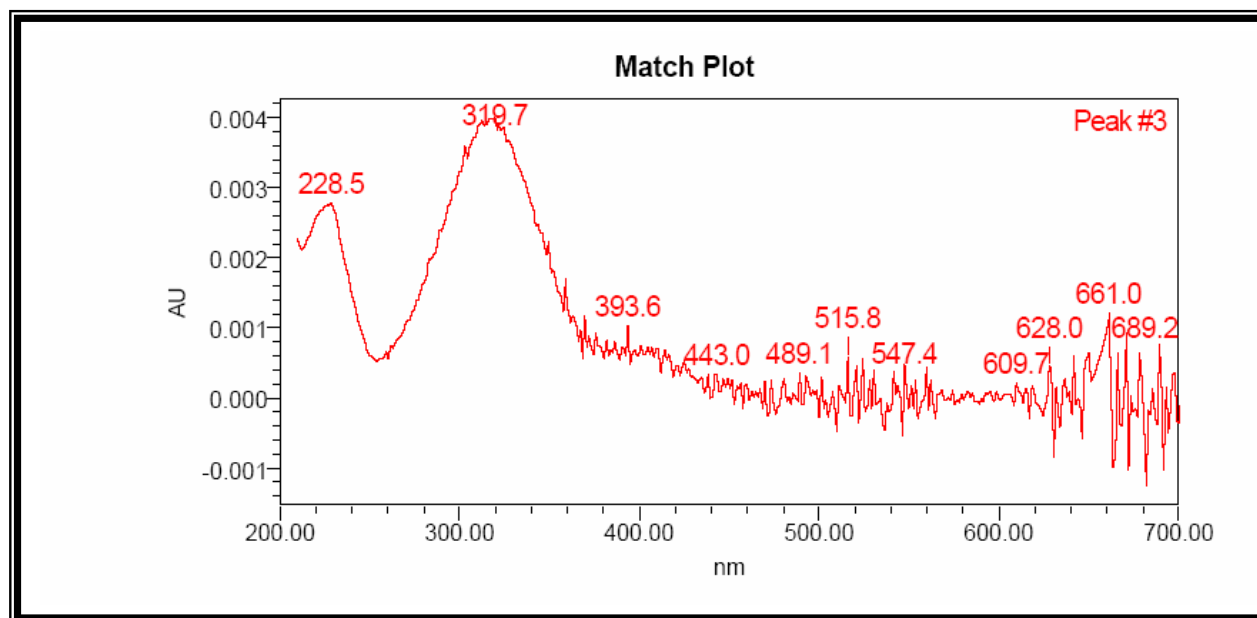


Figura 22. Espectro de absorción del 4-Nitrofenol

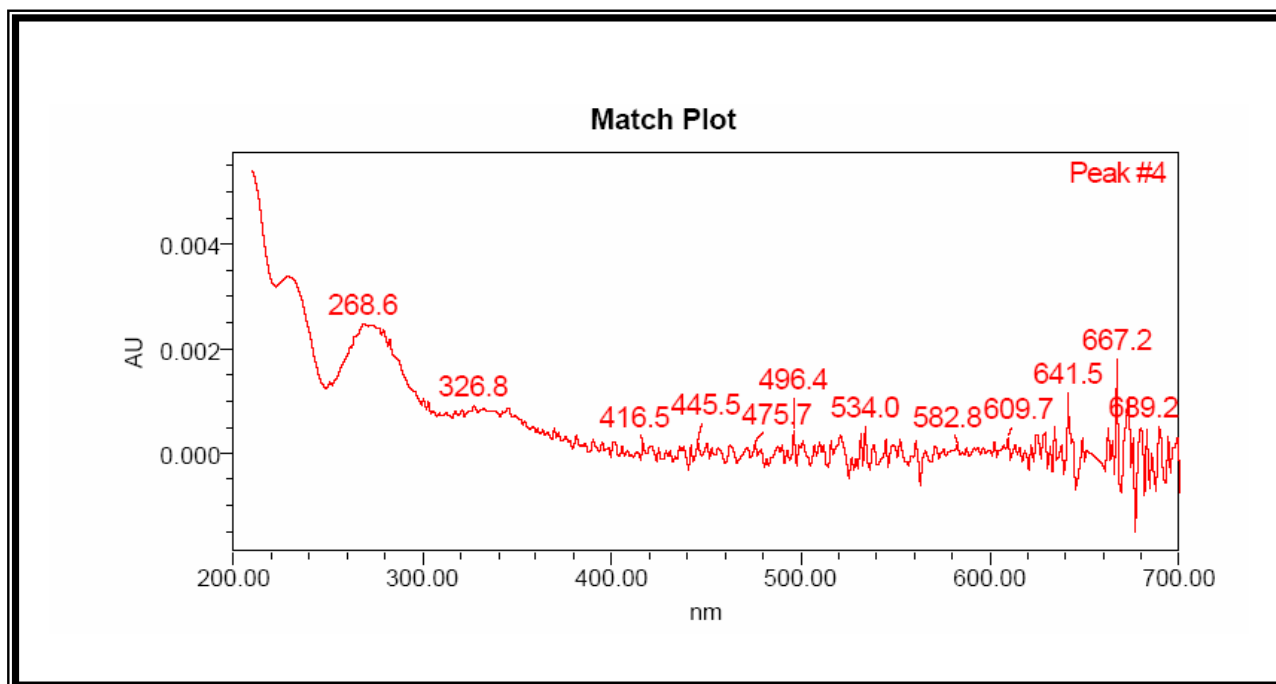


Figura 23. Espectro de absorción del 3-Nitrofenol

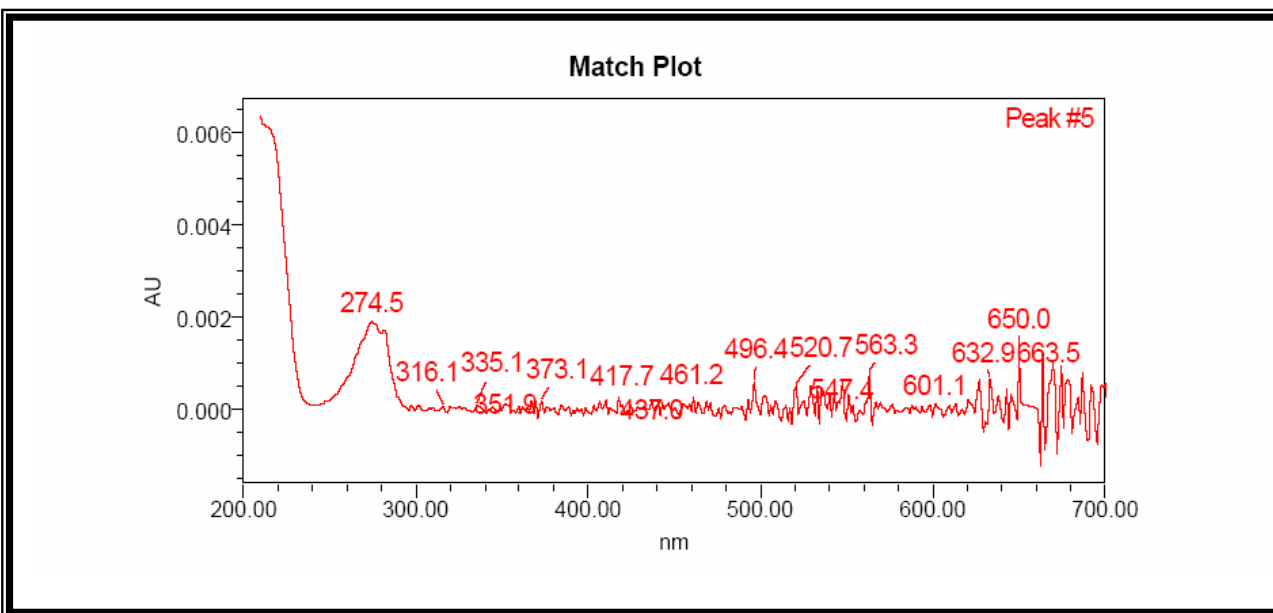


Figura 24. Espectro de absorción del 2-Clorofenol

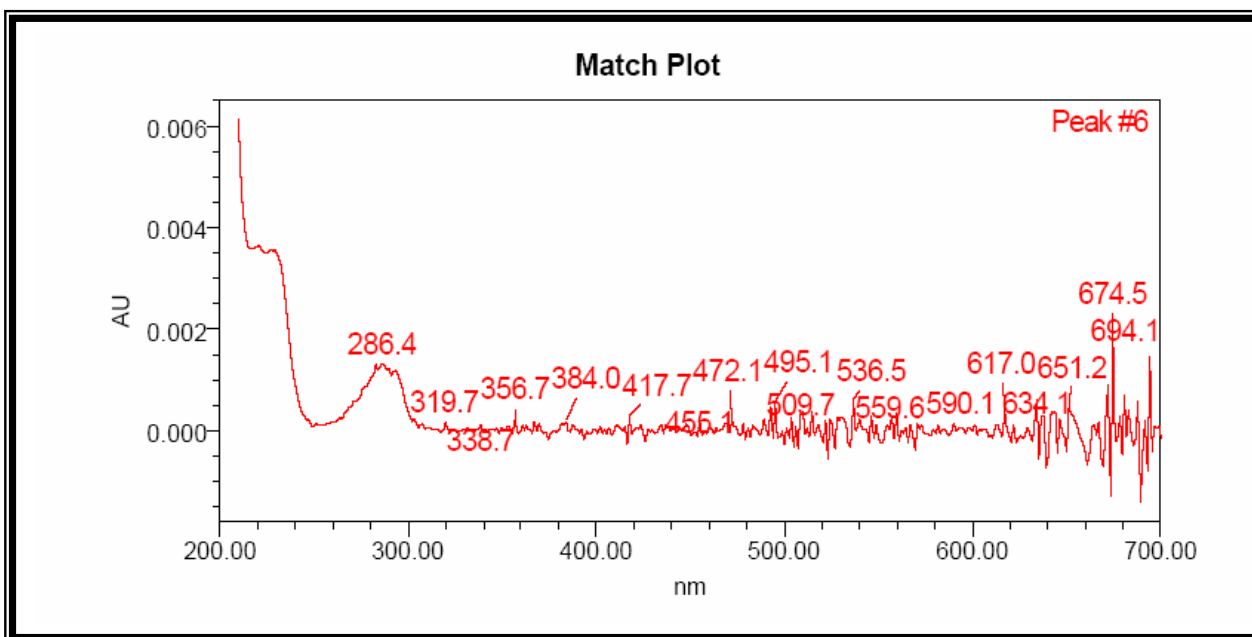


Figura 25. Espectro de absorción del 2,4 -Diclorofenol

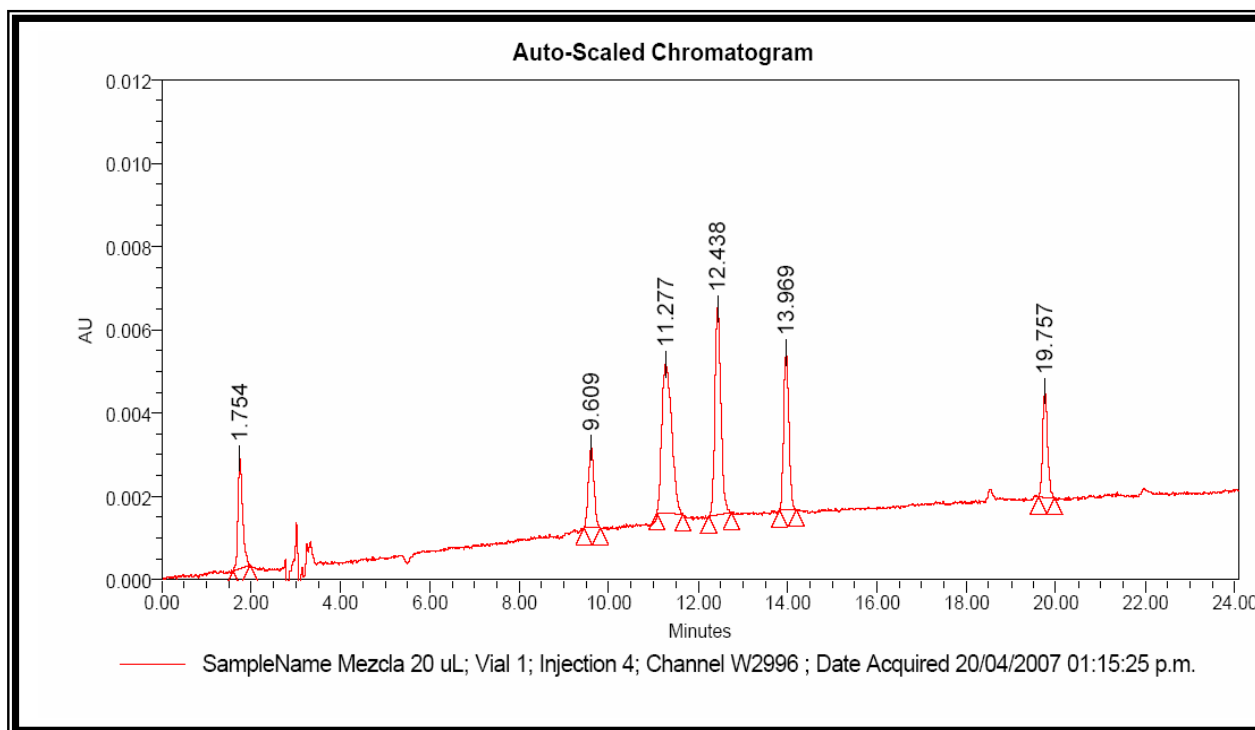


Figura 26. Cromatograma de mezcla 20 μ L mezcla de fenoles

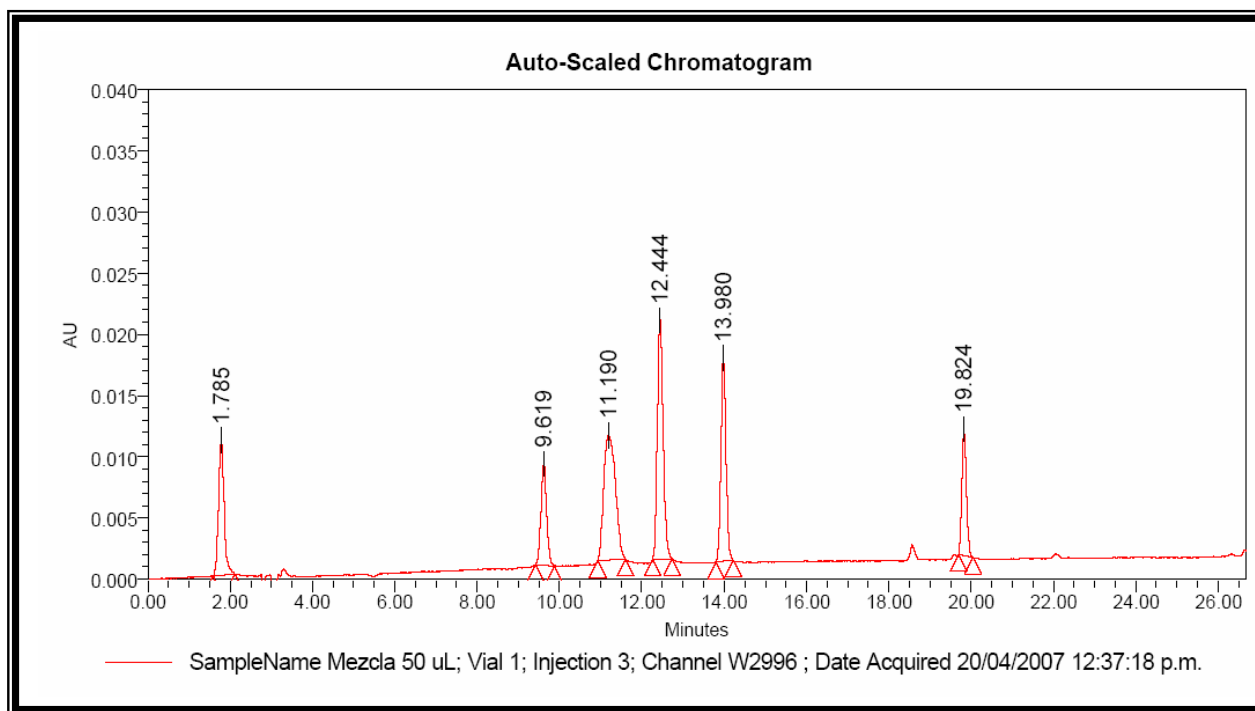


Figura 27. Cromatograma de mezcla 50 μ L de mezcla de fenoles

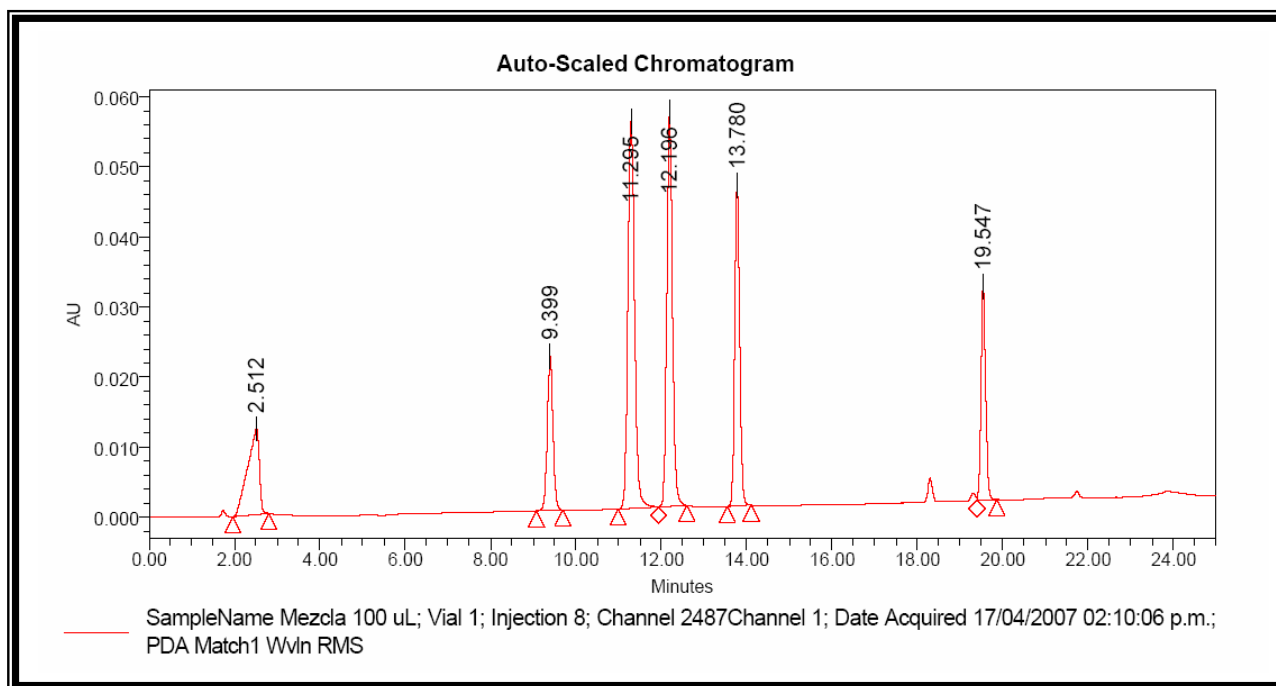


Figura 28. Cromatograma de mezcla 100 μ L de mezcla de fenoles

En la tabla 8 se muestran las ecuaciones de regresión obtenidas para las mezclas de compuestos fenólicos cuando se analizaron por CLAR con detector de arreglo de diodos, así como sus respectivos coeficientes de regresión y de correlación.

Tabla 8. Ecuaciones de regresión de los compuestos fenólicos puros

Compuesto	Ecuación de regresión	Coefficiente de Regresión (r^2)	Coefficiente de Correlación
2,4-dinitrofenol	Área = 8641.2 [μg/ mL] - 16606	0.9926	0.9963
Fenol	Área = 3618.8 [μg/ mL] - 11265	0.9948	0.9974
4-nitrofenol	Área = 8857 [μg/ mL] - 8190	0.9910	0.9955
3-nitrofenol	Área = 14167 [μg/ mL] - 17899	0.9921	0.9960
2-clorofenol	Área = 6482.8 [μg/ mL] - 16280	0.9928	0.9964
2,4-diclorofenol	Área = 4121.3 [μg/ mL] - 9415.8	0.9948	0.9974

6.2.3 Identificación cromatográfica de derivados fenólicos dansilados en una mezcla

Para determinar el comportamiento de los derivados dansilados de los compuestos fenolicos, se determina el tiempo de retención del cloruro de dansilo antes de acoplarlo con algún compuesto fenólico ver figura 28.

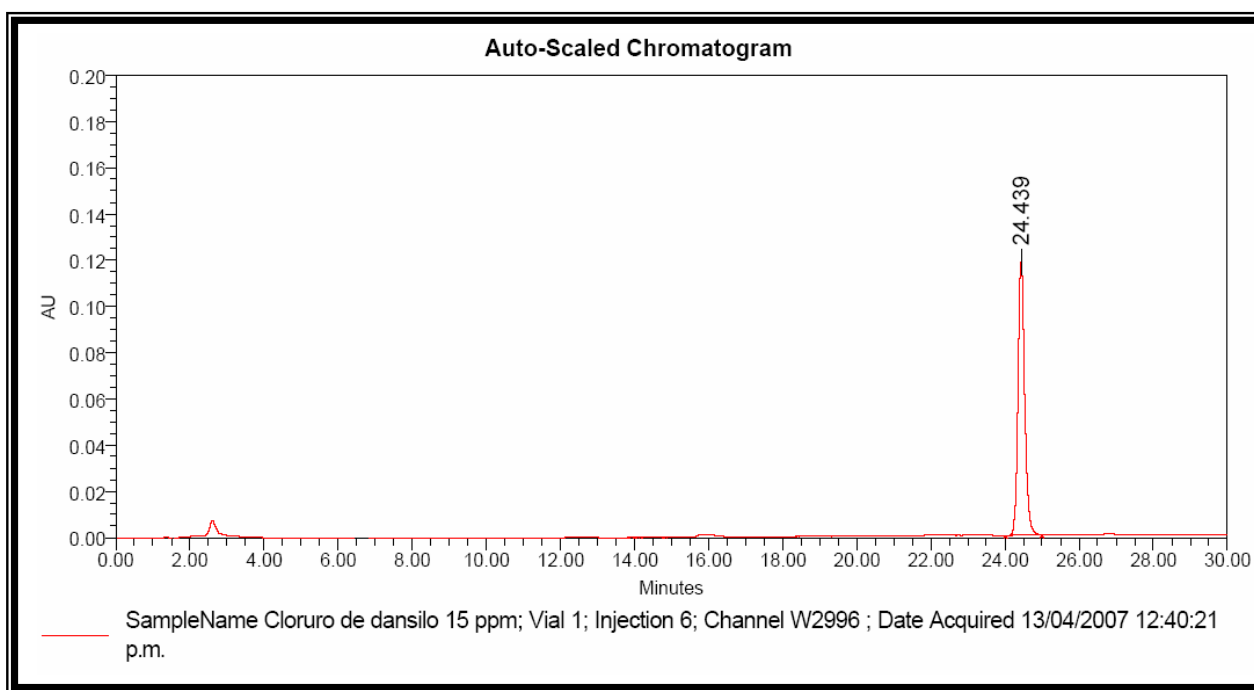


Figura 29. Cromatograma de cloruro de dansilo

El cromatograma obtenido para las mezclas de derivados fenolicos dansilados se presentan en la figura 29 en la cual se utilizo fase móvil de ACN, como se puede apreciar en los primeros 20 minutos salen los compuestos fenólicos puros y a partir del minuto 26.175 sale el cloruro de dansilo que no reacciona y después de este

tiempo comienzan a salir los compuestos fenólicos dansilados, la resolución usando esta fase móvil es buena, pero con tiempos de retención largos.

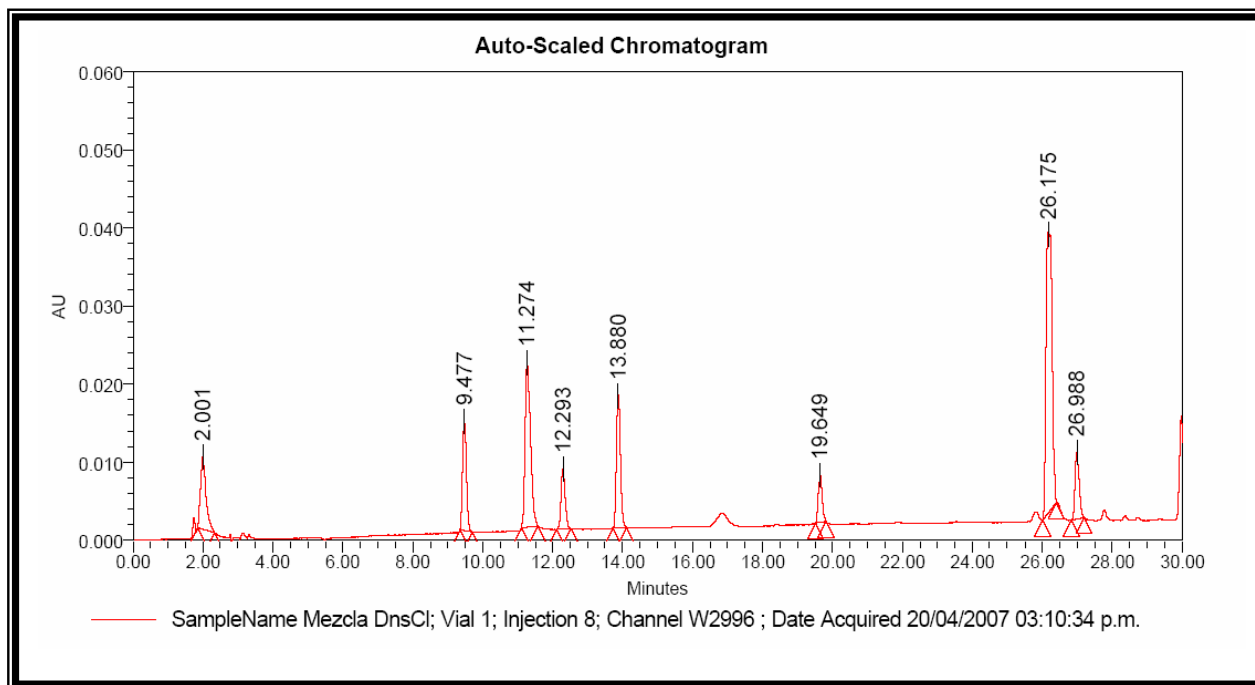


Figura 30. Cromatógrama mezcla fenoles dansilados con fase móvil de ACN

En la figura 30 se muestra los tiempos de retención de los derivados dansilados cuando se utilizo fase móvil de metanol, aquí se aprecia que los compuestos fenólicos puros eluyen a tiempos de retención más cortos, pero la resolución no es buena en comparación con fase móvil de ACN. Otra desventaja de usar metanol con respecto a ACN sería el incremento de presión en el cromatógrafo lo cual con el tiempo daña la columna cromatografica y disminuye el tiempo de vida media de la misma.

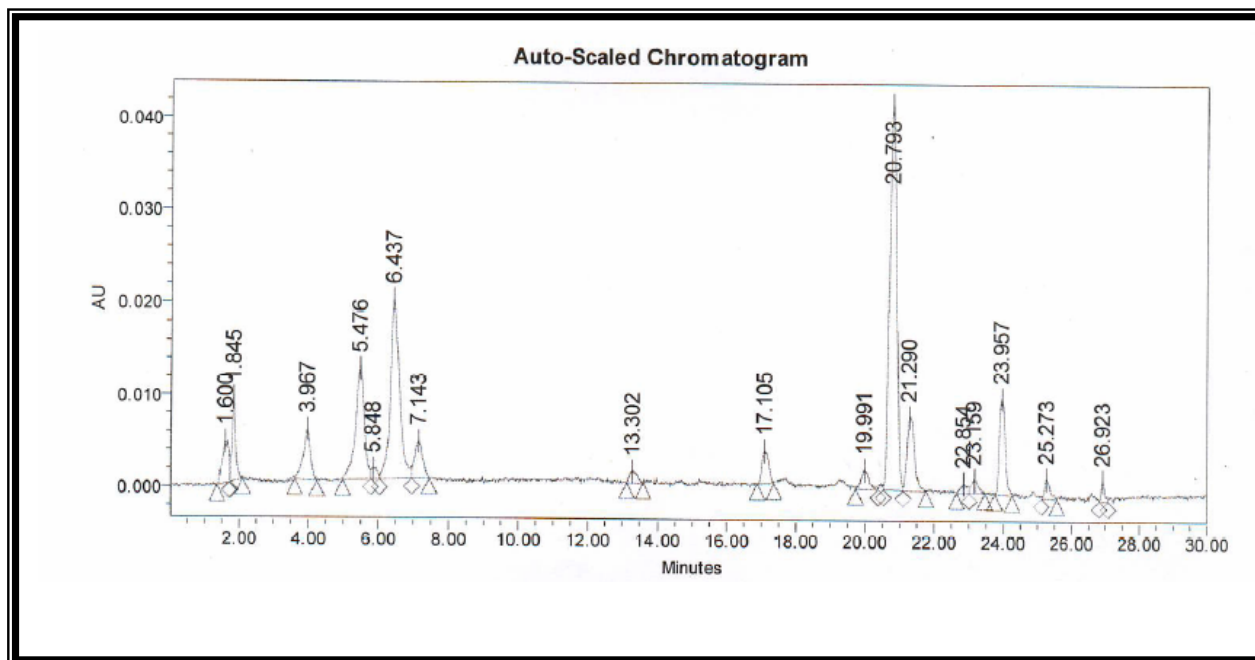


Figura 31. Cromatógrama mezcla fenoles dansilados con fase móvil de metanol

6.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN UV - VIS

6.3.1 *Determinación de los espectros de absorción de los compuestos puros*

En la figura 31 se muestran los espectros de absorción de los compuestos fenolicos puros: fenol, 2-clorofenol, 4-clorofenol y 2,4-diclorofenol. Los barridos se realizaron en un espectrofotómetro DR-4000 en la región de ultravioleta de 272 a 402 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm.

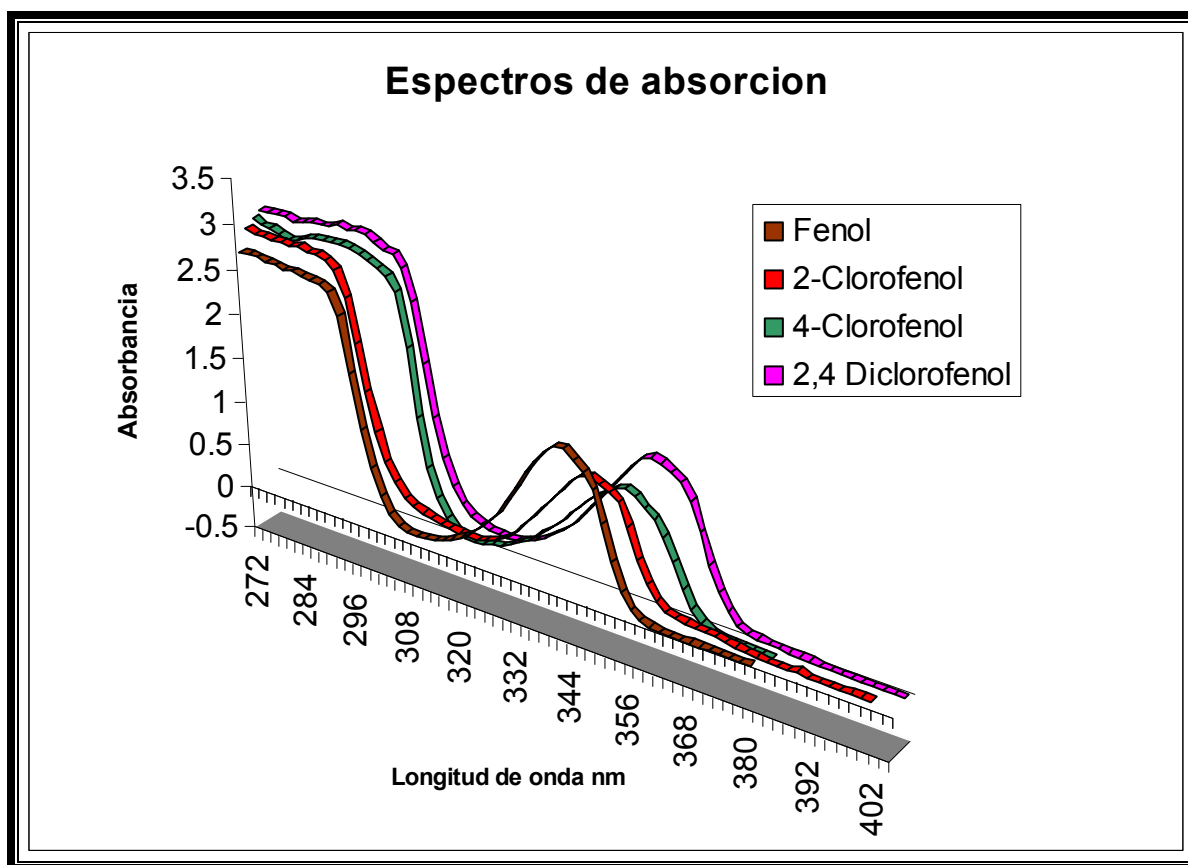


Figura 32. Espectros de absorción de compuestos fenólicos puros

En la tabla 7 se muestran las longitudes de onda máximas de absorción de los compuestos fenólicos puros para fenol, 2-clorofenol, 4-clorofenol y 2,4-diclorofenol, así como su absorbancia máxima.

Tabla 9. Longitudes máximas de absorción de los compuestos fenólicos puros

Compuesto	Longitud máxima de absorción	
	λ nm	Absorbancia máxima
Fenol	270	1.673
2-clorofenol	274	1.377
4-clorofenol	280	1.301
2,4-diclorofenol	284	1.661

6.3.2 Elaboración de curvas de calibración aplicando el método de la 4- aminoantipirina

Se elaboraron las curvas de calibración siguiendo los procedimientos establecidos por la metodología HACH [62] y la NMX [57] para fenol; tomando la lectura de absorbancia a $\lambda = 460$ nm en ambos métodos. En la figura 32 se muestra la ecuación de regresión que se obtiene cuando se aplica el método HACH ($Abs = 5.1731 [\mu\text{g}/\text{mL}] + 0.0017$) con sus respectivos coeficientes de regresión (r^2) y de correlación (r). Cuando se aplica la NMX-AA-050-SCFI-2001 se observa que los coeficientes de regresión y de correlación son muy similares a los de la metodología HACH, ver figura 33. Por lo anterior para el 2-clorofenol, 4-clorofenol y el 2,4-diclorofenol únicamente se aplico la metodología HACH, ver figuras de la 34 a la 36.

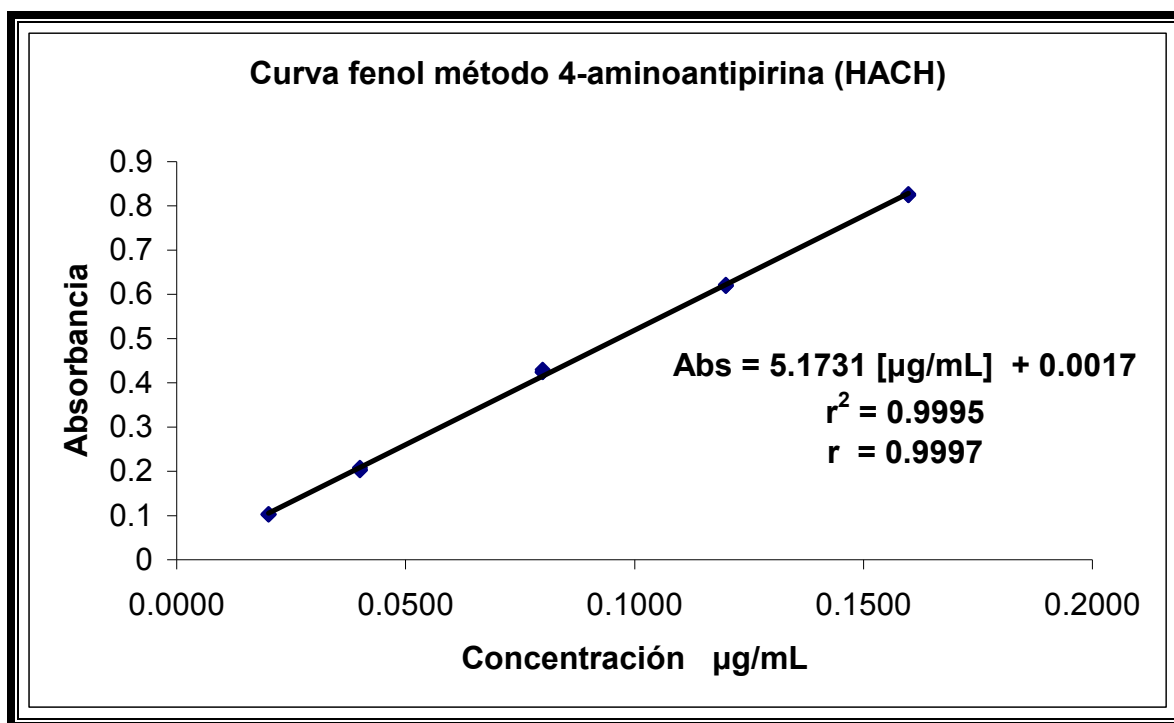


Figura 33. Curva fenol método 4-aminoantipirina (HACH)

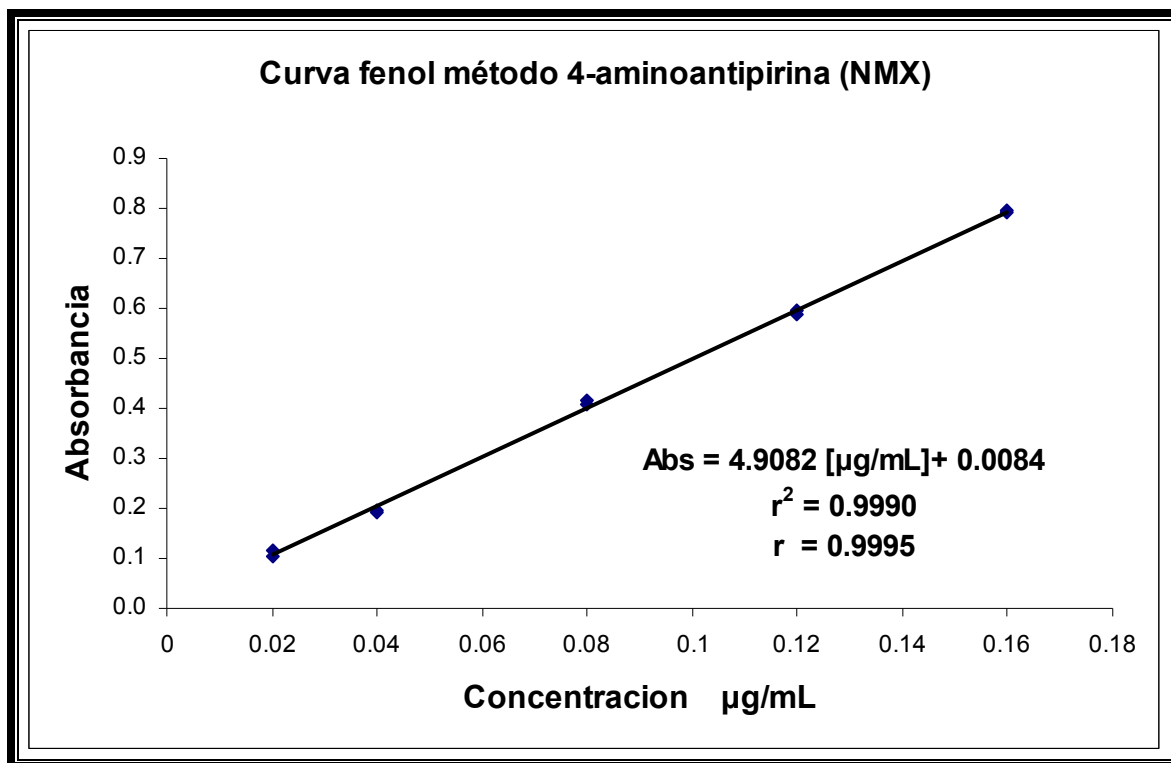


Figura 34. Curva fenol método 4-aminoantipirina (NMX)

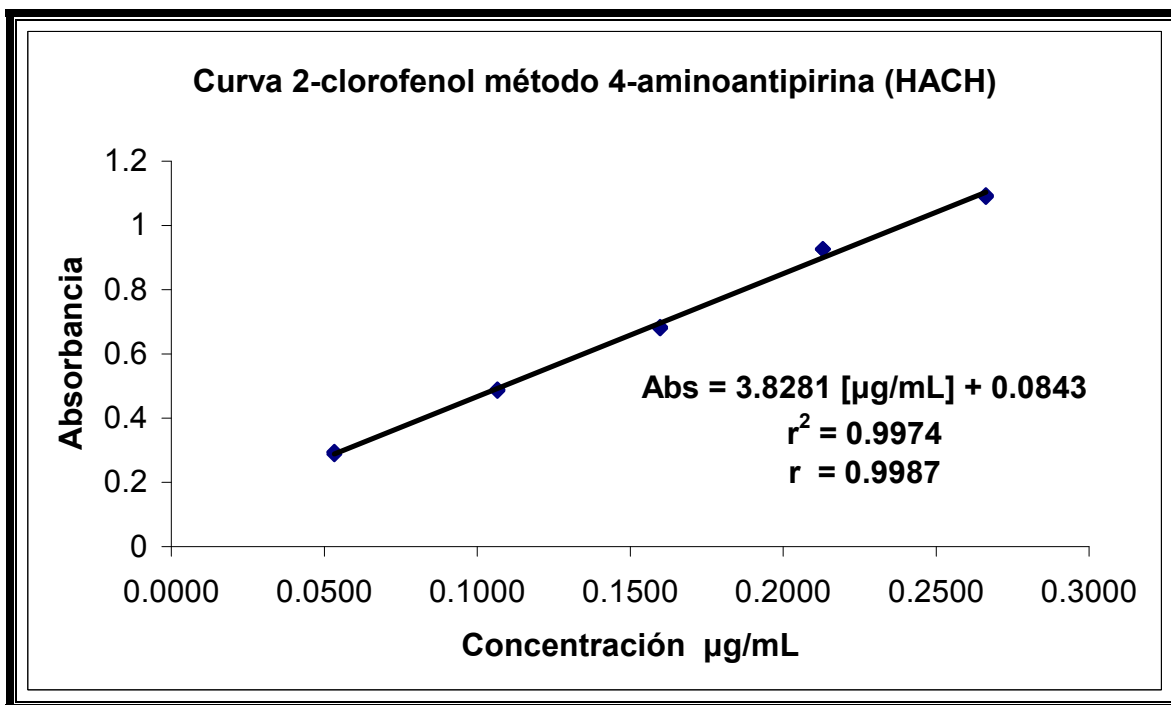


Figura 35. Curva 2-clorofenol método 4-aminoantipirina (HACH)

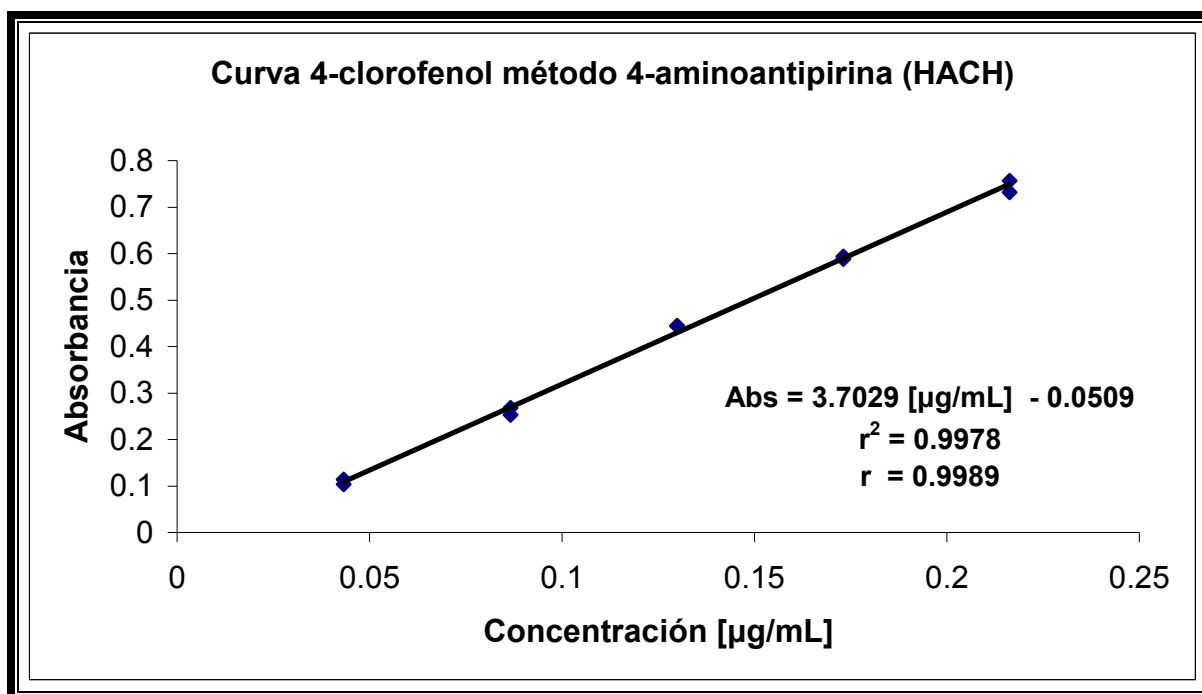


Figura 36. Curva 4-clorofenol método 4-aminoantipirina (HACH)

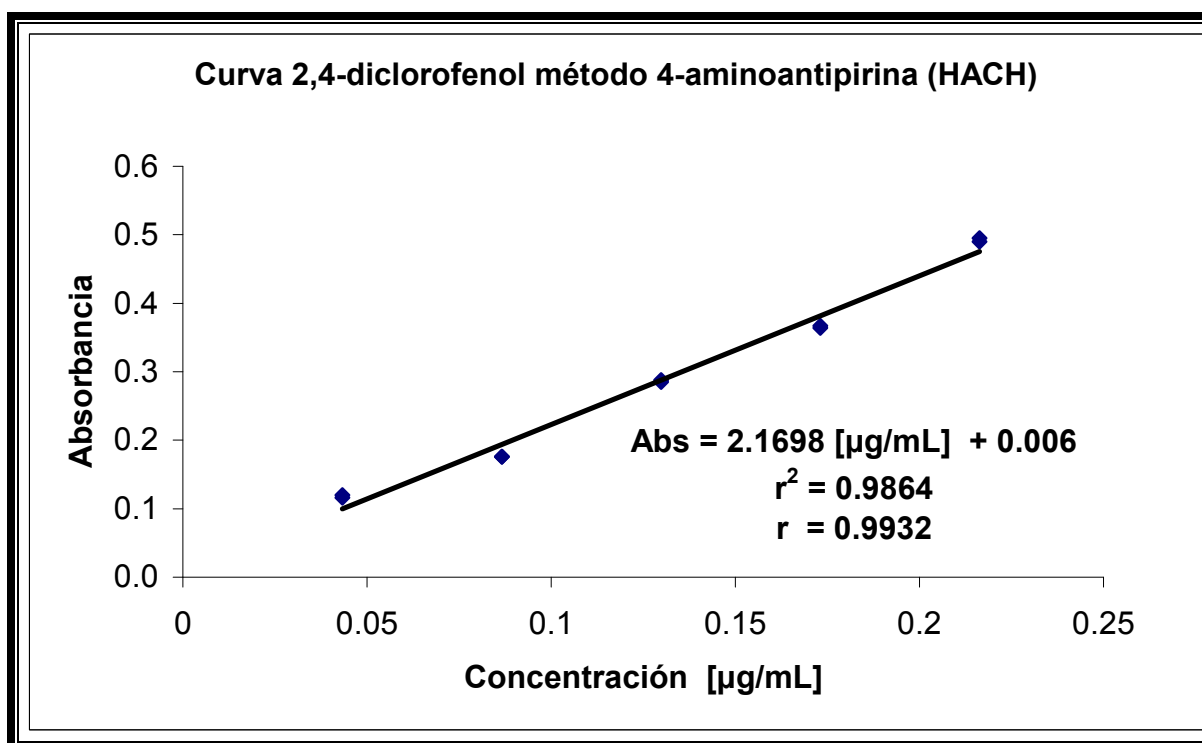


Figura 37. Curva 2,4-diclorofenol método 4-aminoantipirina (HACH)

De acuerdo a los resultados obtenidos aplicando el método de la 4-aminoantipirina se observa que conforme se incrementan los sustituyentes halogenados la pendiente decrece. Una desventaja de la 4-aminoantipirina es que no determina fenoles para sustituidos con sustituyentes: alquilo, arilo, nitro, nitroso, benzoilo y aldehído. Por lo cual se buscan otras alternativas de cuantificación de estos compuestos.

6.3.3 Elaboración de curvas de calibración aplicando el método propuesto por Chunli Kang et al., (2000)

En la figura 37 se presenta el espectro de absorción del blanco utilizado para la elaboración de la curvas de calibración de los analitos, utilizando el método del nitroferricianuro de sodio.

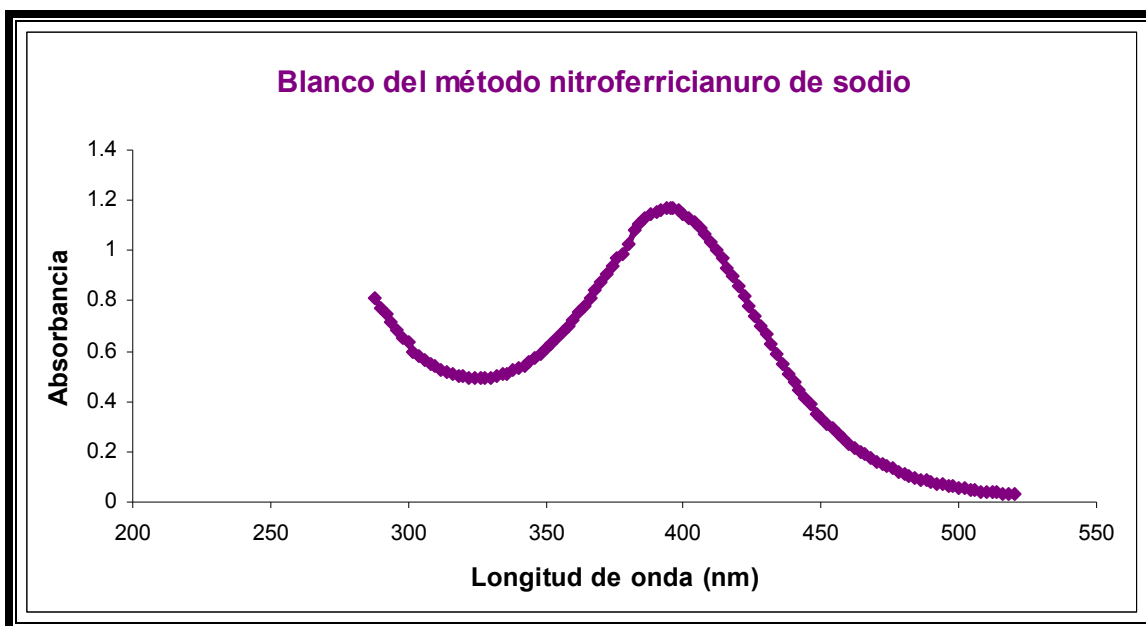


Figura 38. Espectro de absorción del blanco método nitroferricianuro de sodio

Se elaboraron curvas de calibración de los diferentes analitos para fenol, 2-clorofeno, 4-clorofenol y el 2,4-diclorofenol aplicando el método del nitroferricianuro de sodio y en la figuras de la 38 a la 40 se muestra las ecuaciones de regresión, los coeficientes de regresión y correlación, la lectura de absorbancia fue a $\lambda = 700$ nm.

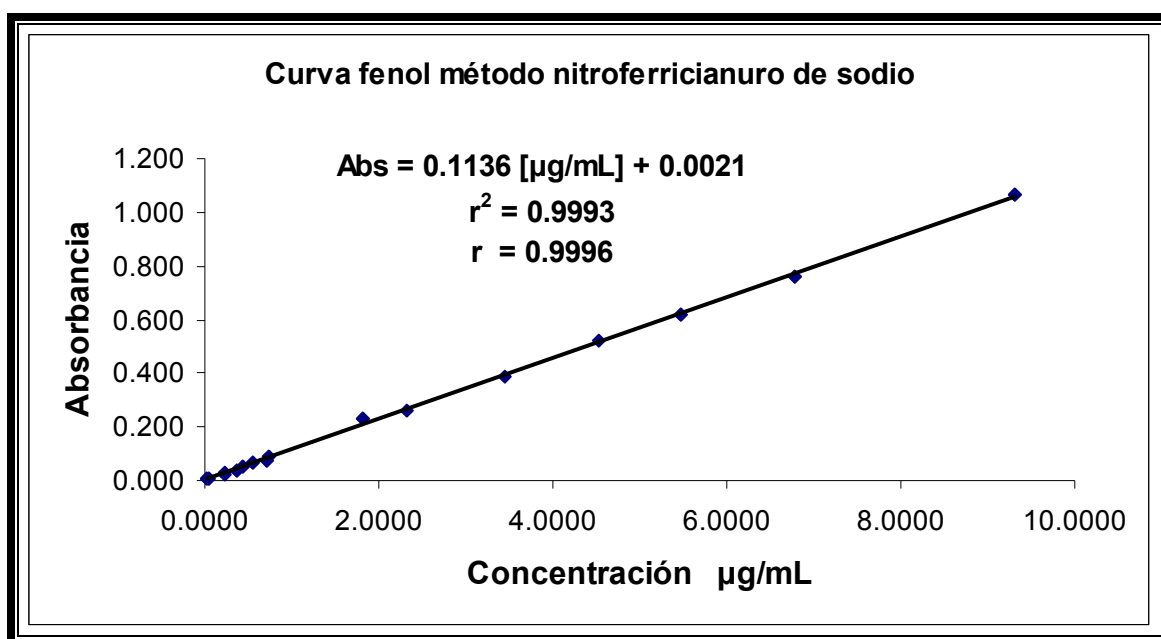


Figura 39. Curva del fenol por el método de nitroferricianuro de sodio

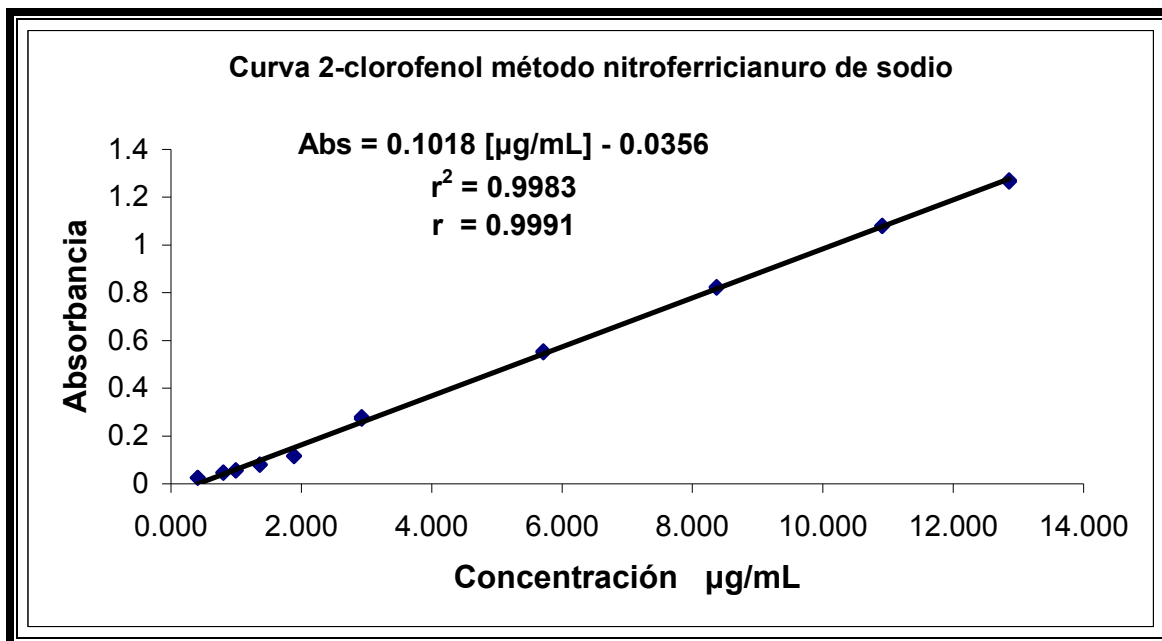


Figura 40. Curva del 2-clorofenol por el método de nitroferriicianuro de sodio

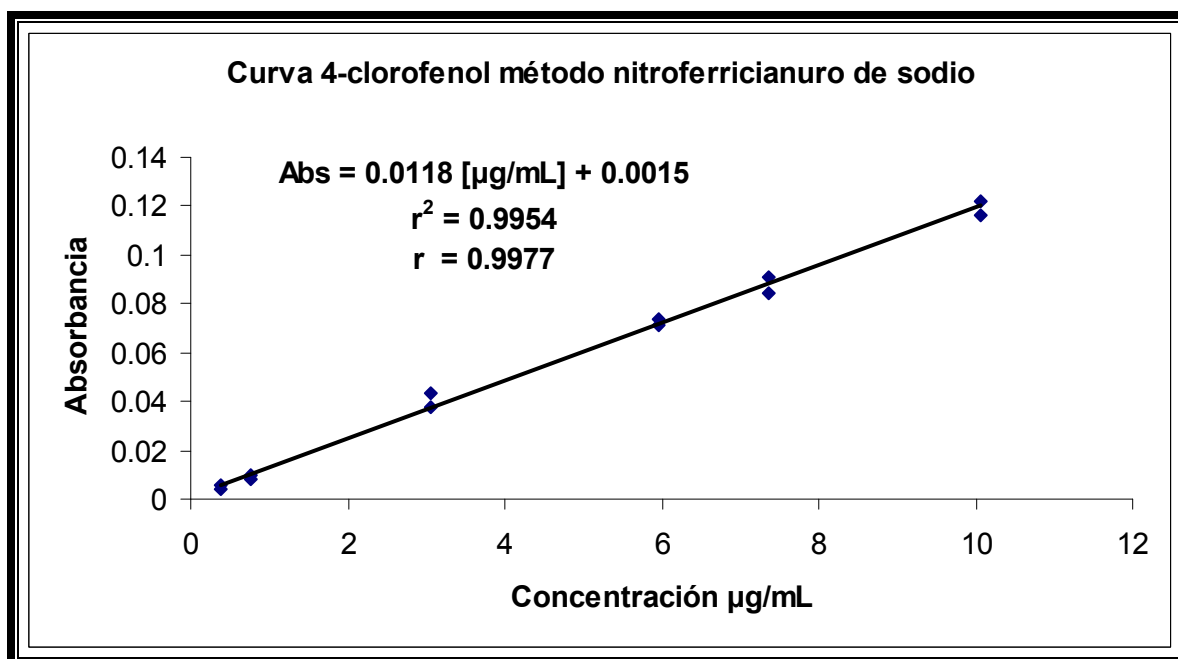


Figura 41. Curva del 4-clorofenol por el método de nitroferriicianuro de sodio

De acuerdo a los resultados obtenidos aplicando el método del nitroferricianuro de sodio se puede apreciar como disminuye el valor de la pendiente conforme se incrementa el número de sustituyentes halogenados; la absorbancia decrece y para el fenol se puede cuantificar cantidades desde 0.057 µg/mL, en el 2-clorofenol y el 4-clorofenol de 0.400 y 0.700 µg/mL respectivamente. En el 2,4-diclorofenol los valores de absorbancia encontrados no son significativos. Por tal motivo se propone otro método par la cuantificación de compuestos fenólicos.

6.3.4 Elaboración de curvas de calibración aplicando el método propuesto en esta tesis

En la figura 41 se presentan los espectros de absorción del blanco de agua destilada y de la muestra 14, la cual fue elegida al azar; los cuales son utilizados para la elaboración de la curvas de calibración de los analitos, utilizando el método del cloruro ferrico propuesto en esta tesis. Se puede apreciar que el blanco de agua destilada es muy parecido al obtenido con agua purificada de la muestra número 14.

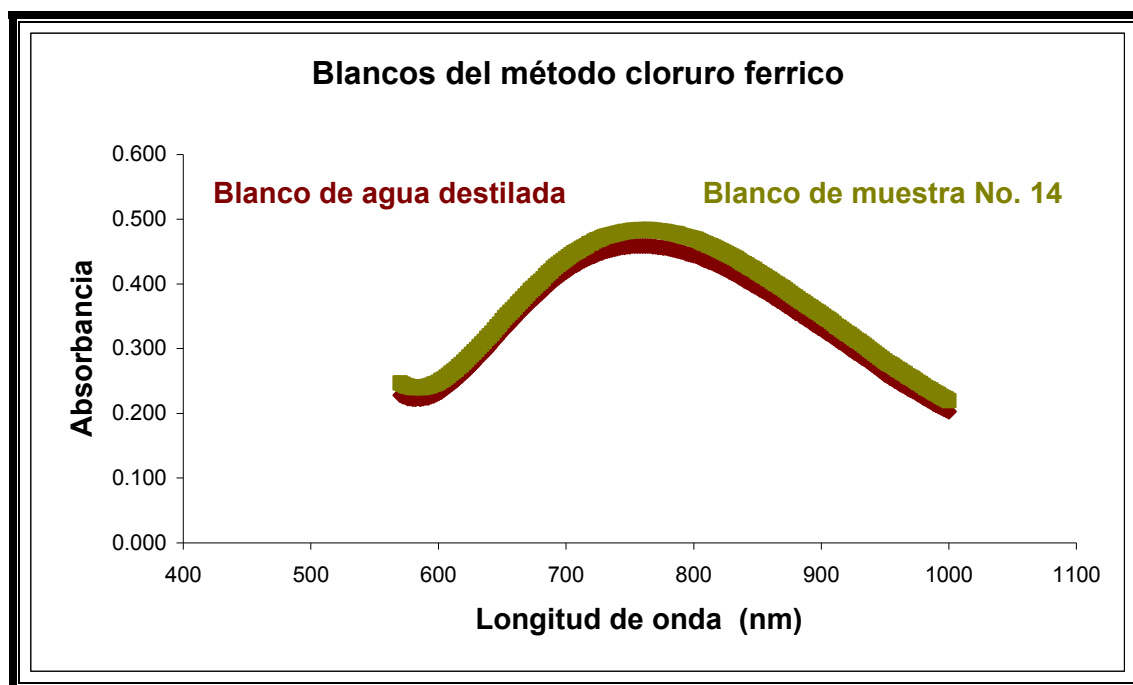


Figura 42. Espectros de absorción de los blancos método cloruro férrico

Bajo las mismas condiciones experimentales se procedió a realizar las curvas de calibración para el fenol, 2-clorofenol, 4-clorofenol y 2,4-diclorofenol, los resultados se muestran en las figuras de la 42 a la 45, obteniendo sus ecuaciones de regresión con sus respectivos coeficientes de regresión y correlación.

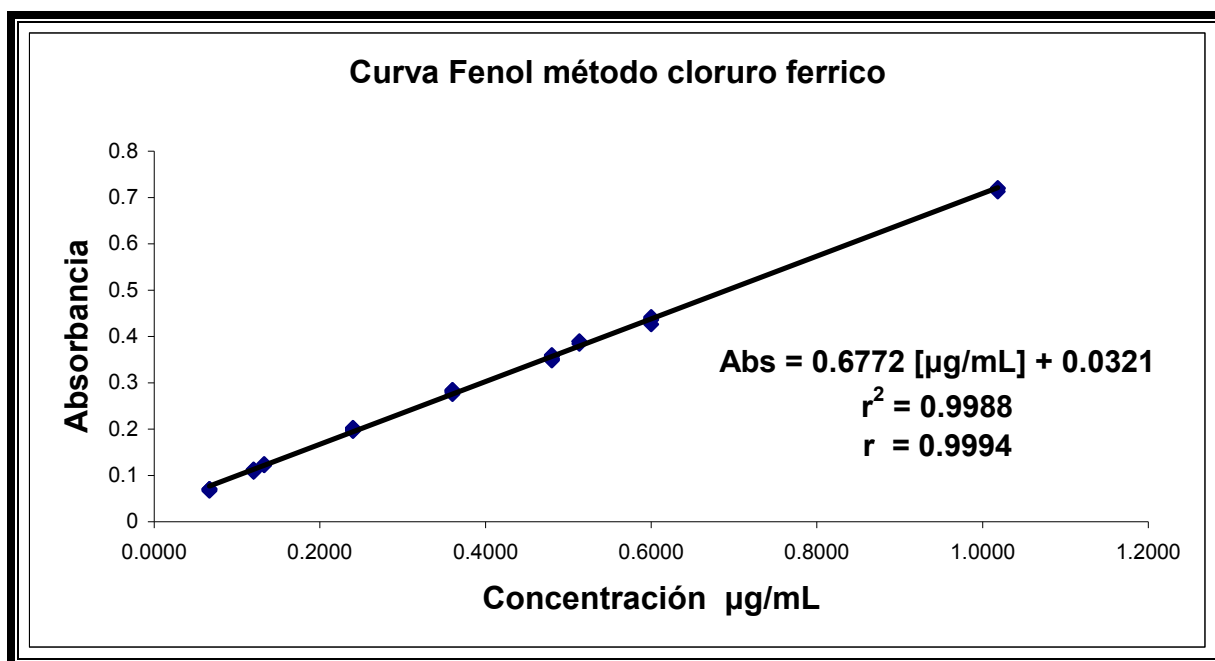


Figura 43. Curva del fenol por el método de cloruro férrico.

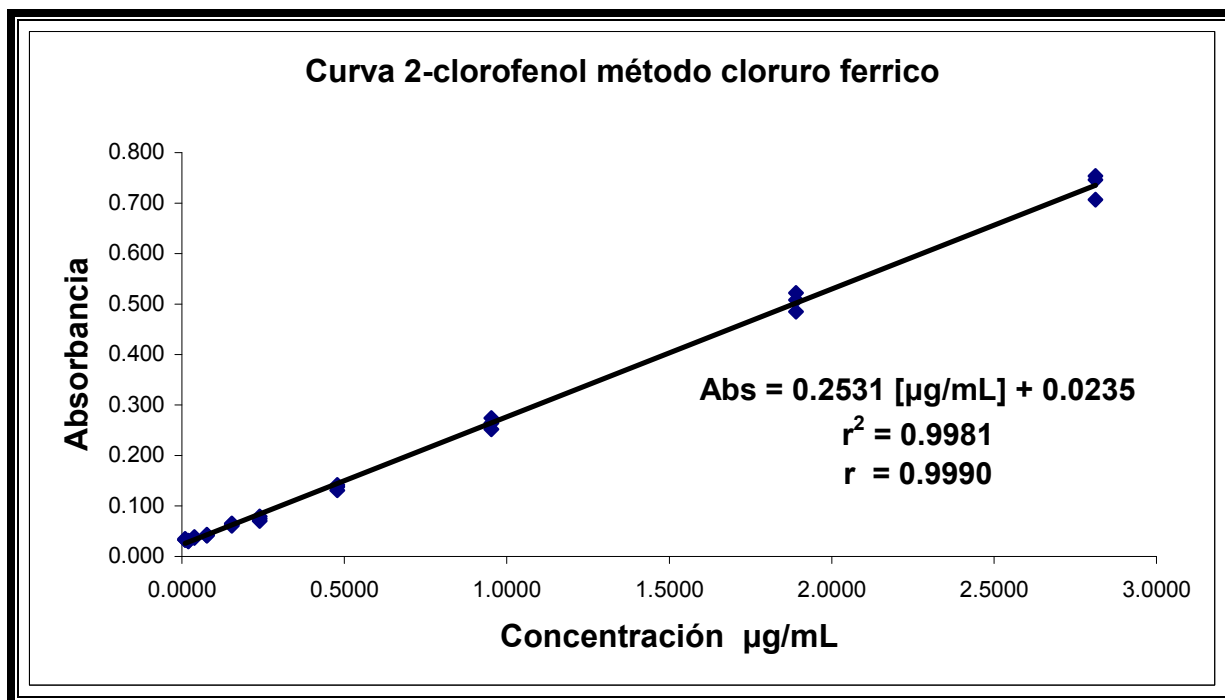


Figura 44. Curva del 2-clorofenol por el método de cloruro férrico.

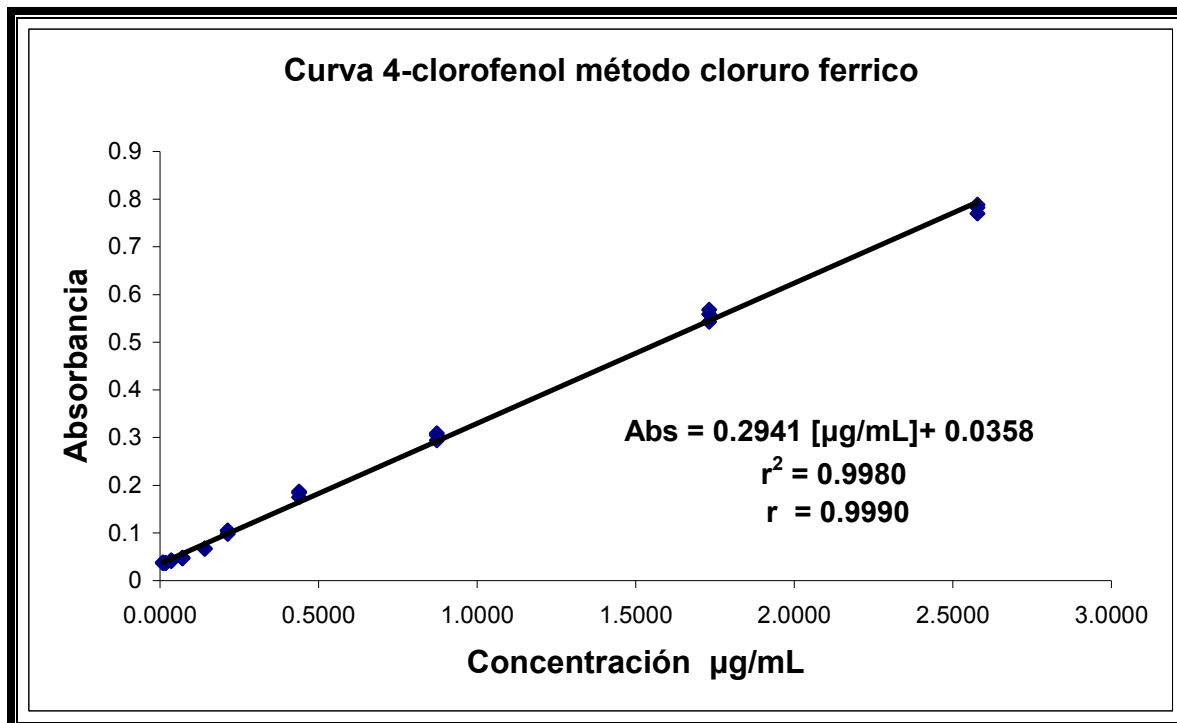


Figura 45. Curva del 4-clorofenol por el método de cloruro férrico.

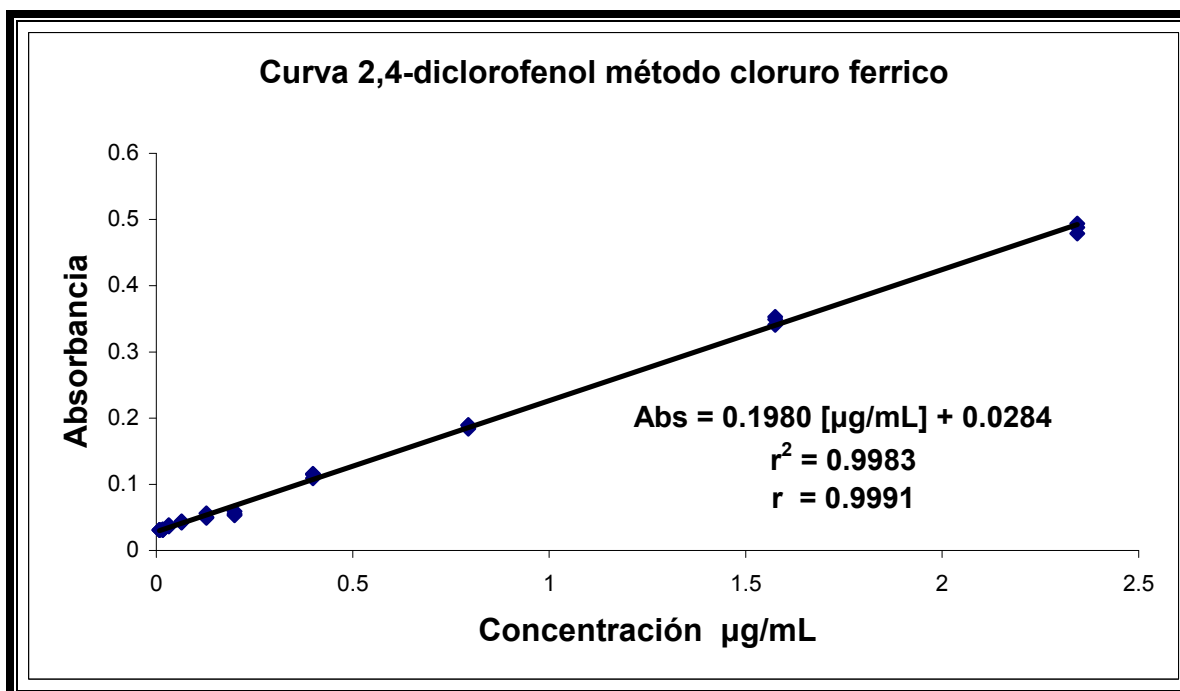


Figura 46. Curva del 2,4-diclorofenol por el método de cloruro férrico.

Una vez realizada las curvas de calibración con agua destilada de los compuestos fenólicos puros, se continuó con el método de adición de estándar aplicado a las muestras de agua purificada con el fin de observar si existen cambios significativos.

6.3.5 Elaboración de curvas de calibración por el método de cloruro férrico con adición de estándar.

En las figuras 46 al 49 se muestra el método de adición de estándar para la muestra 14 por el método del cloruro ferrico con mediciones a los 15 y 30 minutos y dos longitudes de onda a $\lambda = 720$ y 770 nm. Se puede apreciar que los coeficientes de regresión y de determinación obtenidos son comparables a los obtenidos por los métodos tradicionales. La importancia de este proceso radica en que el efecto de matriz del agua purificada es considerado y eliminado al momento de la cuantificación del analito.

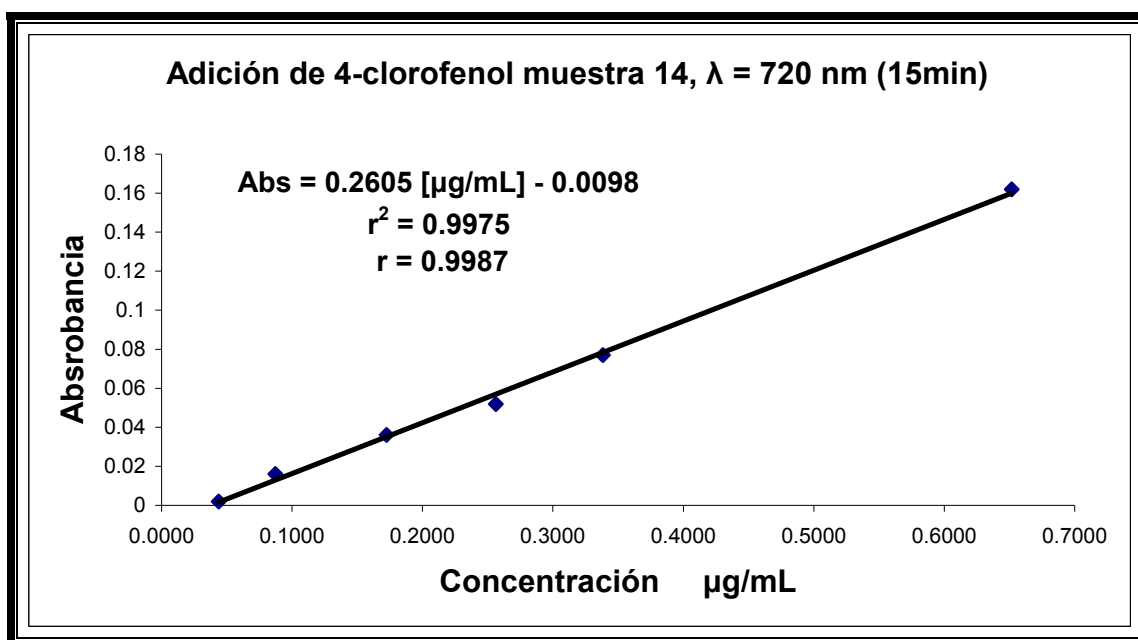


Figura 47. Adición de 4-clorofenol en muestra 14, $\lambda = 720$ nm, 15 min.

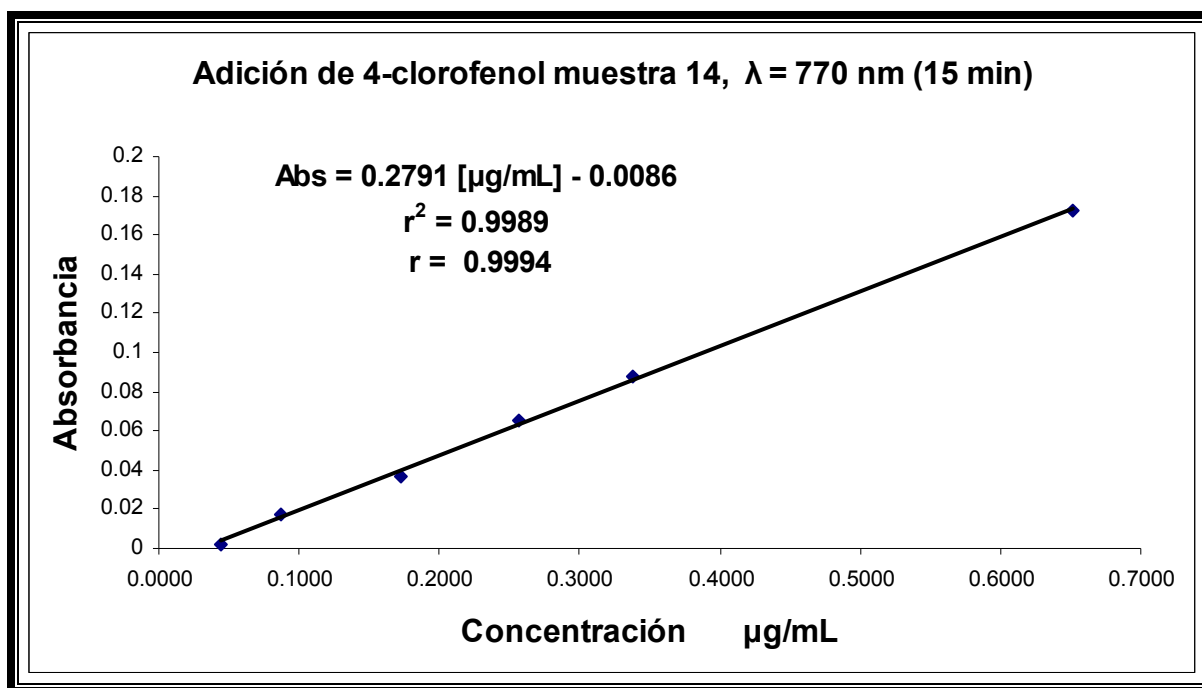


Figura 48. Adición de 4-clorofenol en muestra 14, $\lambda = 770$ nm, 15 min.

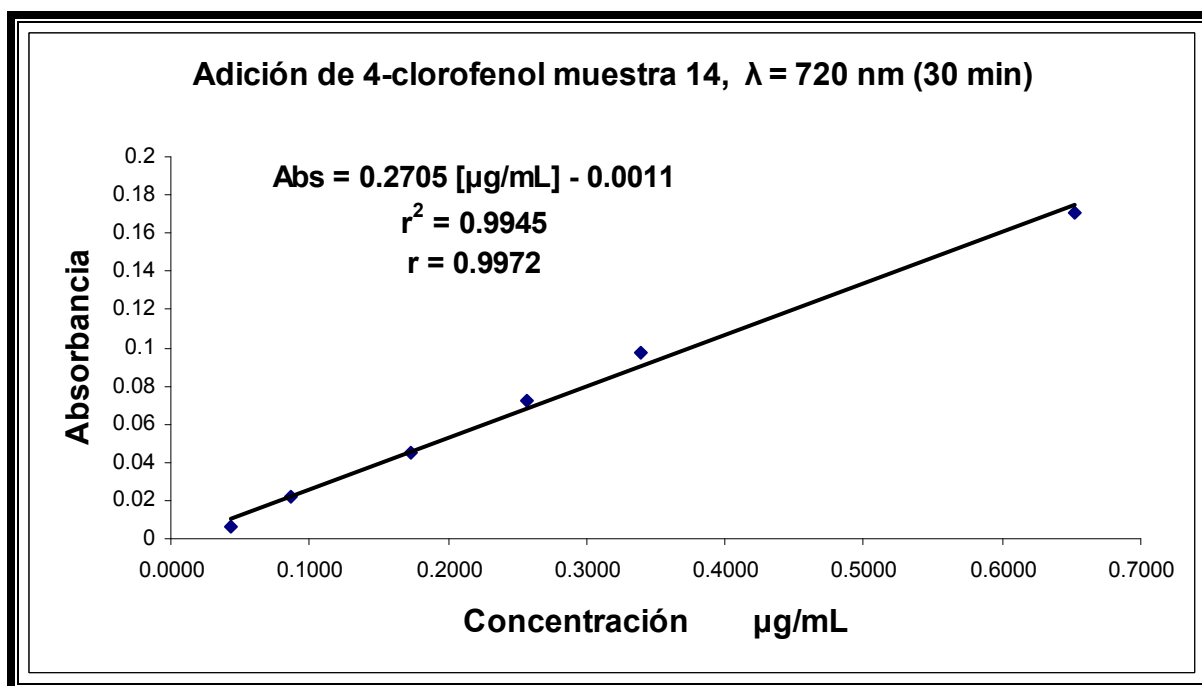


Figura 49. Adición de 4-clorofenol en muestra 14, $\lambda = 720$ nm, 30 min.

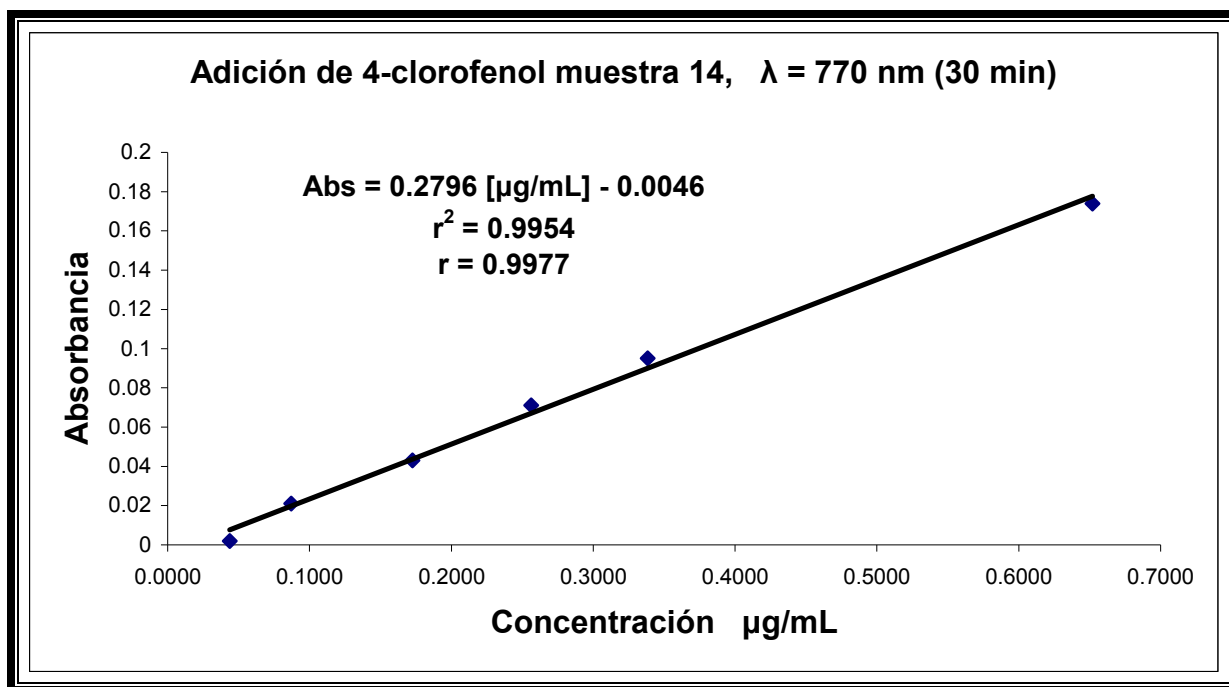


Figura 50. Adición de 4-clorofenol en muestra 14, $\lambda = 770 \text{ nm}$, 30 min.

En la tabla 10 se muestran las ecuaciones de regresión obtenidas, así como sus coeficientes de regresión y de correlación lineal para las muestras analizadas las cuales fueron seleccionadas al azar y se les aplicó el método de adición de estándar, como no existe gran diferencia entre la longitud de 720 y 770 se optó por medir únicamente a 720 nm y en cuanto al tiempo se observa que es mejor obtener la lectura en los primeros 15 min.

Tabla 10. Ecuaciones de regresión para muestras de agua purificada

Número de muestra	Compuesto	Ecuación de regresión	Coefficiente de regresión	Coefficiente de correlación
14	Fenol	$y = 0.6556x + 0.0109$	0.9937	0.9968
16	Fenol	$y = 0.7894x + 0.0027$	0.9940	0.9970
17	Fenol	$y = 0.7149x + 0.0038$	0.9919	0.9959
04	2-clorofenol	$y = 0.3128x + 0.0257$	0.9924	0.9962
07	2-clorofenol	$y = 0.2950x + 0.0286$	0.9933	0.9966
10	2-clorofenol	$y = 0.3512x + 0.0071$	0.9965	0.9982
11	2-clorofenol	$y = 0.3272x - 0.0063$	0.9978	0.9989
02	4-clorofenol	$y = 0.3513x + 0.0085$	0.9956	0.9978
04	4-clorofenol	$y = 0.3446x + 0.0056$	0.9932	0.9966
16	4-clorofenol	$y = 0.3168x + 0.0237$	0.9900	0.9950
18	4-clorofenol	$y = 0.4457x - 0.0069$	0.9933	0.9966
04	2,4-diclorofenol	$y = 0.1874x + 0.0037$	0.9869	0.9934
06	2,4-diclorofenol	$y = 0.1741x - 0.0197$	0.9925	0.9962
18	2,4-diclorofenol	$y = 0.1312x + 0.018$	0.9939	0.9969

6.4 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA EL MÉTODO PROPUESTO

Un método analítico se define como la descripción de la secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra. Un analito se define como un componente específico en una muestra a medir en un análisis; por lo que un método analítico mide un componente específico (analito) en una muestra y como todo proceso de medición, este debe ser confiable para ser utilizado con un propósito definido. La validación de métodos analíticos es el proceso por el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada.[65]

6.4.1 Precisión del sistema

Para la precisión del sistema se debe preparar por lo menos un sextuplicado de las disoluciones a la concentración del analito, preparadas por dilución o por pesadas independientes y medir la respuesta analítica bajo las mismas condiciones. [65]

Procedimiento de cálculo:

1) Tabular los resultados de la propiedad de medida (absorbancia) de la disolución de referencia a una misma concentración (Tabla 11)

Tabla 11. Absorbancia de las disoluciones de referencia

Cálculos	Absorbancia 0.120 µg/mL de fenol	Absorbancia 0.240 µg/mL de fenol
	0.109	0.196
	0.111	0.198
	0.112	0.199
	0.108	0.202
	0.110	0.198
	0.109	0.201
	0.109	0.203
	0.113	0.201
Promedio	0.110	0.200
Desviación estándar	0.0016	0.0024
CV*	1.4668	1.1892
*Criterio de aceptación: $CV \leq 1.5\%$		

6.4.2 Linealidad del sistema

Para la linealidad del sistema se debe preparar por lo menos por triplicado 5 niveles de concentración (intervalo) de la disolución de referencia ya sea por dilución (a partir de una misma disolución concentrada) o por pesadas independientes (cuando no sea posible prepararlas por dilución). Medir la respuesta analítica bajo las mismas condiciones, reportar la relación concentración vs respuesta analítica. Calcular el valor de la pendiente, la ordenada en el origen, el coeficiente de determinación (regresión) y el intervalo de confianza para la pendiente. [65]

Procedimiento de cálculo:

- 1) Tabular los resultados en la tabla 12 indicando la propiedad de medida (absorbancia) a diferentes concentraciones ($\mu\text{g/mL}$)
- 2) Determinar la pendiente ($b_1 = [n \sum xy - \sum x \sum y] / [n \sum x^2 - (\sum x)^2]$), ordenada en el origen ($b_0 = [\sum y - b_1 \sum x] / n$), el coeficiente de determinación ($r^2 = [n \sum xy - \sum x \sum y]^2 / [(n \sum x^2 - (\sum x)^2)(n \sum y^2 - (\sum y)^2)]$) y el intervalo de confianza para la pendiente ($IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_1}$), $S_{b_1} = S_{y/x} [1 / (\sum x^2 - ((\sum x)^2 / n))]^{1/2}$, $S_{y/x} = [(\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y) / (n-2)]^{1/2}$

Tabla 12. Respuesta de la disolución de referencia a diferentes concentraciones

No.	Absorbancia	Concentración µg/mL Fenol	No.	Absorbancia	Concentración µg/mL Fenol
1	0.069	0.0668	25	0.280	0.3600
2	0.067	0.0668	26	0.281	0.3600
3	0.071	0.0668	27	0.295	0.3600
4	0.071	0.0668	28	0.296	0.3600
5	0.109	0.1200	29	0.303	0.3600
6	0.111	0.1200	30	0.352	0.4800
7	0.112	0.1200	31	0.357	0.4800
8	0.108	0.1200	32	0.358	0.4800
9	0.110	0.1200	33	0.338	0.4800
10	0.109	0.1200	34	0.350	0.4800
11	0.109	0.1200	35	0.348	0.4800
12	0.113	0.1200	36	0.357	0.4800
13	0.123	0.1328	37	0.374	0.4800
14	0.125	0.1328	38	0.438	0.6000
15	0.122	0.1328	39	0.442	0.6000
16	0.196	0.2400	40	0.426	0.6000
17	0.198	0.2400	41	0.436	0.6000
18	0.199	0.2400	42	0.439	0.6000
19	0.202	0.2400	43	0.390	0.5130
20	0.198	0.2400	44	0.384	0.5130
21	0.201	0.2400	45	0.389	0.5130
22	0.203	0.2400	46	0.713	1.0182
23	0.201	0.2400	47	0.719	1.0182
24	0.276	0.3600	48	0.721	1.0182
$\sum x$		17.1392	b_1		0.6773
$\sum y$		13.189	b_0		0.0329
$\sum xy$		6.6378	r^{2*}		0.9974
$\sum y^2$		4.9335	$S_{y/x}$		0.009037
$\sum x^2$		8.9673	S_{b1}		0.005355
$t_{0.975, n-2}$		2.013	n		48
$IC(\beta_1)**$		0.6665, 0.6881			
*Criterio de aceptación: $r^2 \geq 0.98$					
**Criterio de aceptación: El $IC(\beta_1)$, no debe incluir el cero					

6.4.3 Exactitud y repetibilidad del método (E y R)

Cuando no se conocen los componentes de la muestra, se debe analizar la muestra con el método, para determinar el contenido de analito. El mismo analista debe preparar por lo menos 6 muestras adicionadas del analito, las cuales deben ser analizadas bajo las mismas condiciones. Determine la cantidad recuperada de analito y calcule el promedio aritmético, la desviación estándar, el coeficiente de variación y el intervalo de confianza para la media poblacional del porcentaje de recobro.[65]

Procedimiento de cálculo:

- 1) Tabular los resultados de la cantidad adicionada, la cantidad recuperada y el porcentaje de recobro en la tabla 13.
- 2) Determinar la media aritmética, desviación estándar, coeficiente de variación y el intervalo de confianza para la media [$IC_{\mu} = \bar{u} \pm t_{0.975, n-1} (S / n^{1/2})$]

Tabla 13. Cantidad adicionada y porcentaje de recobro para fenol (E y R)

No.	Cantidad Adicionada µg/mL Fenol	Cantidad Recuperada µg/mL Fenol	% Recobro
1	0.1200	0.1197	99.78
2	0.1200	0.1153	96.09
3	0.1200	0.1168	97.32
4	0.1200	0.1183	98.55
5	0.1200	0.1183	98.55
6	0.2400	0.2408	100.34
7	0.2400	0.2438	101.57
8	0.2400	0.2452	102.18
9	0.2400	0.2497	104.03
10	0.2400	0.2438	101.57
11	0.2400	0.2482	103.41
12	0.2400	0.2511	104.64
13	0.2400	0.2482	103.41
14	0.3600	0.3663	101.75
15	0.3600	0.3840	106.67
16	0.6000	0.5996	99.93
17	0.6000	0.6247	104.11
	\bar{u}	101.4075	
	S	2.8329	
	CV*	2.7936	
	n	17	
	$t_{0.975, n-1}$	2.120	
	IC $_{\mu}$ **	99.95, 102.86	
*Criterio de aceptación: El CV del porcentaje de recobro \leq 3%			
**Criterio de aceptación: El IC $_{\mu}$ debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del porcentaje de recobro se incluya en el intervalo 97-103%.			

6.4.4 Linealidad del método

El mismo analista debe seleccionar al menos dos niveles, superior e inferior de la cantidad de analito (intervalo) y preparar la muestra adicionada al menos por triplicado a cada nivel, manteniendo constante la cantidad de muestra en los tres niveles. Las muestras adicionadas deben ser analizadas bajo las mismas condiciones. Determinar la cantidad recuperada de analito. Reportar la relación cantidad adicionada (CA) vs cantidad recuperada (CR) y continuar con el procedimiento de cálculo. [65]

Procedimiento de cálculo:

- 1) Tabular los resultados de la cantidad adicionada y la cantidad recuperada para el fenol (tabla 14).
- 2) Determinar la pendiente ($b_1 = [n \sum xy - \sum x \sum y] / [n \sum x^2 - (\sum x)^2]$), ordenada en el origen ($b_0 = [\sum y - b_1 \sum x] / n$), el coeficiente de determinación ($r^2 = [n \sum xy - \sum x \sum y]^2 / [(n \sum x^2 - (\sum x)^2)(n \sum y^2 - (\sum y)^2)]$), el intervalo de confianza para la pendiente ($IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b1}$), $S_{b1} = S_{y/x} [1 / (\sum x^2 - ((\sum x)^2 / n))]^{1/2}$, $S_{y/x} = [(\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y) / (n-2)]^{1/2}$, Intervalo de de confianza para la ordenada al origen ($IC(\beta_0) = b_0 \pm t_{0.975, n-2} S_{b0}$), $S_{b0} = S_{y/x} [(1/n) + ((\sum x/n)^2 / (\sum x^2 - ((\sum x)^2/n))]^{1/2}$ y el coeficiente de variación de regresión ($CV_{y/x} = S_{y/x} / (\sum y/n) * 100$).

Tabla 14. Cantidad adicionada y recuperada para fenol

No.	CA µg/mL Fenol	CR µg/mL Fenol	No.	CA µg/mL Fenol	CR µg/mL Fenol
1	0.1200	0.1153	20	0.3600	0.3663
2	0.1200	0.1168	21	0.4800	0.4711
3	0.1200	0.1109	22	0.4800	0.4785
4	0.1200	0.1138	23	0.4800	0.4800
5	0.1200	0.1124	24	0.4800	0.4505
6	0.1200	0.1124	25	0.4800	0.4682
7	0.1200	0.1183	26	0.4800	0.4652
8	0.1328	0.1330	27	0.4800	0.4785
9	0.1328	0.1360	28	0.5130	0.5184
10	0.1328	0.1316	29	0.5130	0.5258
11	0.2400	0.2408	30	0.5130	0.5272
12	0.2400	0.2438	31	0.6000	0.5981
13	0.2400	0.2452	32	0.6000	0.6040
14	0.2400	0.2497	33	0.6000	0.5804
15	0.2400	0.2438	34	0.6000	0.5952
16	0.2400	0.2482	35	0.6000	0.5996
17	0.2400	0.2482	36	1.0182	1.0041
18	0.3600	0.3589	37	1.0182	1.0130
19	0.3600	0.3648	38	1.0182	1.0159
Σx		14.9520	b_1		0.9932
Σy		14.8838	b_0		0.0009
Σxy		8.2152	r^{2*}		0.9988
Σy^2		8.1753	$S_{y/x}$		0.0083235
Σx^2		8.2582	S_{b1}		0.005401
$t_{0.975, n-2}$		2.028	n		38
$IC(\beta_1)^{**}$		0.9822, 1.0042	S_{b0}		0.0025178
$IC(\beta_0)^{***}$		-0.0042, 0.0060	$CV_{y/x}^{****}$		2.1251
*Criterios de aceptación: $r^2 \geq 0.98$					
**Criterios de aceptación: El $IC(\beta_1)$ debe de incluir la unidad					
***Criterios de aceptación: El $IC(\beta_0)$ debe incluir el cero					
****Criterios de aceptación: El $CV_{y/x} \leq 3\%$					

6.4.5 Porcentaje de recobro (%R)

Para la determinación del porcentaje se sigue el procedimiento de análisis especificado en la determinación de linealidad del método y se debe reportar el porcentaje de recobro de cada muestra adicionada, al obtener el cociente de la cantidad recuperada respecto de la cantidad adicionada expresada en porcentaje y calcule el promedio aritmético, la desviación estándar, el coeficiente de variación y el intervalo de confianza para la media poblacional del porcentaje de recobro.[65]

Procedimiento de cálculo:

- 1) Tabular los resultados de la cantidad adicionada, la cantidad recuperada y el porcentaje de recobro para el fenol. (tabla 15)
- 2) Determinar la media aritmética, desviación estándar, coeficiente de variación de recobro y el intervalo de confianza para la media [$IC_{\mu} = \bar{u} \pm t_{0.975, n-1} (S / n^{1/2})$]

Tabla 15. Cantidad adicionada y porcentaje de recobro para fenol (%R)

No.	CA µg/mL Fenol	% Recobro	No.	CA µg/mL Fenol	% Recobro
1	0.1200	96.09	20	0.3600	101.75
2	0.1200	97.32	21	0.4800	98.15
3	0.1200	92.40	22	0.4800	99.69
4	0.1200	94.86	23	0.4800	100.00
5	0.1200	93.63	24	0.4800	93.85
6	0.1200	93.63	25	0.4800	97.54
7	0.1200	98.55	26	0.4800	96.92
8	0.1328	100.17	27	0.4800	99.69
9	0.1328	102.40	28	0.5130	101.05
10	0.1328	99.06	29	0.5130	102.49
11	0.2400	100.34	30	0.5130	102.78
12	0.2400	101.57	31	0.6000	99.69
13	0.2400	102.18	32	0.6000	100.67
14	0.2400	104.03	33	0.6000	96.73
15	0.2400	101.57	34	0.6000	99.19
16	0.2400	103.41	35	0.6000	99.93
17	0.2400	103.41	36	1.0182	98.62
18	0.3600	99.70	37	1.0182	99.49
19	0.3600	101.34	38	1.0182	99.78
\bar{u}	99.3073				
S	2.9343				
CV*	2.9548				
n	38				
$t_{0.975, n-1}$	2.026				
IC_{μ}^{**}	98.3429, 100.2717				
*Criterio de aceptación: El CV del porcentaje de recobro $\leq 3\%$					
**Criterio de aceptación: El IC_{μ} debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del porcentaje de recobro se incluya en el intervalo 97-103%.					

6.4.6 Límite de detección

Para el cálculo del límite de detección con base a la curva de calibración y la desviación estándar de regresión aplica para métodos instrumentales y no instrumentales y el analista debe preparar por lo menos tres concentraciones de la sustancia de interés; ya sea por dilución o por pesadas independientes del analito. Medir la respuesta analítica, calcular el valor de la pendiente, el coeficiente de determinación, la desviación estándar de regresión y el intervalo de confianza para la pendiente.

En el caso de utilizar el método con base en la curva de calibración y la desviación estándar de la ordenada al origen; se procede de la misma forma mencionada anteriormente y se calcula el valor de la pendiente, el coeficiente de determinación, la desviación estándar de la ordenada en el origen y el intervalo de confianza para la pendiente.[65]

Procedimiento de cálculo:

- 1) Tabular los resultados en la tabla 16 de la cantidad adicionada y la respuesta analítica para el fenol.
- 2) Determinar el límite de detección (LD) con base en la curva de calibración y la desviación estándar de regresión utilizando la siguiente ecuación:

$$LD = (3.3 S_{y/x}) / b_1.$$

- 3) Determinar el LD con base en la curva de calibración y la desviación estándar de la ordenada al origen usando la siguiente ecuación:

$$LD = (3.3S_{b0}) / b_1.$$

Tabla 16 Cantidad adicionada y respuesta analítica para fenol para LD

No.	Absorbancia	Cantidad adicionada µg/mL Fenol	No.	Absorbancia	Cantidad adicionada µg/mL Fenol
1	0.069	0.0668	25	0.280	0.3600
2	0.067	0.0668	26	0.281	0.3600
3	0.071	0.0668	27	0.295	0.3600
4	0.071	0.0668	28	0.296	0.3600
5	0.109	0.1200	29	0.303	0.3600
6	0.111	0.1200	30	0.352	0.4800
7	0.112	0.1200	31	0.357	0.4800
8	0.108	0.1200	32	0.358	0.4800
9	0.110	0.1200	33	0.338	0.4800
10	0.109	0.1200	34	0.350	0.4800
11	0.109	0.1200	35	0.348	0.4800
12	0.113	0.1200	36	0.357	0.4800
13	0.123	0.1328	37	0.374	0.4800
14	0.125	0.1328	38	0.384	0.5130
15	0.122	0.1328	39	0.389	0.5130
16	0.196	0.2400	40	0.390	0.5130
17	0.198	0.2400	41	0.438	0.6000
18	0.199	0.2400	42	0.442	0.6000
19	0.202	0.2400	43	0.426	0.6000
20	0.198	0.2400	44	0.436	0.6000
21	0.201	0.2400	45	0.439	0.6000
22	0.203	0.2400	46	0.713	1.0182
23	0.201	0.2400	47	0.719	1.0182
24	0.276	0.3600	48	0.721	1.0182
	b_1	0.6773	$LD = (3.3 S_{y/x}) / b_1$		0.0440
	r^2	0.9974			
	$S_{y/x}$	0.009037	$LD = (3.3 S_{b_0}) / b_1$		0.0113
	S_{b_0}	0.002315			

6.4.7 Límite de cuantificación

Para el cálculo del límite de cuantificación con base a la curva de calibración basado en la desviación estándar de regresión aplica para métodos instrumentales y no instrumentales y el analista debe preparar por lo menos 3 concentraciones de muestras adicionadas ya sea por dilución o por pesadas independientes del analito. Medir la respuesta analítica y calcular el valor de la pendiente, el coeficiente de determinación, la desviación estándar de regresión y el intervalo de confianza para la pendiente.

En el caso de utilizar el método con base en la curva de calibración y la desviación estándar de la ordenada al origen; se procede de la misma forma mencionada anteriormente y se calcula el valor de la pendiente, el coeficiente de determinación, la desviación estándar de la ordenada en el origen y el intervalo de confianza para la pendiente.[65]

Procedimiento de cálculo:

- 1) Tabular los resultados en la tabla 17 de la cantidad adicionada y la respuesta analítica para el fenol.
- 2) Determinar el límite de cuantificación (LC) con base en la curva de calibración basado en la desviación estándar de regresión utilizando la siguiente ecuación:

$$LC = (10 S_{y/x}) / b_1.$$

- 3) Determinar el LC con base en la curva de calibración y la desviación estándar de la ordenada al origen usando la siguiente ecuación:

$$LC = (10S_{b0}) / b_1.$$

Tabla 17. Cantidad adicionada y respuesta analítica para fenol para LC

No.	Absorbancia	Cantidad adicionada µg/mL Fenol	No.	Absorbancia	Cantidad adicionada µg/mL Fenol
1	0.069	0.0668	25	0.280	0.3600
2	0.067	0.0668	26	0.281	0.3600
3	0.071	0.0668	27	0.295	0.3600
4	0.071	0.0668	28	0.296	0.3600
5	0.109	0.1200	29	0.303	0.3600
6	0.111	0.1200	30	0.352	0.4800
7	0.112	0.1200	31	0.357	0.4800
8	0.108	0.1200	32	0.358	0.4800
9	0.110	0.1200	33	0.338	0.4800
10	0.109	0.1200	34	0.350	0.4800
11	0.109	0.1200	35	0.348	0.4800
12	0.113	0.1200	36	0.357	0.4800
13	0.123	0.1328	37	0.374	0.4800
14	0.125	0.1328	38	0.390	0.5130
15	0.122	0.1328	39	0.384	0.5130
16	0.196	0.2400	40	0.389	0.5130
17	0.198	0.2400	41	0.438	0.6000
18	0.199	0.2400	42	0.442	0.6000
19	0.202	0.2400	43	0.426	0.6000
20	0.198	0.2400	44	0.436	0.6000
21	0.201	0.2400	45	0.439	0.6000
22	0.203	0.2400	46	0.713	1.0182
23	0.201	0.2400	47	0.719	1.0182
24	0.276	0.3600	48	0.721	1.0182
	b_1	0.6773	$LC = (10 S_{y/x}) / b_1$		0.1334
	r^{2*}	0.9974			
	$S_{y/x}$	0.009037	$LC = (10 S_{b0}) / b_1$		0.0342
	S_{b0}	0.002315			

6.6 MEDICIÓN DE OTROS PARAMETROS A LAS MUESTRAS DE AGUA PURIFICADA

El agua para consumo humano a granel de acuerdo a la NOM-201-SSA1-2002 [66] es aquella que no contiene materia extraña, ni contaminantes, ya sean químicos, físicos o microbiológicos, que causen efectos nocivos a la salud, que es suministrada en presencia del consumidor. Por lo que esta norma establece especificaciones físicas (tabla 18), químicas (tabla 19) y microbiológicas (tabla 20).

Tabla 18. Especificaciones físicas

Especificación	Límite máximo
Color	15 unidades de color verdadero en la escala de platino cobalto
Turbiedad	5 Unidades de UNT

Tabla 19. Especificaciones químicas

Sustancia	Límite máximo (mg/L)
Nitratos como N	10.00
Nitritos como N	0.05
Fluoruros como F ⁻	1.5
Cloro residual libre	0,1
*Cloruros como Cl ⁻	250
*Sulfatos como [SO ₄] ⁻²	250
*SDT	500
*Dureza Total (CaCO ₃)	200

*De acuerdo a la NOM-041-SSA1-1993

Tabla 20. Especificaciones microbiológicas

Especificación	Límite máximo
Coliformes totales	< 1.1NMP/100mL

6.5.1 Parámetros fisicoquímicos

El color en el agua puede deberse a la presencia del contenido natural de metales o iones metálicos en disolución, humus o residuos orgánicos, plancton o desechos industriales. Por lo general se elimina el color para cualquier propósito de uso del agua. Es por ello, importante la determinación de color en aguas naturales.[67]

El color se mide mediante una comparación visual de la muestra con una escala estandarizada de platino-cobalto. La unidad platino-cobalto es la que se produce al disolver 1 mg de platino/L en forma de ion cloroplatinato.[66]

La turbiedad en agua se debe a la presencia de partículas suspendidas y disueltas. Materia en suspensión como arcilla, cieno o materia orgánica e inorgánica finamente dividida, así como compuestos solubles coloridos, plancton y diversos microorganismos. La transparencia del agua es muy importante cuando está destinada al consumo del ser humano, a la elaboración de productos destinados al mismo y a otros procesos de manufactura que requieren el empleo de agua con características específicas, razón por la cual, la determinación de la turbiedad es muy útil como indicador de la calidad del agua, y juega un papel muy importante en el desempeño de las plantas de tratamiento de agua, formando como parte del control de los procesos para conocer cómo y cuándo el agua debe ser tratada.[68]

El método se basa en la comparación entre la intensidad de la luz dispersada por la muestra bajo condiciones definidas y la intensidad de luz dispersada por una suspensión de referencia en condiciones semejantes. Las lecturas se realizan empleando un turbidímetro calibrado con una suspensión de referencia de formacina

preparada bajo condiciones específicas. El polímero de formacina es la referencia de turbiedad más aceptada, debido a que es fácil prepararlo y tiene propiedades reproducibles de dispersión de la luz, en comparación con otros como arcilla o agua turbia natural. La turbiedad de una suspensión de concentración específica de formacina se define como el equivalente a 40 UNT.[66]

Las aguas naturales o residuales con altos contenidos de sólidos suspendidos o sales disueltas no pueden ser utilizadas en forma directa por las industrias o por las plantas potabilizadoras. De ello se deriva el interés por determinar en forma cuantitativa estos parámetros. El principio de este método se basa en la medición cuantitativa de los sólidos y sales disueltas así como la cantidad de materia orgánica contenidos en aguas naturales y residuales, mediante la evaporación y calcinación de la muestra filtrada o no, en su caso, a temperaturas específicas, en donde los residuos son pesados y sirven de base para el cálculo del contenido de estos.[69]

La conductividad es un parámetro que va ligado al contenido de sólidos disueltos en agua, y el valor de esta depende de la cantidad y movilidad de iones cargados positiva y negativamente presentes en ella.

La temperatura termodinámica, también denominada temperatura absoluta, es una de las magnitudes fundamentales que definen el Sistema Internacional de Unidades (SI) y cuya unidad es el grado kelvin simbolizado como K. Esta unidad se utiliza tanto para expresar valores de temperatura termodinámica como intervalos de temperatura. El método de prueba normado establece el procedimiento para realizar la medición en el sitio donde se encuentra el agua, y el resultado se expresa en grados centígrados (°C).[70]

A continuación se muestran los resultados obtenidos para las 20 muestras de agua purificada, de acuerdo a los parámetros físicos y a los sólidos disueltos totales.(ver tabla 21)

Tabla 21. Resultados de los análisis físicos y sólidos disueltos totales

Número de muestra	Temperatura	Conductividad	SDT	Turbidez	Color
	°C	mS/cm	mg/L	UTN	Pt-Co
1	16.1	0.15	80	4.91	79
2	16.6	0.11	60	0.19	4
3	16.9	0.10	60	0.15	3
4	16.6	0.12	70	0.17	3
5	16.9	0.07	40	0.13	1
6	16.8	0.16	90	0.12	2
7	16.6	0.13	70	0.16	3
8	16.1	0.10	50	0.51	2
9	16.4	0.12	70	0.11	<LD
10	16.6	0.16	90	0.16	1
11	16.4	0.13	70	0.26	2
12	16.5	0.07	40	0.24	9
13	16.2	0.10	60	0.19	6
14	16.8	0.11	60	0.23	1
15	17.1	0.05	30	0.22	<LD
16	17.0	0.07	40	0.18	<LD
17	17.4	0.50	260	0.11	<LD
18	17.2	0.07	40	0.20	7
19	18.0	0.12	70	0.32	3
20	18.3	0.06	40	0.16	2

El nitrato es una de las formas de nitrógeno de mayor interés en las aguas naturales, residuales y residuales tratadas, se presenta generalmente a nivel de trazas en el agua de superficie, pero puede alcanzar niveles elevados en las subterráneas.

El nitrato se encuentra sólo en pequeñas cantidades en las aguas residuales domésticas, pero en el diluyente de las plantas de tratamiento biológico desnitrificante, el nitrato puede encontrarse en concentraciones de hasta 30 mg de nitrato como N/L. El nitrato es un nutriente esencial para muchos autótrofos

fotosintéticos, y en algunos casos ha sido identificado como el determinante del crecimiento de estos. Una concentración alta de nitratos es indicio de una etapa mayor de mineralización de los compuestos nitrogenados. En las aguas de algunos pozos suele encontrarse cantidades apreciables de nitratos, lo que es objetable desde el punto de vista sanitario. [71]

El ion nitrato (NO_3^-) reacciona con la brucina en H_2SO_4 a 100°C para formar un compuesto colorido el cual es medido a una longitud de onda de 410 nm. El método es aplicable a muestras con un contenido de 0.1 a 2 mg N- NO_3^-/L . [66]

El nitrito considerado como una etapa intermedia en el ciclo del nitrógeno puede estar presente en el agua como resultado de la descomposición biológica de materiales protéicos. En aguas superficiales crudas, las huellas de nitritos indican contaminación. También se puede producir el nitrito en las plantas de tratamiento o en los sistemas de distribución de agua, como resultado de la acción de bacterias sobre el nitrógeno amoniacal.

El nitrito puede entrar en un sistema de abastecimiento a través de su uso como inhibidor de corrosión en agua de proceso industrial. El nitrito es un agente etiológico potencial de metahemoglobinemia. El ácido nitroso, que se forma de nitritos en solución ácida, puede reaccionar con aminas secundarias ($\text{RR}'\text{-NH}$) para formar nitrosaminas ($\text{RR}'\text{-N-N=O}$) muchas de las cuales son conocidas por ser potentes agentes carcinogénicos.

El nitrógeno de nitritos rara vez aparece en concentraciones mayores a 1 mg/L aún en efluentes de plantas de tratamiento municipales. Su concentración en aguas superficiales y subterráneas es normalmente más baja de 0,1 mg/L Debido a que el

nitrógeno es un nutriente esencial para organismos fotosintéticos, es importante el monitoreo y control de descargas del mismo al ambiente. [72]

Los nitratos presentes reaccionan en medio ácido (pH 1.9 a 2.5), con la sulfanilamida para formar una sal de diazonio, la cual por copulación con el diclorhidrato de N-(1-naftil) etilendiamina forma un colorante azoico de color púrpura rojizo que se mide espectrofotométricamente a una longitud de onda de 543 nm. Intervalo de trabajo de 1 a 25 $\mu\text{g N-NO}_2$. [66]

Los iones fluoruro se encuentran en forma natural en el agua. El fluoruro forma complejos con silicio, aluminio y boro. Estos complejos pueden existir en el agua debido al uso de compuestos fluorados por la industria. En muchas comunidades la fluoración de aguas potables se utiliza para la prevención de caries dental. Sin embargo en muchas regiones los niveles de fluoruro exceden con mucho los límites máximos permisibles y su presencia (natural) se convierte en un problema de salud pública. La determinación de fluoruros ha incrementado su importancia con el crecimiento de las prácticas de fluoración de aguas como una medida de salud pública. La mayoría de las aguas no contienen más allá de 0.3 mg/L de fluoruros, excepto cuando se contaminan con desechos industriales o aguas negras, sobre todo si provienen de industrias del acero, aluminio, fertilizantes, de la elaboración de esmaltes y vidrios, en la fabricación de gomas y almidones adhesivos así como del pretratamiento de cueros y pieles [73]. La determinación se basa en la reacción entre el ion fluoruro y los iones zirconio en medio ácido para producir un compuesto colorido que es medido espectrométricamente a una longitud de onda de 570 nm. [66]

La cloración de aguas se utiliza para destruir o desactivar a los microorganismos causantes de enfermedades. El tratamiento en aguas potables mejora la calidad del agua por reacción del cloro con el amoníaco, hierro, manganeso, sulfuros y algunas sustancias orgánicas; sin embargo también puede producir efectos adversos. El color y olor característico de Fenoles y otros compuestos orgánicos presentes en el agua puede intensificarse además de formar compuestos carcinogénicos.

El cloro aplicado al agua sufre diversas reacciones para producir cloro libre que consiste en cloro molecular acuoso, ácido hipocloroso e ion hipoclorito. A su vez el cloro libre es capaz de reaccionar fácilmente con el amoníaco y ciertos compuestos de nitrógeno formando cloro combinado produciendo monocloraminas, dicloroaminas y tricloruro de nitrógeno (compuestos potencialmente cancerígenos). La concentración y presencia de las especies de cloro libre y combinado depende de la temperatura, pH, proporción Cl_2/N y tiempo de reacción. Tanto el cloro libre como el combinado pueden presentarse simultáneamente en el agua. En aguas naturales, tratadas y residuales tratadas es posible determinar la concentración de cloro libre, cloro combinado y cloro total, en el caso de cloro combinado es posible hacer una diferenciación entre monocloraminas, dicloraminas y tricloruro de nitrógeno. En aguas residuales no se suele establecer diferenciación entre cloro libre y cloro combinado, debido a que la cloración de aguas residuales raramente alcanza el nivel suficiente para producir cloro libre.[74] La determinación se basa en la reacción del cloro libre disponible con el indicador N N-Dietil-p-fenildiamina (DFD) en ausencia de

ion yoduro para formar un compuesto de coloración roja el cual es medido espectrométricamente a una longitud de onda de 515 nm.[66]

El ión cloruro es uno de los iones inorgánicos que se encuentran en mayor cantidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas, su presencia es necesaria en aguas potables. En agua potable, el sabor salado producido por la concentración de cloruros es variable. En algunas aguas conteniendo 25 mg Cl⁻/L se puede detectar el sabor salado si el catión es sodio. Por otra parte, éste puede estar ausente en aguas conteniendo hasta 1g Cl⁻/L cuando los cationes que predominan son calcio y magnesio. Un alto contenido de cloruros puede dañar estructuras metálicas y evitar el crecimiento de plantas. Las altas concentraciones de cloruro en aguas residuales, cuando éstas son utilizadas para el riego en campos agrícolas deteriora, en forma importante la calidad del suelo

La determinación de cloruros por este método se basa en una valoración con nitrato de plata utilizando como indicador cromato de potasio. La plata reacciona con los cloruros para formar un precipitado de cloruro de plata de color blanco. En las inmediaciones del punto de equivalencia al agotarse el ión cloruro, empieza la precipitación del cromato. La formación de cromato de plata puede identificarse por el cambio de color de la disolución a anaranjado-rojizo así como en la forma del precipitado. En este momento se da por terminada la valoración. [75]

El Ion sulfato ([SO₄]²⁻) es uno de los iones mas abundantes en el agua natural. Es importante en los abastecimientos publicos debido a sus efectos catárticos en los humanos cuando esta presente en cantidades excesivas. Por esta arazon, en el agua destinada para consumo humano el límite máximo recomendado es de 250

mg/L. [7] El ion sulfato precipita con cloruro de bario, en un medio ácido (HCl), formando cristales de sulfato de bario de tamaño uniforme. La absorción espectral de la suspensión del sulfato de bario se mide con un nefelómetro o fotómetro de transmisión. La concentración de ion sulfato se determina por comparación de la lectura con una curva patrón.[76]

Este método especifica el procedimiento para determinación de dureza en agua por titulación. La dureza se entiende como la capacidad de un agua para precipitar al jabón y esto está basado en la presencia de sales de los iones calcio y magnesio. La dureza es la responsable de la formación de incrustaciones en recipientes y tuberías lo que genera fallas y pérdidas de eficiencia en diferentes procesos industriales como las unidades de transferencia de calor. El término dureza se aplicó en principio por representar al agua en la que era difícil (duro) de lavar y se refiere al consumo de jabón para lavado, en la mayoría de las aguas alcalinas esta necesidad de consumo de jabón está directamente relacionada con el contenido de calcio y magnesio. El método se basa en la formación de complejos por la sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético con los iones calcio y magnesio. El método consiste en una valoración empleando un indicador visual de punto final, el negro de eriocromo T, que es de color rojo en la presencia de calcio y magnesio y vira a azul cuando estos se encuentran acomplejados o ausentes. El complejo del EDTA con el calcio y el magnesio es más fuerte que el que estos iones forman con el negro de eriocromo T, de manera que la competencia por los iones se desplaza hacia la formación de los complejos con EDTA desapareciendo el color rojo de la disolución y tornándose azul.[77].

A continuación se presentan los resultados obtenidos para el análisis químico de las muestras de agua purificada (ver tabla 22)

Tabla 22. Resultados de los análisis químicos

Número de muestra	Cloruros	Cloro libre	Dureza	Nitratos	Nitritos	Sulfatos	Fluoruros
	mg/L	mg/L	mg/L CaCO ₃	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
1	21.00	0.07	14.95	0.2	0.0062	12.0	1.33
2	26.15	0.14	2.49	0.2	0.0013	0.3	0.12
3	21.10	0.02	3.49	0.2	0.0061	0.3	0.33
4	20.35	0.05	13.95	0.2	0.0031	12.7	1.48
5	13.45	0.03	3.99	0.4	0.0059	0.8	1.50
6	35.30	0.01	5.98	0.1	0.0052	0.4	0.19
7	26.45	0.02	4.49	0.1	0.0062	3.0	0.30
8	17.95	0.03	3.99	0.3	0.0020	0.9	1.62
9	22.65	0.01	4.98	0.2	0.0045	0.1	0.26
10	43.90	0.03	5.98	0.1	0.0057	2.4	1.36
11	27.15	0.02	6.98	1.4	0.0055	0.1	<LD
12	16.05	0.01	2.49	0.4	0.0058	0.4	<LD
13	20.25	0.01	2.99	0.3	0.0047	0.7	<LD
14	19.00	0.04	3.49	0.5	0.0056	0.5	0.03
15	6.15	0.01	7.48	0.5	0.0087	0.5	0.05
16	15.40	0.01	1.50	0.6	0.0038	0.5	0.01
17	96.45	0.04	21.93	0.5	0.0046	69.5	0.30
18	10.35	0.01	1.00	0.2	0.0050	0.8	0.04
19	18.43	0.02	2.49	1.6	0.0049	0.3	0.10
20	14.20	0.01	1.99	0.3	0.0048	0.5	<LD

6.5.2 Parámetros microbiológicos

Las bacterias coliformes son un grupo heterogéneo compuesto por varios. Existe poca evidencia que indique que estas bacterias coliformes pertenezcan a un solo género taxonómico.

La falta de certeza en cuanto a su filiación taxonómica y la imprecisa correlación entre los métodos recomendados para la detección de coliformes han presentado problemas. El primero, es que *Escherichia coli* es aceptada como bacteria coliforme, la especie contiene variantes que no producen gas de la lactosa o lo hacen después de 48 horas, por lo que no se les identifica por medio de esta técnica. Segundo, la capacidad de fermentar la lactosa está frecuentemente asociada a genes localizados en plásmidos. Estos determinantes extracromosomales son fácilmente transferidos entre otras bacterias Gram negativas no relacionadas a las coliformes, que pueden, en consecuencia, ser recuperadas en la etapa inicial del análisis. No obstante en la práctica, la técnica ha demostrado su efectividad.

El número de organismos se establece mediante la cuenta de unidades formadoras de colonias (NOM-113-SSA1-1994. Método para la Cuenta de Microorganismos Coliformes Totales en Placa) o el uso de la técnica del número más probable. Esta última, también llamada técnica de dilución en tubo, proporciona una estimación estadística de la densidad microbiana presente con base a que la probabilidad de obtener tubos con crecimiento positivo disminuye conforme es menor el volumen de muestra inoculado.[78]

Tabla 23. Resultados de análisis microbiológico a muestras de agua purificada

Muestra	Coliformes NMP/100mL	Coliformes Totales NMP/100 mL	Enterobacterias	Vibrio cholerae Serotipo 01
1	0	0	0	Ausente
2	0	0	0	Ausente
3	0	0	0	Ausente
4	0	0	0	Ausente
5	0	0	0	Ausente
6	0	0	0	Ausente
7	0	0	Enterobacter aerogenes	Ausente
8	0	0	0	Ausente
9	1	0	Pseudomona aeruginosa	Ausente
10	0	0	0	Ausente
11	0	0	0	Ausente
12	0	0	0	Ausente
13	1	0	Pseudomona alcaligenes	Ausente
14	1	0	Pseudomona alcaligenes, Enterobacter cloacae	Ausente
15	0	0	0	Ausente
16	2	0	Escherichia coli	Ausente
17	0	0	0	Ausente
18	0	0	0	Ausente
19	0	0	0	Ausente
20	0	0	0	Ausente

CONCLUSIONES

En principio, es posible determinar que los derivados dansilados fenólicos formados, incrementan en gran medida su intensidad fluorescente debido a que las longitudes de excitación se desplazan a longitudes de onda más largas en cambio la longitud de emisión se acorta cuando los compuestos fenólicos se encuentran acoplados al cloruro de dansilo; esto es debido al efecto de rigidez estructural que le infiere. De igual forma se observa que a medida que se presenta cloro como sustituyente del fenol en las posiciones orto, para o ambas en el anillo aromático, el rendimiento cuántico tiende a disminuir y por consecuencia a provocar una menor intensidad fluorescente, mostrando un comportamiento decreciente en la intensidad fluorescente de los derivados dansilados de la siguiente forma: fenol > 4-clororfenol > 2-clorofenol >> 2,4 diclororfenol.

Se implementa un método de cuantificación por cromatografía de líquidos de alta resolución para los derivados fenólicos dansilados. Primeramente se obtienen los tiempos de retención de cada compuesto fenólico puro y su mezcla y posteriormente de los derivados dansilados, mostrando la necesidad de utilizar gradiente de la fase móvil (agua-acetonitrilo, agua-metanol) debido a la diferencia de polaridad de los analitos, encontrando que el acetonitrilo como fase móvil mejora la resolución de los picos aunque alarga los tiempos de retención, mientras que con metanol presenta el efecto inverso, esto es, acorta los tiempos de retención pero la resolución de los picos disminuye.

Los resultados del análisis por cromatografía muestran que los compuestos fenólicos puros son factibles de cuantificar por este método, ya que las ecuaciones de regresión indican un comportamiento lineal. Sin embargo la cuantificación de los derivados dansilados es parcial, debido a que los cromatogramas muestran una señal muy intensa la cual corresponde al producto de la hidrólisis del cloruro de dansilo (1-dimetilaminonaftaleno-5-acido sulfónico), esto abate la intensidad fluorescente de los derivados dansilados, además se encuentran picos correspondientes a los compuestos puros.

En conclusión este método no es recomendable para la cuantificación de derivados dansilados bajo estas condiciones.

Buscando otros métodos que nos permitan la cuantificación de fenol, 4-clorofenol, 2-clorofenol y 2,4 diclorofenol en agua purificada directamente, se probó el método oficial establecido en la norma NMX-AA-050-SCFI-2001 y el método de Chunli Kang et al (2000), los cuales muestran que el valor de la pendiente en curvas patrón decrece en el siguiente orden: fenol > 2-clorofenol > 4-clorofenol >>> 2,4 diclorofenol; la señal mostrada por este último no es significativa para el método de Chunli Kang. Aplicando estos métodos a muestras de agua purificada sin destilar, presentan recuperaciones muy bajas, por lo cual este método no es recomendable para nuestro fin.

Una alternativa viable para la cuantificación de estos analitos en agua purificada sin destilar es utilizar cloruro férrico. Este método muestra pendientes similares o ligeramente superiores a las curvas patrón en agua destilada para fenol, 2-clorofenol y 4-clorofenol, mientras que para el 2,4-diclorofenol el comportamiento es ligeramente inferior. En todos los casos se aplica el método de adición de estándar y se observa un comportamiento lineal cuando se realizan las lecturas a 720 nm y dentro de los primeros 15 minutos de la reacción.

Los resultados obtenidos al calcular la precisión del sistema a dos niveles de concentración: 0.120 y 0.240 $\mu\text{g}/\text{mL}$, de las disoluciones de fenol muestran un coeficiente de variación de 1.4668 y 1.1892 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectivamente, comparado con el criterio de aceptación $\text{CV} \leq 1.5\%$ indican que están dentro de especificaciones. En lo relacionado a linealidad del sistema, se tienen dos criterios de aceptación; el primero relacionado con el coeficiente de regresión: $r^2 \geq 0.98$, obteniendo un valor de 0.9974 y el segundo con el intervalo de confianza para la pendiente, el cual no debe incluir al cero y para nuestro sistema se presentan valores entre 0.6665 y 0.6881.

La exactitud y repetibilidad del método indican que el intervalo de confianza para la media debe incluir el 100%, nuestro método indica valores entre el 99.95 y 102.86.

Para la linealidad del método se tienen varios criterios de aceptación entre ellos esta el intervalo de confianza para la pendiente, el cual debe incluir la unidad, mostrando valores entre 0.9822 y 1.0042; y el intervalo de confianza para la ordenada al origen, el cual debe incluir el cero; para nuestro método esta entre -0.0042 y 0.0060.

El método es confiable, reproducible y repetible para el caso de fenol se tiene un porcentaje de recobro entre 98.34 y 100.27 el cual se encuentra dentro de los criterios de aceptación para métodos espectrofotométricos, en lo que respecta al intervalo de confianza para la media debe de estar entre un 97 y 103%.

Con respecto al límite de detección para fenol calculado en nuestro método, en base a la curva de calibración y la desviación estándar de la ordenada al origen es de 0.0113, mientras que para el límite de cuantificación se tiene un valor de 0.0342, lo cual es favorable para la cuantificación de nuestros compuestos.

Adicionalmente a las muestras de agua purificada se les realizó análisis fisicoquímico y microbiológico con el fin de establecer si los establecimientos que expenden este tipo de producto cumplen con los límites máximos permisibles establecidos en la NOM-2501-SSA1-2002. De acuerdo con los resultados encontrados nos permiten concluir el que la muestra No.1 para el parámetro de color sobrepasa en gran medida el límite de 15 unidades de color verdadero en la escala Pt-Co y la turbidez, como es de esperar presenta un valor de 4.91 unidades de turbidez nefelométricas, el cual esta muy cercano al límite máximo permitido de 5 UTN. Pare el caso de la muestra 17 los valores de cloruros, dureza, sulfatos y sólidos disueltos totales a pesar de no pasar los limites máximos establecidos, son superiores a los esperados en una empresa que se dedica a purificar agua, lo que indica que su proceso no es eficiente.

En lo que se refiere a análisis microbiológico de la serie de muestras analizadas, se puede indicar que todas cumplen con el parámetro de coliformes totales exigido por la NOM-2501-SSA1-2002. a pesar de que la norma no exige otro tipo de análisis microbiológico se realizó la determinación de Enterobacterias se identifican en seis muestras; lo cual permite concluir que las personas que ingieran este tipo de agua podrán contraer enfermedades gastrointestinales.

En base a los resultados obtenidos, se puede concluir el que el método del cloruro férrico propuesto en el presente trabajo, es una metodología alterna para la cuantificación de fenol y clorofenoles en agua purificada por espectrofotometría en la región del visible, ya sea cuantificarlos mediante curva de calibración o por el método de adición de estándar, en el cual se elimina el efecto de matriz, mejorando la cuantificación de los analitos de interés.

FUTURAS INVESTIGACIONES

- ♣ Evaluar el método del cloruro férrico aplicándolo a compuestos que contienen grupo nitro como sustituyente.
- ♣ Aplicar el método del cloruro férrico al análisis de muestras de agua residual.
- ♣ Validar el método para los otros compuestos que tienen diferentes sustituyentes y los cuales no se pueden cuantificar con método tradicional de la 4-aminoantipirina.

REFERENCIAS

- [1] Martínez, D., Pocurull, E., Marcé, R.M., Borrel, F., Calull, M., J. Chromatogr. A 734 (1996) 367
- [2] Kontsas, H., Rosenberg, C. , Pfaffli, P., Jappinen, P., Analyst 120 (1995) 1745.
- [3] McKague, A.B J. Chromatogr. 208 (1981) 286.
- [4] Tremp, J., Mattrel, P., Fingler, S., Gigger, W., Water Air Soil Pollut. 68 (1993) 113
- [5] EPA Method 604, Phenols, Part VIII , 40 CFR part 136, (1984) 58
- [6] EPA Method 8041, Phenol by Gas Chromatography (1995) 1
- [7] Sawyer Clair N., McCarty Perry I., Parkin Gene F., Química para Ingeniería Ambiental, Cuarta edición, Mc Graw Hill, 2001
- [8] Morrison, R.T., Boyd R.N. Química Orgánica. Addison-Wesley Iberoamericana, SA. México (1990).
- [9] “The Merk Index”, 12th Ed., pág 7390, nº 7390, Merk and Co., Inc., New Jersey, U.S.A., 1996.
- [10] Gómez Martha Cecilia. Remoción de Fenoles de las Aguas de Producción de los Campos Trinidad y Barquerena, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, 1998.
- [11] Universidad Autónoma de Madrid. Alquilarenos, fenoles y anilinas; parte de: La Química Orgánica Transparente, disponible en: http://www.uam.es/departamentos/ciencias/qorg/docencia_red/qo/l14/fenol0.html

- [12] Dreisbach, R., Hanbook of poisoning: prevention, diagnosis, and treatment, Lange Medical Publications (Estados Unidos), 1980
- [13] Litter, M. "Farmacología: experimental y Clínica", 7ed, Ateneo (Argentina), 1986.
- [14] Arena, J., Poisoninig, Toxicology, Symptoms, Treatments 3ra Ed., American lectures series, 1973.
- [15] Water On Tap (<http://www.epa.gov/safewater/wot/>), Drinking Water (<http://www.epa.gov/safewater/contaminants/index.html#primary>) Environmental Protection Agency (<http://www.epa.gov>).
- [16] García J., Diez F., Métodos Alternativos para el tratamiento de efluentes fenólicos industriales. Ingeniería Química (Madrid), 151-157, Enero 1989
- [17] Modificación de Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Fecha de Modificación en D.O.F: 22 de Noviembre 2000.
- [18] "Real Decreto 849/1986, 11 de abril por el que se aprueba el Reglamento del Dominio Público Hidráulico, que desarrolla los títulos preliminares I, IV, V,VI, VII de la ley de aguas 29/1985, de 2 de agosto"
- [19] "Real Decreto 927/1988, de 29 de julio, por el que se aprueba el Reglamento de la Administración pública de Agua y de la Planificación Hidrológica, en el desarrollo de los Títulos II y III de la ley de aguas"
- [20] "Real Decreto 1138/1990, de 14 de septiembre por el que se aprueba la

Reglamentación Técnico Sanitaria para el abastecimiento y control de calidad de las aguas potables de consumo público”, (Boletín núm. 226, 20 de septiembre)

- [21] Paingerelli, V., Nerini, F., Cavalli, S. *Ann Chim.* 83 (1993) 331
- [22] Rodríguez I., Llompart, M.P., Cela, R. *J. Chromatogr A*, 885 (2000) 292, 294,299
- [23] C.L Arthur, L.M Killam, K.D Buchholz, J. Pawliszyn, *Anal. Chem* 64 (1992) 1960
- [24] D. W Potter, J. Pawliszyn, *Enviro. Sci. Technol.* 28 (1994) 298
- [25] Adem Asan, Ibrahim Isildak, *J. Chromatogr A*, 988 (2003) 147
- [26] Peñalver A., Pocurull E., Borrul F., Marce R.M, *J. Chromatogr. A* 953 (2002) 81
- [27] Renato Belloli, Barbara Berleta, Elzio Bolzacchini, Simona Meinardi, Marco Orlando, Bruno Rindone, *J. Chromatogr. A.* 846 (1999) 278
- [28] Gonzalez-Toledo, E., Prat, M.D., Alpendurada, M.F, *J. Chromatogr. A* . 923 (2001) 47
- [29] Rodier, J. "Análisis de las aguas (aguas naturales, residuales, de mar)", 393-395, Ediciones Omega S.A., Barcelona, 1990
- [30] "Standard Methods for examination of water (APHA-AWWA-WPCF)", pág 5-56-5-63, Ediciones Díaz de Santos S.A, 1992
- [31] Marko Varga; Barceló D. *Chromatographia*, 34(3-4),146-154 (1992).
- [32] Di Corcia A. Marchese S., Samperi R, *J. Chromatogr.*,642, 175-184 (1993)
- [33] Pocurull, E., Calull, M. Marcé R., Borrul, F. *J. Chromatogr. A* 719, 105-112

(1996)

[34] Fiehn, O. Jekel, M., J. Chromatogr A, 769, 189-200 (1997)

[35] Godejohann, M., Preib, A., Levsen, K., Wünsch, G., Chromatographia, 43(11-12), 612-618 (1996)

[36] Pocurrul, E., Marcé, R.M.; Borrull, F., Chromatographia, 41 (9-10), 521-526 (1995)

[37] Galceran, M., Jáuregui, O., Anal. Chim Acta, 304, 75-84 (1995)

[38] Cardellicchio, N., Cavalli, S., Piangerelli, V. Giandomenico, S. Ragone, P., Frenesius, J., Anal. Chem., 358, 749-754 (1997)

[39] Alarcon, P. Bustos A., Cañas B., Andres M., Polo L., Chromatographia, 24, 613-616 (1987)

[40] Pocurrul, E., Marcé, R.M.; Borrull, F., Chromatographia, 40 (1-2), 85-90 (1995)

[41] Martinez, D., Pocurrul, E. Marcé, R.M., Borrull, F. Calull M. Chromatographia, 43 (11-12), 619-624 (1996)

[42] Puig, D., Barceló, D., Chromatographia, 40 (7-8), 435-444, (1995)

[43] Castillo M., Puig, D., Barceló, D., J. Chromatogr. A , 778, 301-311, (1997)

[44] Cappillo, A., Famiglini, G., Kaplan, D.L. J. Chromatogr. A , 768, 215-222 (1997)

[45] Ankara, J.A. Greenberger, M., Kaplan, D.L. J. Chromatogr 604, 247-253, (1992)

[46] Ramirez Martinez J.R. J. Sci. Food Agric, 43, 135-144, (1988)

[47] Puig, D., Barceló, D., Anal. Chim. Acta, 311, 63-69 (1995)

- [48] Busto, O., Olucha, J., Borrull, F., *Chromatographia*, 32, (9-10), 423-428 (1991)
- [49] Moskvín, AL., Moskvín, LN., Mozzhukhin AV., Fomin, VV. *J. Anal. Chem.*, 55 (4), 354-357 (2000)
- [50] Michalowski, J., Halaburda P., Kojlo, A., *Anal. Lett.*, 33 (7), 1373-1386 (2000)
- [51] Möller J., Martin, M., *Fresenius´Z. Anal .Chem.*, , 329 (6), 728-731 (1988)
- [52] Erxleben, H., Simon, J., Moskvín LN., Nikitina, TG., *J. Flow. Injection Analysis*, 18 (1), 39-42 (2001)
- [53] Li, JF., Zhang, FJ., Dang ZM., Tang, ZX., *Fenx. Huaxue*, 24 (3), 312-314 (1996)
- [54] Zhi, ZL., Ríos, A., Válcárcel, M., *Analyst*, , 121 (1-6) (1996)
- [55] Wen-lu. Song, Zheng-Liang. Zhi y Lian-Sheng. Wang, *Talanta*, 44, 1423-1433 (1997)
- [56] Harris Daniel C., *Análisis Químico Cuantitativo*, 3ra. Edición, Ed. Reverte (2007) pp 88-89
- [57] Determinación de Fenoles Totales en Aguas Naturales, Potables, Residuales y Residuales Tratadas NMX-AA-050-SCFI-2001 (<http://www.economia-nmx.gob.mx/>)
- [58] Chunli Kang, Ying Wang, Runbo Li, Yaoguo Du, Jun LI, Bowen Zhang, Living Zhou, Yuzhong Du. *Microchemical Journal* 64, 161-171 (2000)
- [59] Directiva 80/778/CEE del Consejo relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano de 15 de julio de 1980.
- [60] Directiva 76/160/CEE del Consejo, de 8 de diciembre de 1975, relativa a la calidad de aguas de baño. Modificada por la Directiva 91/692/CEE del Consejo, de

23 de diciembre de 1991.

[61] Directiva 75/440/CEE del Consejo relativa a la calidad requerida para las aguas superficiales destinada a la producción de agua potable en los estados miembros del 16 de junio de 1975.

[62] Phenols Method 8047 DR/4000 HACH, 4-Aminoantipyrine Method (0 to 0.200 mg/L), 6/03 11ed. USA (<http://www.hach.com/>)

[63] Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR, por sus siglas en inglés), <http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/07list.html>

[64] ACD / Name Pro Version 4.0 for Microsoft Windows Systematic names for general organic compounds, according to guidelines specified by the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC).

[65] García Ma. Araceli, Soberon Evelyn, Cortes Myriam, Rodríguez Ramón, Herrera José Luís, Alcántara Alejandro, Guía de Validación de Métodos Analíticos, editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México A.C. Edición (2002).

[66] NORMA Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2002, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias, Publicación en DOF:18 de octubre 2002 (<http://portal.salud.gob.mx>)

[67] Determinación de Color Platino Cobalto en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas NMX-AA-045-SCFI-2001(<http://www.economia-nmx.gob.mx/>)

[68] Determinación de Turbiedad en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas NMX-AA-038-SCFI-2001(<http://www.economia-nmx.gob.mx/>)

- [69] Determinación de Sólidos y Sales Disueltas en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas NMX-AA-034-SCFI-2001 (<http://www.economia-nmx.gob.mx/>)
- [70] determinación de la Temperatura Disueltas en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas NMX-AA-007-SCFI-2000 (<http://www.economia-nmx.gob.mx/>)
- [71] Determinación de Nitratos en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas NMX-AA-079-SCFI-2001 (<http://www.economia-nmx.gob.mx/>)
- [72] Determinación de Nitrógeno de Nitritos en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas NMX-AA-099-SCFI-2006 (<http://www.economia-nmx.gob.mx/>)
- [73] Determinación de Fluoruros en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas NMX-AA-077-SCFI-2001 (<http://www.economia-nmx.gob.mx/>)
- [74] Determinación de Cloro libre y Cloro total NMX-AA-108-SCFI-2001 (<http://www.economia-nmx.gob.mx/>)
- [75] Determinación de Cloruros Totales en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas NMX-AA-073-SCFI-2001(<http://www.economia-nmx.gob.mx/>)
- [76] Determinación de Ion Sulfato NMX-AA-074-1981 (<http://www.economia-nmx.gob.mx/>)
- [77] Determinación de la Dureza Total en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas NMX-AA-072-SCFI-2001 (<http://www.economia-nmx.gob.mx/>)
- [78] Determinación de Bacterias Coliformes. Técnica Del Número Más Probable. NOM-112-SSA1-1994 (<http://portal.salud.gob.mx>)