

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

IMPLEMENTACIÓN DE UN PROCESO DE EXTRACCIÓN Y SEPARACION DE LOS DERIVADOS CLORADOS TRAZA FORMADOS A CAUSA DE LA CLORACIÓN DEL AGUA EN MEDIO ÁCIDO.

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE INGENIERO QUÍMICO

PRESENTA

MARICRUZ VIANEY SÁNCHEZ ANGEL

ASESOR

M.C. ANA MARÍA NÚÑEZ GAYTÁN

MORELIA, MARZO 2007

ÍNDICE.

Antecedentes.....	1
Justificación.....	2
I.- Introducción.....	3
I.1.- Proceso de Coloración del Agua.....	7
I.2.- Características generales de los fenoles y clorofenoles.....	15
I.3.- Métodos de determinación de fenoles y clorofenoles.....	16
I.3.1.-Cromatografía.....	17
I.3.2.- Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR).....	18
I.3.2.1.- Diferentes Métodos de la CLAR.....	19
I.3.2.2.- Instrumentación de la CLAR.....	23
I.4.- Extracción en Fase Sólida.....	27
II.- Objetivos.....	32
III.- Desarrollo Experimental.....	33
III.1.- Disoluciones estándar y de patrón primario.....	34
III.2.- Desarrollo del Método.....	35
IV.- Resultados Obtenidos.....	36
IV.1.- Separación Cromatográfica.....	36
IV.2.- Eficiencia de la columna.....	41
IV.3.- Transformación química del 3-clorofenol a causa de la coloración.....	43
IV.4.- Poder oxidante del cloro.....	44
IV.4.1.- Diagrama de equilibrio de potencial condicional del cloro.....	45
IV.5.-Resultados de la Reacción de coloración del Fenol.....	52
V.- Conclusiones.....	73
VI.- Glosario.....	74
VII.- Apéndices	
A.- Ecuaciones para el cálculo de la Repetibilidad de la Separación.....	76
B.- Ecuaciones para el cálculo de la Eficiencia de la Columna.....	77
C.- Ecuaciones para el cálculo de Producto Formado.....	78
D.- Propiedades Físicas y Químicas del Fenol y Clorofenoles.....	79
VIII.- Bibliografía.....	81

ANTECEDENTES

En este trabajo experimental se pretende estudiar el proceso de transformación del 3-clorofenol (3-CF) en agua potable a causa del proceso de cloración. El cloro reacciona con los fenoles a nivel de trazas (ppb) para formar compuestos policlorados potencialmente tóxicos que alteran la calidad del agua y por lo tanto constituyen un serio problema ambiental.

Dado que en nuestro país la cloración del agua es el método más comúnmente utilizado para su purificación, es indispensable realizar estudios más profundos para conocer las transformaciones que pueden sufrir los compuestos orgánicos durante el proceso dependiendo de las condiciones en que éste se lleve a cabo.

La caracterización de los productos formados (diclorofenoles) por la cloración del 3-CF se efectúa mediante una técnica de separación como la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) y un método muy eficiente de preparación de muestra como la Extracción en Fase Sólida (EFS). De esta manera los compuestos de interés son extraídos y concentrados sobre un adsorbente empacado en una precolumna y posteriormente mediante un arreglo de válvulas de conmutación, son transferidos directamente a la columna analítica (C-18) para su separación, detección y cuantificación.

La detección de los compuestos formados (clorofenoles) se realiza con un detector UV a 280nm.

JUSTIFICACIÓN

El trabajo experimental de este proyecto de tesis es importante desde el punto de vista del área ambiental, debido a que la gran aplicación de los clorofenoles dentro de diversas áreas de la industria química ha dado lugar a la contaminación tanto de aguas como de suelos. Por ello, es necesario desarrollar métodos analíticos en el empleo de técnicas analíticas precisas y exactas para poder determinar estos contaminantes a nivel de trazas en aguas.

Además el proceso de cloración del agua provoca la formación de compuestos policlorados más tóxicos que alteran la calidad de agua, por ello es necesario conocer qué cantidad y tipo de compuestos se forman, utilizando para ello la CLAR y un método eficiente de preparación de muestra.

I.- INTRODUCCIÓN

El abastecimiento de agua para uso y consumo humano con calidad adecuada es fundamental para prevenir y evitar la transmisión de enfermedades gastrointestinales y otras, para lo cual se requiere establecer límites permisibles en cuanto a sus características bacteriológicas, físicas, organolépticas, químicas y radiactivas.

Con el fin de asegurar y preservar la calidad del agua en los sistemas, hasta la entrega al consumidor, se debe someter a tratamientos de potabilización.

Para lo cual se establece la Norma Oficial Mexicana 127 [13], que establece los límites permisibles de calidad y los tratamientos de potabilización del agua para uso y consumo humano, que deben cumplir los sistemas de abastecimiento públicos y privados o cualquier persona física o moral que la distribuya, en todo el territorio nacional.

Límites permisibles de calidad del agua

Límites permisibles de características bacteriológicas

El contenido de organismos resultante del examen de una muestra simple de agua, debe ajustarse a lo establecido en la Tabla A:

Tabla A: Límites permisibles de características bacteriológicas.

CARACTERÍSTICA	LÍMITE PERMISIBLE
Organismos coliformes totales	2 NMP/100 ml
	2 UFC/100 ml
Organismos coliformes fecales	No detectable NMP/100 ml
	0 UFC/100 ml

Los resultados de los exámenes bacteriológicos se deben reportar en unidades de NMP/100 ml (número más probable por 100 ml), si se utiliza la técnica del número más probable o UFC/100 ml (unidades formadoras de colonias por 100 ml), si se utiliza la técnica de filtración por membrana.

Límites permisibles de características físicas y organolépticas

Las características físicas y organolépticas deberán ajustarse a lo establecido en la Tabla B:

Tabla B: Límites permisibles de características físicas y organolépticas.

CARACTERISTICA	LIMITE PERMISIBLE
Color	20 unidades de color verdadero en la escala de platino-cobalto.
Olor y sabor	Agradable (se aceptarán aquellos que sean tolerables para la mayoría de los consumidores, siempre que no sean resultados de condiciones objetables desde el punto de vista biológico o químico).
Turbiedad	5 unidades de turbiedad nefelométricas (UTN) o su equivalente en otro método.

Límites permisibles de características químicas

El contenido de constituyentes químicos deberá ajustarse a lo establecido en la Tabla C. Los límites se expresan en mg/l, excepto cuando se indique otra unidad.

Tabla C: Límites permisibles de características químicas.

CARACTERISTICA	LIMITE PERMISIBLE (mg/L)
Aluminio	0.20
Arsénico	0.05
Bario	0.70
Cadmio	0.005
Cianuros (como CN-)	0.07
Cloro residual libre	0.2-1.50
Cloruros (como Cl-)	250.00
Cobre	2.00
Cromo total	0.05
Dureza total (como CaCO ₃)	500.00
Fenoles o compuestos fenólicos	0.001
Fierro	0.30
Fluoruros (como F-)	1.50
Manganeso	0.15
Mercurio	0.001
Nitratos (como N)	10.00

Nitritos (como N)	0.05
Nitrógeno amoniacal (como N)	0.50
pH (potencial de hidrógeno) en unidades de pH	6.5-8.5
Plaguicidas en microgramos/l: Aldrín y dieldrín (separados o combinados)	0.03
Clordano (total de isómeros)	0.30
DDT (total de isómeros)	1.00
Gamma-HCH (lindano)	2.00
Hexaclorobenceno	0.01
Heptacloro y epóxido de heptacloro	0.03
Metoxicloro	20.00
2,4 - D	50.00
Plomo	0.025
Sodio	200.00
Sólidos disueltos totales	1000.00
Sulfatos (como SO ₄ =)	400.00
Sustancias activas al azul de metileno (SAAM)	0.50
Trihalometanos totales	0.20
Zinc	5.00

Los límites permisibles de metales se refieren a su concentración total en el agua, la cual incluye los suspendidos y los disueltos.

Límites permisibles de características radiactivas

El contenido de constituyentes radiactivos deberá ajustarse a lo establecido en la Tabla D. Los límites se expresan en Bq/l (Becquerel por litro).

Tabla D. Límites permisibles de características radiactivas.

CARACTERÍSTICA	LIMITE PERMISIBLE (Bq/L)
Radiactividad alfa global	0.1
Radiactividad beta global	1.0

Tratamientos para la potabilización del agua

La potabilización del agua proveniente de una fuente en particular, debe fundamentarse en estudios de calidad y pruebas de tratabilidad a nivel de laboratorio para asegurar su efectividad.

Se deben aplicar los tratamientos específicos siguientes o los que resulten de las pruebas de tratabilidad, cuando los contaminantes biológicos, las características físicas y los constituyentes químicos del agua enlistados a continuación, excedan los límites permisibles establecidos.

Contaminación biológica

Bacterias, helmintos, protozoarios y virus.- Desinfección con cloro, compuestos de cloro, ozono o luz ultravioleta.

Características físicas y organolépticas

Color, olor, sabor y turbiedad.- Coagulación-floculación-precipitación-filtración; cualquiera o la combinación de ellos, adsorción en carbón activado u oxidación.

Constituyentes químicos

Arsénico.- Coagulación-floculación-precipitación-filtración; cualquiera o la combinación de ellos, intercambio iónico u ósmosis inversa.

Aluminio, bario, cadmio, cianuros, cobre, cromo total y plomo.- Intercambio iónico u ósmosis inversa.

Cloruros.- Intercambio iónico, ósmosis inversa o destilación.

Dureza.- Ablandamiento químico o intercambio iónico.

Fenoles o compuestos fenólicos.- Adsorción en carbón activado u oxidación con ozono.

Fierro y/o manganeso.- Oxidación-filtración, intercambio iónico u ósmosis inversa.

Fluoruros.- Ósmosis inversa o coagulación química.

Materia orgánica.- Oxidación-filtración o adsorción en carbón activado.

Mercurio.- Proceso convencional: coagulación-floculación-precipitación-filtración, cuando la fuente de abastecimiento contenga hasta 10 microgramos/l. Procesos especiales: en carbón activado granular y ósmosis inversa cuando la fuente de abastecimiento contenga hasta 10 microgramos/l; con carbón activado en polvo cuando la fuente de abastecimiento contenga más de 10 microgramos/l.

Nitratos y nitritos.- Intercambio iónico o coagulación-floculación-sedimentación-filtración; cualquiera o la combinación de ellos.

Nitrógeno amoniacal.- Coagulación-floculación-sedimentación-filtración, desgasificación o desorción en columna.

pH (potencial de hidrógeno).- Neutralización.

Plaguicidas.- Adsorción en carbón activado granular.

Sodio.- Intercambio iónico.

Sólidos disueltos totales.- Coagulación-floculación-sedimentación-filtración y/o intercambio iónico.

Sulfatos.- Intercambio iónico u ósmosis inversa.

Sustancias activas al azul de metileno.- Adsorción en carbón activado.

Trihalometanos.- Aireación u oxidación con ozono y adsorción en carbón activado granular.

Zinc.- Destilación o intercambio iónico.

En el caso de contingencia, resultado de la presencia de sustancias especificadas o no especificadas anteriormente, se deben coordinar con la autoridad sanitaria competente, las autoridades locales, la Comisión Nacional del Agua, los responsables del abastecimiento y los particulares, instituciones públicas o empresas privadas involucrados en la contingencia, para determinar las acciones que se deben realizar con relación al abastecimiento de agua a la población.

I.1.- PROCESO DE CLORACIÓN DEL AGUA

El proceso más utilizado para la desinfección del agua es la cloración porque se puede aplicar a grandes cantidades de agua y es relativamente barato. El cloro proporciona al agua sabor desagradable en concentraciones mayores de 0.2 ppm aunque elimina otros sabores y olores desagradables que le proporcionan diferentes materiales que se encuentran en el agua.

Aunque el cloro gas se puede usar para la desinfección del agua, son más utilizados algunos de los compuestos de cloro como el ácido hipocloroso, el hipoclorito de sodio, el hipoclorito de calcio y el dióxido de cloro.

CONSIDERACIONES SOBRE LOS SUBPRODUCTOS DE LA DESINFECCIÓN

Los desinfectantes más comúnmente usados son: cloro gas (Cl_2), hipoclorito de sodio (NaOCl , 12.5% de cloro disponible), hipoclorito de calcio (Ca(OCl)_2 , 70% de cloro disponible), cloraminas, dióxido de cloro (ClO_2) y ozono (O_3). Otros desinfectantes como rayos ultravioleta, bromo, yodo y plata no se han empleado en forma generalizada. Cada uno de los desinfectantes que se emplean tiene sus ventajas e inconvenientes en función de su costo, eficacia, estabilidad, facilidad con que se aplique, y formación de subproductos de la desinfección.

Consideraciones de la cloración y los subproductos de la desinfección (SPD)

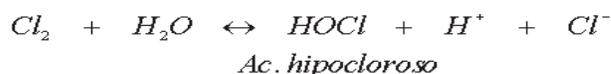
Además de proveer protección contra los patógenos virales y bacterianos, los desinfectantes con base de cloro también mejoran la estética del agua, que puede ser deteriorada por las algas y la vegetación podrida (color, sabor y olor). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha informado que el sabor promedio y la concentración de umbrales de olor del cloro residual aumenta de 0.075 ppm a 0.450 ppm cuando el pH aumenta de 5.0 a 9.0. A pH 7.0 el umbral promedio fue de 0.156 ppm con un intervalo de variación de 0.02-0.29 ppm; sin embargo, cuando el cloro se combina con sustancias fenólicas y con otros compuestos orgánicos, el sabor desagradable y los olores pueden exacerbarse considerablemente. El cloro ayuda a controlar que la bacteria vuelva a crecer, proporcionando un nivel residual de desinfectante en el sistema de distribución. En muchas áreas, tanto en los países desarrollados como de los países en vías de desarrollo, estos sistemas de largas tuberías no han sido reemplazados o vueltos a revestir, lo cual hace que frecuentemente tengan óxido, escamas, presenten formación de biopelículas, fugas y grietas –al igual que vaciado intencional con sifón- los cuales pueden llevar a eventos de recontaminación que comprometen la calidad del agua. Esta es la razón por la que es importante contar con cierto nivel de desinfectante residual.

A pesar de que el cloro presenta muchos beneficios para la salud pública y el tratamiento del agua, estudios recientes indican que también puede existir una relación causal entre la desinfección del agua con cloro y la salud reproductora o fetal. Otros estudios han indicado que el consumo de agua tratada con cloro puede traer consigo efectos negativos a largo plazo, como el cáncer.

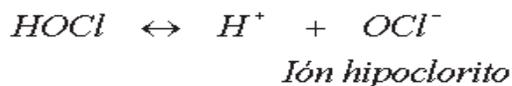
Reacciones en medio acuoso

Cuando se añade cloro al agua en forma de Cl_2 se producen dos reacciones: la reacción de hidrólisis y la de disociación.

La de hidrólisis se puede definir de la siguiente manera:



La magnitud de la constante de hidrólisis de equilibrio es tal, que la hidrólisis a ácido hipocloroso (HOCl) prácticamente se completa en el agua dulce a $\text{pH} > 4$ y con dosis de cloro de hasta 100 mg/L. El HOCl es un ácido débil que se disocia parcialmente en el agua del siguiente modo:



El valor de la constante de ionización ácida es aproximadamente de $3 \cdot 10^{-8}$. Como se muestra en la *Figura 1* a 20 °C y $\text{pH} 7.5$, hay una distribución igual de HOCl y el ión hipoclorito (OCl^-). A $\text{pH} 8$, cerca del 20% del cloro residual libre está presente como HOCl; y a $\text{pH} 6.5$ el 90% como HOCl. El término “cloro residual libre” se refiere a la suma de HOCl y de OCl^- . Ya que el HOCl es un desinfectante considerablemente más eficaz que el OCl^- y que el cloro libre, incluso como hipoclorito, es más eficaz que el cloro combinado (por ejemplo las cloraminas). Se recomienda que la desinfección final produzca una concentración residual de cloro libre de $^3 0.5 \text{ mg/L}$ después de 30 minutos de contacto en agua a pH de < 8.0 . El término “cloro residual combinado” se refiere al cloro ligado al nitrógeno, presente en la formación de cloraminas.

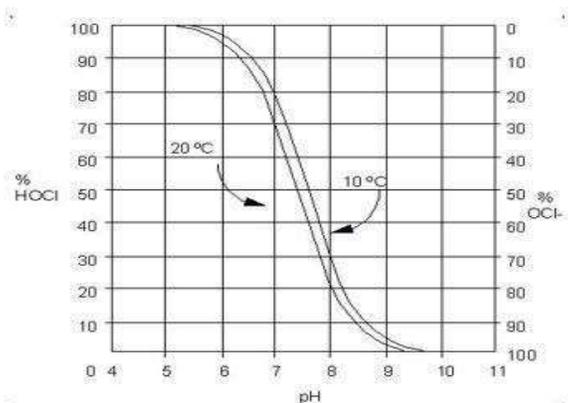
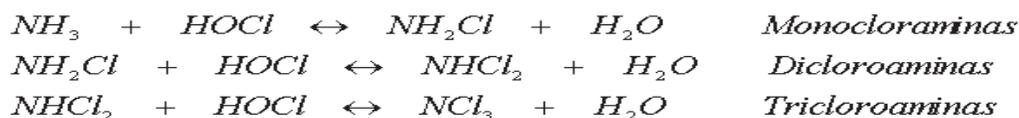


Figura 1. Distribución del ácido hipocloroso y del ión hipoclorito en agua para diferentes valores de pH .

Reacciones con el amoníaco

Las cloraminas se forman por la reacción del cloro y el amoníaco o las aminas orgánicas. Se pueden formar mono, di y tricloraminas según la relación del cloro con el amoníaco, el pH y la temperatura del agua. Las reacciones sucesivas son:



Cuando la razón molar del cloro al amoníaco no es más de 1.0 y el pH está por encima de 6, predomina la formación de monocloramina; la dicloramina predomina a pH 5 y menos, y a mayores razones de cloro-amoníaco. En el tratamiento del agua, la concentración de cloraminas es generalmente de 0.5 a 2.0 mg/L. La dicloramina y especialmente la tricloramina son compuestos olorosos y en, consecuencia, no es deseable su formación en el tratamiento del agua potable.

Por otra parte, se ha sabido que algunos de los peores causantes de sabor y olor son los compuestos producidos por reacción del cloro con sustancias fenólicas. Estos compuestos generalmente están presentes en los desechos industriales. La adición de pequeñas cantidades de cloro al agua que contenga esas sustancias produce compuestos clorofenólicos que dan los característicos y sumamente objetables sabores y olores fenólicos, demostraron que ha medida que aumenta el contenido de cloro, los sabores y olores también aumentan hasta un punto máximo y luego disminuyen hasta desaparecer totalmente cuando se agrega suficiente cloro y el tiempo de contacto es adecuado para que las reacciones se completen. La intensidad de los olores varía con el tipo de compuestos.

Estas reacciones, al igual que otras reacciones químicas, dependen de la concentración, el tiempo, la temperatura y el pH.

Entre todos los desinfectantes, la química y la toxicidad de los subproductos de la desinfección química (SPD) del cloro han sido los más ampliamente estudiadas. Los SPD del cloro más comúnmente encontrados se pueden dividir en seis grupos: los trihalometanos, los ácidos acéticos halogenados, los acetonitrilos halogenados, los aldehídos halogenados (formaldehído), las cetonas halogenadas (cloroacetonas) y los fenoles clorados. También se encuentran entre otros: el hidrato de cloral, la furanona clorada, la cloropicrina, y el cloruro de cianógeno. Los SPD halogenados que están identificados representan solo una parte de los efectivamente formados.

Trihalometanos

Los trihalometanos constituyen un grupo de compuestos orgánicos, que como su nombre lo indica, se considera por su nomenclatura como derivados del metano (CH_4), en cuya molécula, tres átomos de hidrógeno han sido sustituidos por igual número de halógenos (cloro, flúor, bromo o yodo).

En relación con la contaminación del agua potable, el problema hasta el momento se ha ceñido a la presencia de cuatro miembros del grupo que son: Cloroformo (CHCl_3), bromodichlorometano (CHBrCl_2), dibromoclorometano (CHBr_2Cl) y bromoformo (CHBr_3) el cual se asocia estrechamente con la ozonación. En vista que los cuatro SPDs anotados anteriormente se producen conjuntamente, con frecuencia se consideran como un grupo, denominado trihalometanos totales (THMsT).

Formación de trihalometanos

La formación de los trihalometanos, durante la desinfección del agua con el cloro libre, obedece a un complicado mecanismo, por el cual las especies químicas que el halógeno forma con el agua, reaccionan con los derivados del humus que ese medio habitualmente contiene.

Cloro residual libre + precursores \rightarrow THMs

(Ac. húmico) (Cloroformo + otros trihalometanos)

Ácidos acéticos halogenados

Los ácidos acéticos halogenados se forman a partir de la materia orgánica durante la cloración del agua. Aunque no se han investigado tan a fondo como los THM, son probablemente los principales subproductos de la cloración del agua. Los ácidos mono, di y tricloroacéticos, así como los ácidos mono y dibromoacéticos, se han medido en agua potable. Si disminuye el pH, la concentración de ácidos acéticos trihalogenados tiende a aumentar y la de ácidos acéticos dihalogenados permanece constante. Los niveles típicos de los ácidos acéticos clorados en los suministros de agua potable varían de 0.03 a 0.15 mg/L.

Acetonitrilos halogenados

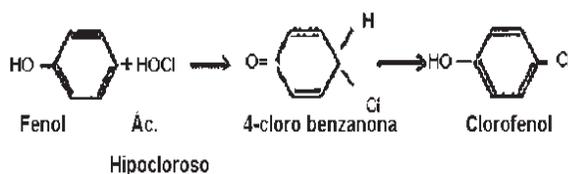
Se han identificado sólo como subproductos de la cloración de aguas superficiales y subterráneas. Los precursores potenciales para la formación de estos compuestos durante la cloración son las algas, las sustancias húmicas y material proteínico: los cuales están presentes de forma natural en el agua. El más abundante de los acetonitrilos es el dicloroacetoneitrilo. En varios estudios se encontró este compuesto en los suministros de agua muy clorada, a concentraciones hasta de 0.02 mg/L.

Hidrato de cloral (tricloroacetaldehído)

El hidrato de cloral se forma como subproducto de la reacción del cloro con sustancias húmicas. También se puede producir en el agua a partir de descargas industriales.

Clorofenoles

Están presentes en el agua como subproductos de la reacción del cloro con compuestos fenólicos, tales como los biocidas, o como productos de la degradación de herbicidas del grupo fenoxi.



Los tres clorofenoles más probables que pueden resultar de la cloración son 2-clorofenol, 2,4-diclorofenol y 2,4,6-triclorofenol. Los umbrales gustativos son respectivamente 0.3 y 2 µg/L. Las concentraciones de los clorofenoles en el agua potable son generalmente menos de 1 µg/L.

Subproductos de Ozonación

El ozono reacciona con material orgánico natural en el agua y forma subproductos que incluyen formaldehído, acetaldehído, glyoxal, methol glyoxal, ácidos pirúvico, oxálico, succínico, fórmico, acético y peróxido de hidrógeno. Entre estos los aldehídos son probablemente los de inquietud mayor para la salud, pero la información aún es insuficiente para evaluar los riesgos de la exposición a los aldehídos en el agua potable.

El ozono sólo no puede producir subproductos de la desinfección halogenados directamente. Sin embargo, los iones de bromuro y yoduro se oxidan fácilmente por el ozono y el cloro dando los halógenos libres que pueden reaccionar para producir trihalometanos, en presencia de algunos compuestos orgánicos adecuados. Entonces la ozonación de aguas que contienen bromuro, mediante la oxidación de Br⁻ a HOBr que reacciona con precursores de los SPD puede dar lugar a la producción de bromoformas, ácidos acéticos brominados, a la bromopicrina y a los acetonitrilos brominados. Además, el ozono puede oxidar los bromuros para producir bromatos.

La oxidación de fenoles con ozono produce compuestos aromáticos oxidados intermedios, que experimentan la ruptura de los anillos al ser tratados con más oxidante o con un tiempo de reacción más largo. La ozonación hasta el punto de la destrucción del fenol requiere de 2 a 3 mg de ozono por miligramo de fenol.

No hay pruebas de que el ozono reacciona con hidrocarburos alifáticos saturados bajo las condiciones de tratamiento de agua. Los alcoholes alifáticos secundarios con la ozonación producen cetonas, ácidos, más peróxido de hidrógeno (H_2O_2). La ozonación de los compuestos aromáticos clorados rompe los anillos y parte los enlaces de carbono-cloro, formando ión cloruro, productos de oxidación alifáticos noclorados y CO_2 .

Subproductos de dióxido de cloro

Los productos de la reacción del dióxido de cloro con material orgánico en el agua incluyen clorofenoles, los ácidos maléicos, fumáricos y oxálicos. Un estudio de los subproductos de la reacción del bióxido de cloro en un tratamiento piloto reveló más de 40 SPD, pero su toxicidad es en la mayor parte desconocida [1]. La oxidación de los fenoles con bióxido de cloro o con cloro produce compuestos aromáticos clorados intermedios antes de la ruptura de anillos.

Durante la oxidación, el bióxido de cloro se reduce al ión de clorito, el cual en sí mismo es un “carcinógeno” potencial. El ión clorito también puede ser nuevamente oxidado a bióxido de cloro. Ningún valor guía provisional de la OMS ha sido establecido para el bióxido de cloro debido al deterioro rápido a clorito, clorato y cloruro, y porque el valor guía provisional de la OMS establecido para el clorito, 200 $\mu g/L$, es un protector adecuado contra la toxicidad potencial del bióxido de cloro.

Subproductos de la cloraminación

El cloruro de cianógeno es un subproducto de la cloraminación (o cloración en presencia de amoníaco). Esta sustancia es el resultado de las reacciones de precursores orgánicos con el ácido hipocloroso en presencia del ión amonio. Típicamente las concentraciones del cloruro de cianógeno son algo mayores para la cloraminación que para la cloración. Este compuesto, dentro del cuerpo humano se metaboliza rápidamente a cianuro que es tóxico. Por este motivo, la OMS ha establecido un valor guía provisional de 70 $\mu g/L$ como cianuro, para los compuestos cianogénicos totales.

La Tabla 1 resume los dieciocho subproductos de la desinfección:

Tabla 1: Guías de la OMS para la calidad potable del agua; subproductos de la desinfección.

SUBPRODUCTOS DE LA DESINFECCIÓN	VALORES GUÍA (mg/L)	NORMA DE USEPA (mg/L)	RIESGO DE UN CASO ADICIONAL EN:
Bromato	25 (P)	10	7.10-5
Clorito	200 (P)	1	
2,4,6- Triclorofenol	200		10-5
Formaldehído	900		
Trihalometanos		80	
-Bromoformo	100		
-Dibromoclorometano	100		
-Bromodichlorometano	60		10-5
-Cloroformo	200		10-5
Acidos aceticos clorados		60	
-Acido dicloroacetico	50 (P)		
-Acido tricloroacetico	100		
Tricloroacetaldehído	10 (P)		
Acetonitrilos halogenados			
-Dicloroacetonitrilo	90 (P)		
-Dibromoacetonitrilo	100 (P)		
-Tricloroacetonitrilo	1(P)		
Cloruro de cianógeno (como CN)	70		

(P) Valor guía provisional. Término empleado para los constituyentes en los que hay alguna evidencia de riesgo potencial, pero donde la información disponible sobre los efectos de la salud es limitada; o donde se ha empleado un factor de incertidumbre mayor que 1000 en la derivación de la ingesta diaria tolerable. También se recomiendan los valores guía provisionales: 1) para las sustancias para las cuales el valor guía calculado estaría por debajo del nivel de la cuantificación práctica, o debajo nivel que pueda lograrse mediante los métodos de tratamiento prácticos; o 2) donde la desinfección tiene la probabilidad de exceder el valor guía.

I.2.- CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS FENOLES Y CLOROFENOLES.

El fenol es un producto químico de origen sintético, principalmente. En la naturaleza sólo se puede encontrar en la descomposición de restos orgánicos, en el proceso de obtención del aceite o por la combustión de la madera.

El fenol tiene como característica poseer una elevada toxicidad, y por tanto los efluentes industriales que los contienen han de ser tratados antes de verterlos al medioambiente. Debido a las propiedades bactericidas del fenol, estos efluentes no pueden ser tratados en las plantas depuradoras biológicas convencionales, dado que a concentraciones de 50 mg/L inhiben la reproducción de los microorganismos y en concentraciones del orden de 1 g/L destruyen completamente la flora y la fauna de las depuradoras. Además el tratamiento final con cloro, en las plantas depuradoras, produce clorofenoles, de olor y sabor desagradable en el agua incluso a muy bajas concentraciones (ppb).

Los fenoles son compuestos que tienen un grupo hidroxilo fuertemente unido a un núcleo aromático. Sus métodos de obtención y sus reacciones difieren de los alcoholes. Los fenoles puros son sólidos o líquidos incoloros aunque se suelen encontrar coloreados de rojo por productos de oxidación. El fenol hierve a 181°C, su punto de fusión es de 42°C y es soluble en agua 9g/100g de agua a 25°C y miscible con agua a 65°C. Tiene su presión de vapor alta por ello su olor es característico. Es caústico y muy venenoso. Causa la muerte por ingestión de tan sólo 1 g y puede causar envenenamiento por absorción por la piel. Si se vierte como residuo industrial al medio ambiente y, en especial, al agua, resulta muy tóxico. Es mortal para la fauna acuática a la concentración de 1 ppm. En presencia de cloro (empleado para el tratamiento del agua potable) puede transformarse en clorofenol, de sabor muy desagradable.

CARACTERÍSTICAS:

- Produce quemaduras muy profundas
- Se le considera un ácido orgánico, junto con los ácidos carboxílicos, por la facilidad de liberar su hidrógeno del grupo funcional.
- Mata todo tipo de células.
- Su K_a (constante de acidez) es de 10^{-10} .

El proceso mayoritario utilizado industrialmente para la obtención del fenol es a partir de la oxidación del cumeno y posterior descomposición obteniéndose fenol y acetona. Otros procesos de obtención de fenol son a partir de la oxidación del tolueno o de la gasificación de carbón. El fenol se utiliza como producto intermedio para la obtención de multitud de compuestos orgánicos como pueden ser: la obtención de resinas fenólicas a partir de la reacción con formaldehído, la síntesis del bisfenol-A que se utiliza para fabricar

resinas epoxi, la producción de caprolactama de la cual se obtiene el nylon 6 y también lo podemos encontrar formando parte de disolventes, desinfectantes, fertilizantes, explosivos, preparados farmacéuticos, perfumes etc. Las concentraciones de fenol en los efluentes residuales de estas industrias pueden variar de unos pocos ppm a concentraciones del orden de 1-10 g/L en las unidades de liquefacción de carbón, 0,6-2 g/L en las plantas de resinas fenólicas, fabricas de fertilizantes, explosivos y herbicidas o incluso en las refinerías, 40g/L.

Los clorofenoles también son importantes para la industria debido a su gran espectro en las propiedades antimicrobiales y sus usos como fungicidas, herbicidas, insecticidas y algicidas. Además son muy importantes en la síntesis orgánica como intermedios. Dentro de este gran grupo, sólo el 2-clorofenol es líquido a temperatura ambiente, y el que tiene una mayor solubilidad en agua, de hecho da un sabor muy desagradable al agua en pequeñas cantidades; el 3-clorofenol es un sólido o líquido color amarillo. Se le utiliza para fabricar otras sustancias químicas, como catalizador y como antiséptico para animales. Este compuesto se encuentra en la Lista de Substancias Peligrosas porque ha sido citado por la USEPA

El **3-clorofenol** puede afectar al respirarlo y cuando pasa a través de la piel, es una sustancia química corrosiva y el contacto puede irritar y quemar la piel y los ojos, respirarlo puede irritar la nariz, la garganta y los pulmones causando tos, respiración con silbido y/o falta de aire, la exposición más alta puede causar dolores de cabeza, mareos, fatiga, agitación, debilidad muscular, temblores, ataques, coma y hasta la muerte.

Las propiedades físicas de estos compuestos se dan en el Apéndice D

Por todas estas razones, el tratamiento de aguas residuales conteniendo fenol y/o clorofenoles tiene que hacerse por otros métodos de tratamiento alternativos para estos tipos de efluentes.

I.3.- MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE FENOLES Y CLOROFENOLES.

Las principales técnicas analíticas para determinar compuestos fenólicos son la espectrometría de masas, la Resonancia Magnética Nuclear, CG (Cromatografía de gases), CLAR (Cromatografía Líquida de alta resolución) e FTIR (IR mediante Transformada de Fourier).

I.3.1.-CROMATOGRAFÍA

La palabra Cromatografía significa "Escribir en Colores" ya que cuando fue desarrollada los componentes separados eran colorantes. Los componentes de una mezcla pueden presentar una diferente tendencia a permanecer en cualquiera de las fases involucradas. Mientras más veces los componentes viajen de una fase a la otra (partición) se obtendrá una mejor separación.

La cromatografía es, esencialmente, un método físico de separación, en el cual los componentes a separar se distribuyen en dos fases, la fase estacionaria, de gran área superficial y la fase móvil que se hace pasar a lo largo de la fase estacionaria. Los procesos cromatográficos tienen lugar como resultado de repetidas adsorciones y desorciones durante el movimiento de los componentes de la muestra a lo largo de la fase estacionaria, alcanzándose la separación gracias a las diferencias en los coeficientes de distribución de los distintos componentes de la muestra, que se representa por una constante de equilibrio de la siguiente manera:

$$S_m \longleftrightarrow S_{st} \quad K = \frac{[S]_{st}}{[S]_m}$$

DONDE:

S_m = soluto en la fase móvil.

S_{st} = Solute en la fase estacionaria.

K = Constante de equilibrio

$[S]_m$ = Concentración del soluto en la fase móvil.

$[S]_{st}$ = Concentración del soluto en la fase estacionaria

La cromatografía como técnica analítica instrumental es capaz de proporcionar información tanto cualitativa como cuantitativa acerca de la composición de la mezcla. Además, las especies separadas se pueden caracterizar empleando los detectores apropiados.

Atendiendo a la naturaleza de la fase móvil, se pueden distinguir dos tipos de cromatografía: *cromatografía gaseosa* y *cromatografía líquida*. En la *cromatografía gaseosa (CG)* el transporte de la muestra a través de la fase estacionaria (columna) se realiza con un gas inerte. Así, se pueden separar por esta técnica muestras volátiles. Para compuestos con poca volatilidad tales como moléculas grandes y altamente polares, suele emplearse la *cromatografía líquida (CL)*, en la cual la fase móvil es un líquido en el cual los componentes de la muestra deben ser solubles, realizándose la mayoría de estas separaciones a temperatura ambiente

I.3.2.-CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (CLAR)

La cromatografía es una técnica de separación, de amplio uso por las premisas en que se basa, por el gran desarrollo que ha tenido y por los beneficios en valorar un gran número de sustancias con exactitud, rapidez y alta resolución.

Los métodos cromatográficos tienen varias modalidades de acuerdo a ciertos parámetros como fase móvil, fase estacionaria, el propio fenómeno que ocurre en la columna y la cantidad de muestra aplicada.

Cuando la fase móvil es un gas, se llama cromatografía de gases; si es líquida se denomina cromatografía de líquidos.

Mientras que la cromatografía de gases se emplea para separar mezclas que contienen compuestos orgánicos volátiles de peso molecular bajo, la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) no está limitada por la volatilidad o estabilidad térmica de las muestras y los compuestos que pueden estudiarse con esta metodología incluyen especies iónicas, macromoleculares, polímeros, productos lábiles naturales y compuestos polifuncionales de pesos moleculares entre 10^2 y 10^4 daltones.

En la cromatografía de gases, la fase móvil es un acarreador, en la CLAR la fase móvil es el parámetro que gobierna la separación.

La combinación de disolventes de diferentes polaridades y el efecto de la presión en el sistema cromatográfico en la CLAR, han favorecido la separación de una gran cantidad de compuestos de modo que ahora es un recurso instrumental que complementa las aplicaciones de la cromatografía de gases.

Al aumentar la cantidad de muestra que entra a la columna, se puede obtener desde microgramos hasta kilogramos de una sustancia pura. La cromatografía analítica se define en el rango de pg hasta μg , el rango de la semipreparativa abarca de μg hasta gramos y el rango preparativo se refiere a cantidades mayores al gramo.

Un sistema cromatográfico está constituido por dos fases no miscibles, una estacionaria (sólido o líquido impregnado sobre un soporte) y una móvil (disolvente o mezcla de disolventes). La fase estacionaria se encuentra empacada en una columna a través de la cual se hace fluir, en forma continua, la fase móvil; los componentes de la muestra presentan un equilibrio de distribución entre estas dos fases, y este equilibrio determina la velocidad con la cual cada componente migra a través del sistema.

En la actualidad se cuenta con una amplia gama de materiales para las fases móvil y estacionaria, siendo posible un sinnúmero de combinaciones, que hace factible la separación de moléculas que difieren muy poco en sus propiedades físicas y químicas; por

ejemplo, la cromatografía de absorción (cromatografía líquido-sólido) utiliza fases estacionarias de naturaleza polar como partículas hidratadas de alúmina o de sílica.

En esta técnica la fase móvil y el soluto compiten por los sitios de absorción en la fase estacionaria, por lo tanto los componentes mas fuertemente adsorbidos son retenidos por mas tiempo que los que se adsorben débilmente.

Los compuestos mas polares se adsorben a una superficie polar en mayor grado que los compuestos menos polares, por lo tanto, la retención en una columna esta en relación directa con la polaridad de la muestra y de la fase estacionaria utilizada.

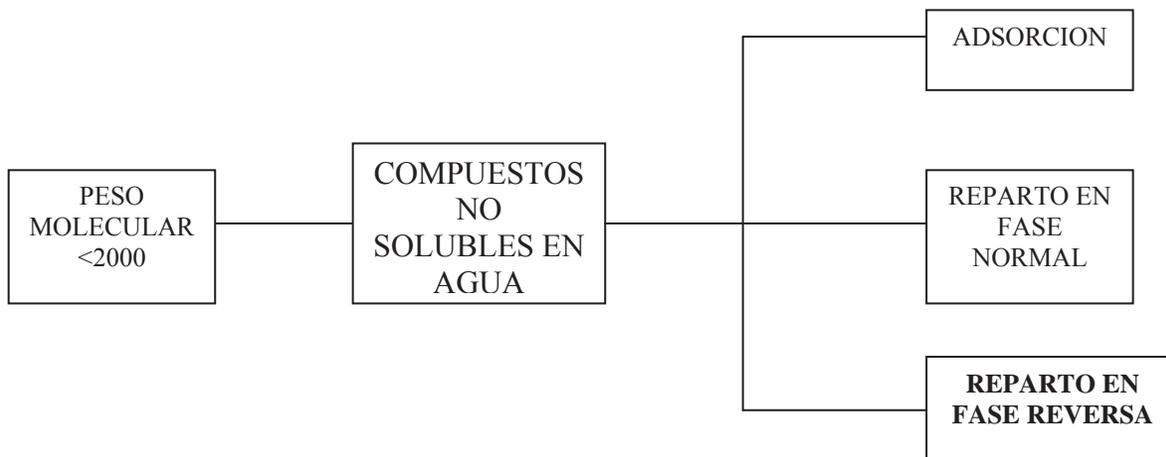
La distribución de un soluto entre dos fases es el resultado del balance de fuerzas entre las moléculas del soluto y las moléculas de cada fase; refleja la atracción o repulsión relativas que presentan las moléculas o iones de las fases competidoras por el soluto entre si. Por tanto, la migración diferencial está determinada por aquellas variables experimentales que afectan esta distribución: la composición de la fase móvil, la composición de la fase estacionaria y la temperatura de separación.

Cuando las condiciones elegidas son apropiadas, los componentes de la muestra se separan gradualmente en bandas y emergen de la columna en orden creciente de interacción con la fase estacionaria, hasta un sistema de detección que a su vez da la información a un graficador o una pantalla de computadora o en otro sistema de manejo adicional de información como puede ser un colector de fracciones y llevarlo a un densitómetro, o un equipo de electroforesis, espectroscopia, etc.

I.3.2.1- DIFERENTES METODOS DE LA CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN.

Existe un buen numero de métodos de cromatografía de líquidos que son utilizados en moléculas con propiedades determinadas; algunas veces se combinan varios métodos para lograr una separación adecuada y con la mira de aumentar la selectividad y el mejor rendimiento de la columna.

Para muestras pequeñas con peso molecular >2000 y compuestos solubles en agua se prefiere cromatografía de exclusión con la fase móvil acuosa; para compuestos no solubles en agua se aplica de igual manera cromatografía de exclusión, pero con fase móvil orgánica.



Muestra insoluble en agua, carácter alifático o aromático y peso molecular menor que 2000, se recomienda la cromatografía de adsorción líquido-sólido o líquido-líquido.

Para separar isómeros: GLSC (Cromatografía Gas- Líquido de Adsorción).

Para separar homólogos: LLC. (Cromatografía líquido-líquido).

Grupos funcionales que forman fuertes enlaces de hidrógeno o sea muestras con polaridad intermedia y solubles en disolventes orgánicos de baja polaridad: LLC. (Cromatografía líquido-líquido).

Moléculas con grupos iónicos o ionizables solubles en agua y pesos moleculares menores de 2000: IEC. (Cromatografía de Intercambio Iónico) o de pares de iones IPC.

Se emplea EC, cromatografía de exclusión o permeación en gel cuando la molécula es más pesada que 2000 de peso molecular.

La cromatografía de afinidad se emplea cuando existe una especificidad de una sustancia por otra, lo cual sucede mucho en las especies biológicas.

- **Cromatografía de adsorción.**
- **Cromatografía con fase enlazada.**

La cromatografía de fase enlazada se caracteriza porque la fase estacionaria esta químicamente unida a la fase móvil.

Las partículas de sílica gel sufren modificaciones para reemplazar sus grupos silanoles, activos, polares, por grupos funcionales determinados: octadecilsilano (ODC o C₁₈), octilsilano (C₈), fenilo, ciano, amino, diol, nitro, etc.

Este tipo de cromatografía se ha desarrollado con evidentes logros en la resolución, la reproducibilidad y la rapidez. El 80% de las separaciones cromatográficas emplean fase enlazada y de éstas, la mayoría son de fase reversa.

TABLA 2. Características de la Cromatografía en Fase Normal y Fase Reversa

FASE	NORMAL	REVERSA
Polaridad del relleno	ALTA	BAJA
Polaridad del solvente	BAJA	ALTA
Orden de elucion	Primero el menos polar	Primero el más polar
Efecto del incremento de Polaridad del solvente	Reduce los tiempos de retención	Aumenta los tiempos de retención.

▪ **Cromatografía de fase reversa.**

La cromatografía de fase reversa (RP) emplea un empaque enlazado hidrofóbico de diferentes longitudes de cadena, 2, 8 o 18 átomos de carbono como fase estacionaria y una fase móvil constituida por mezclas de agua con algún disolvente orgánico y puede también adicionarse de amortiguadores o sales.

La retención de los solutos en este tipo de sistemas puede explicarse con el modelo de Hovárth, según el cual la superficie hidrocarbonada de la molécula del soluto, así como las moléculas hidrocarbonadas de la fase estacionaria experimentan un efecto de repulsión hacia el eluyente polar, de modo que para disminuir la superficie hidrocarbonada en contacto con la fase móvil, se produce una asociación entre el soluto y las cadenas de la fase estacionaria. De esta manera, la retención no es debida a una atracción entre el soluto y la fase estacionaria, sino a la repulsión que ambas experimentan hacia el eluyente y que las conduce a asociarse. Se tiene entonces que la retención depende fundamentalmente de las siguientes variables:

- Concentración y longitud de las cadenas hidrocarbonadas en la fase estacionaria.
- Superficie hidrocarbonada en el soluto.
- Polaridad de la mezcla que constituye la fase móvil.

Cuando se preparan gradientes, estos se generan con una disminución constante de la polaridad del eluyente, es decir, se aumenta la proporción del solvente orgánico logrando así un incremento continuo en la fuerza de la fase móvil.

En estas condiciones por fase reversa se pueden concentrar sustancias traza, empleando disolventes de inyección con gran proporción de agua que en este caso es débil a la elución; después se eluyen de la columna generalmente por el empleo de un gradiente.

Las ventajas de esta modalidad cromatográfica se resumen de esta manera:

- Los compuestos no iónicos e ionizables se pueden separar en la misma columna y con la misma fase móvil.
- La adsorción irreversible casi no ocurre.
- La fuerza de atracción entre la superficie no polar y el soluto es débil.
- La utilidad del agua como fase móvil.
- Un modificador orgánico muy frecuente es el metanol.
- Se puede predecir el orden de elución en función de la hidrofobicidad del analito.
- El sistema requiere poco tiempo para llegar al equilibrio, al hacer un cambio de fase móvil.

En fase reversa se emplean muy frecuentemente, además del agua y del metanol, el acetonitrilo y el tetrahidrafurano, que combinados, modifican la selectividad. Esta selectividad también se ve afectada por el pH, los aditivos y por el modificador.

Este método es muy empleado en diversos sistemas sobre todo cuando no tienen grupos que establezcan puentes de hidrogeno y sean aromáticos o alifáticos o series de diferente longitud de cadena.

La tabla 3 señala las aplicaciones de esta modalidad cromatográfica.

Las fases estacionarias de copolímeros de estireno-divinilbenceno funcionan en todo rango de pH, lo que los hace muy versátiles y funcionan como los de fase reversa.

TABLA 3. Aplicaciones de la Cromatografía líquida en fase reversa.

ÁCIDOS CARBOXÍLICOS	CARBOHIDRATOS
AMINAS	CORTICOSTEOIDES
AFLATOXINAS	DIURÉTICOS
MICOTOXINAS	GLICÓSIDOS CARDIACOS
ALCALOIDES	PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS
ANALGÉSICOS	PESTICIDAS ORGANOCORADOS
ANTICONSULSIONANTES	CONSERVADORES
BARBITURATOS	HORMONAS
BENZODIAZEPINAS	SULFONAMIDAS
CARBAMATOS	VITAMINAS

- **Cromatografía de pares de iones.**
- **Cromatografía de intercambio iónico.**

I.3.2.2.- INSTRUMENTACIÓN DE LA CLAR

Los componentes fundamentales de un sistema cromatográfico son:

- a) Recipiente (s) para la fase móvil
- b) Bomba
- c) Inyector
- d) Columna cromatográfica
- e) Detector
- f) Integrador o sistema de procesamiento de datos.

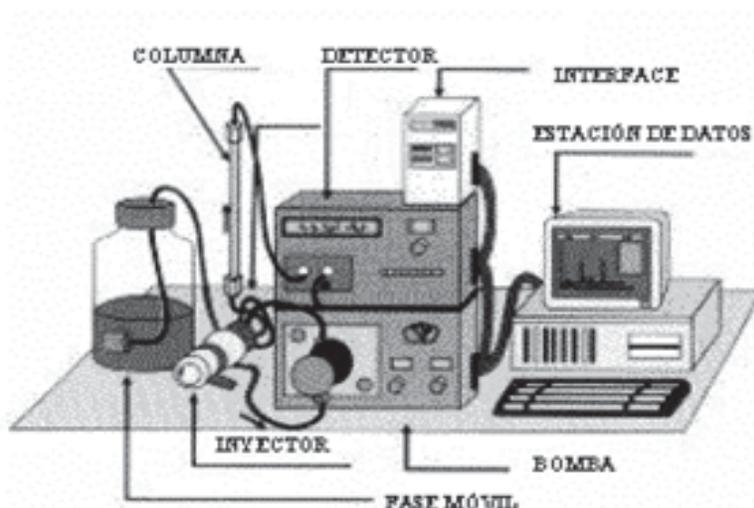


FIGURA 2. DIAGRAMA DE INSTRUMENTACIÓN DE LA CLAR

En los modelos modulares puede incorporarse equipo diverso como horno, desgasificador, colector de fracciones, automuestreador para análisis rutinarios.

- a) Recipientes para la fase móvil.

Los cromatógrafos de líquidos están equipados con uno o más recipientes, generalmente de vidrio para el suministro de la fase móvil. En las mangueras de entrada de la fase móvil se instala un filtro para evitar el paso de partículas al sistema cromatográfico.

Antes de instalarse al sistema, las fases móviles deben ser desgasificadas para remover el aire y otros gases disueltos que pueden interferir en el funcionamiento de la bomba y el detector. Este proceso puede efectuarse mediante vacío, ultrasonido o haciendo pasar una corriente de gas inerte a través de la fase móvil.

La elución de la muestra puede efectuarse de dos maneras:

- 1) Isocrática, cuando no se modifica la composición de la fase móvil durante el análisis y
- 2) Con gradiente, cuando la composición de la fase móvil varía durante una corrida.

En este caso se utilizan dos o más disolventes de diferente polaridad y se programa con cambios en su proporción, en forma continua o escalonada, según la naturaleza de la muestra.

b) Bomba

Los equipos cromatográficos cuentan también con una cámara de mezclado que permite una completa homogenización de los disolventes en las proporciones indicadas por el usuario.

En la elución por gradiente se programan los cambios de flujo y la composición de la fase móvil en diferentes tiempos de la corrida, instrucciones que se llevan a cabo a través de un controlador electrónico.

Las bombas son sistemas que alcanzan presiones superiores a los 340 bares y es conveniente que no haya pulsaciones porque se manifestarían como ruido en el detector.

Las bombas son de acero inoxidable o aleaciones de titanio que resisten la corrosión y el desgaste, algunas partes son de zafiro o rubí.

La calidad de una bomba está determinada por el grado de estabilidad y reproducibilidad del flujo que genera.

c) Inyector

Las válvulas de inyección son los dispositivos más utilizados para la introducción de la muestra al sistema cromatográfico. Se les puede integrar un loop intercambiable que consiste en un tubo de acero inoxidable de diámetro interno pequeño y de volumen fijo, lo que permite inyectar siempre el mismo volumen de muestra.

Estas válvulas tienen dos posiciones:

- 1) Posición de carga, donde se llena el loop con la muestra a la presión atmosférica.
- 2) Posición de inyección, donde se coloca al loop lleno de muestra en la corriente de la fase móvil, con la subsecuente inyección en la parte superior de la columna, sin interrupción significativa del flujo.

d) Columna cromatográfica.

La columna es el centro efectivo de un cromatógrafo, por tanto, es fundamental optimizar su eficiencia y tener los cuidados para protegerla. La columna contiene el empaque necesario para la separación deseada siempre y cuando la elección sea la adecuada. La fase puede ser sílice en caso de cromatografía de adsorción, fases enlazadas para cromatografía líquido-líquido, grupos funcionales de intercambio iónico, geles de porosidad específica para cromatografía de exclusión o algún otro empaque particular.

Están construidas con una pared gruesa de acero inoxidable para resistir altas presiones y la acción química de la fase móvil. El interior es liso, de calibre uniforme y el relleno se retiene mediante filtros de acero poroso.

La mayoría son de 10 a 30 cm aunque hay más cortas, entre 3-8 cm de longitud que permiten obtener menores tiempos de análisis y disminuir el consumo de disolventes. Es muy conveniente usar precolumnas antes de las columnas analíticas con un empaque químicamente similar y mayor tamaño de partícula. La finalidad de estas precolumnas es retirar las impurezas del disolvente y capturar los componentes de la muestra fuertemente retenidos, impidiendo así la contaminación gradual de las columnas analíticas.

e) Detector

Los compuestos separados en la columna y arrastrados a diferentes tiempos por la fase móvil, llegan al detector que recibe cantidades puntuales de material a un flujo constante.

Los detectores son sensibles a diferentes propiedades; adsorbancia, índice de refracción, radioactividad, conductividad, fluorescencia, amperaje, etc., en un tiempo de respuesta unas diez veces menor que el ancho del pico del soluto, dado en unidades de tiempo.

El tubo que conecta la columna con el detector debe ser el mínimo y su diámetro es el aspecto más crítico, por tanto debe ser muy delgado, con un diámetro interno no menor de 0.25mm y no mayor de 200mm de longitud; sus uniones han de tener un volumen vacío de cero.

El detector lee una muestra diluida en relación a la inyectada, bajo las condiciones dadas de operación. Este factor de dilución varía de 5 a 350 y depende de la longitud y el diámetro interno de la columna, el volumen de la muestra, el número de platos y el volumen de retención.

Los detectores más usados en la CLAR son:

- Fotómetros y espectrofotómetros de ultravioleta-visible.
- Detector fluorométrico
- Detectores electroquímicos
- Detectores de índice de refracción.

Los detectores ultravioleta-visible son los más frecuentes, los hay de longitud de onda fija como 254 nm, los de longitud de onda variable y los de barrido de longitud de onda.

Exigen una estabilidad térmica en la celda de flujo del orden de 0.01°C y alta eficiencia en sus sistemas ópticos y electrónicos.

El volumen de la celda del detector es alrededor de 8µl y cuando se trabaja con columnas de calibre estrecho es necesaria una celda de 2-3µl, lo cual permite que la banda no se ensanche después de haber pasado por la columna.

La sensibilidad a la que opera el detector, se maneja en los botones que registran estos aparatos.

Los disolventes de la fase móvil empleados, por razón natural tendrán una absorbancia muy baja o nula.

Los detectores de barrido emplean diodos de estado sólido. Este sistema permite la determinación espectral continua en un rango amplio de longitud de onda; los hay de 190 a 600nm, con una resolución menor a 1nm por diodo en un tiempo de 0.01s. Sus ventajas son inobjetables pues se evitan los corrimientos dados por desajustes del sistema óptico y ofrecen mucha más información.

Existen otros que detectan simultáneamente hasta nueve señales independientes de multicomponentes con la posibilidad de integrarse.

Tabla 4. Longitudes de onda mínima de trabajo en la zona de UV para disolventes frecuentes en CLAR.

DISOLVENTE	LONGITUD DE ONDA (nm)
Éter de petróleo	210
Tetracloruro de carbono	265
Benceno	230
Cloroformo	245
Tetrahidrofurano	220
Acetona	330
Acetato de etilo	260
Acetonitrilo	210
Metanol	210
Agua	190

f) Integrador o sistema de procesamiento de datos

Generalmente el detector se conecta a un registrador o integrador, un sistema que cambia la señal analógica del detector a una digital. Estos equipos son imprescindibles en ésta como en otras metodologías ajustando las variables y dando las opciones para obtener datos con alguna condición diferente.

Al terminar la elución el aparato ha informado de los picos, sus tiempos de retención, altura o áreas bajo el pico, anchura del pico, altura o área total y porcentaje de cada pico.

De esta manera la información puede almacenarse o reconfigurarse según las necesidades del analista y el integrador puede estar a su vez en serie a una computadora con softwares variados que dan mucha más flexibilidad a la información obtenida, la posibilidad de cruzarla u organizarla de modo que las potencialidades de trabajo se magnifican.

I.4.- EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (EFS).

Se realiza haciendo pasar una solución que contenga el analito (o los analitos) sobre una fase sólida que los adsorba de manera específica. Dicha absorción también se llama remoción de los analitos de la solución. En la tabla 5 se mencionan algunos ejemplos de fases sólidas disponibles y sus aplicaciones, junto con algunos disolventes que se emplean para remover el analito de dichas fases. El volumen de la fase sólida suele ser mucho más pequeño que el de la solución que contiene el analito: la fase sólida puede ser desde una superficie de pocos centímetros de diámetro, de un disco de papel filtro químicamente modificado, hasta una pequeña columna empacada (de 1 a 35mL); un cartucho empacado parcialmente con pequeñas partículas adsorbentes.

La extracción en fase sólida tiene lugar mediante mecanismos de adsorción-desorción de los analitos en la superficie del material activo de las columnas. La retención y elución obedece o bien a una partición o a los principios de la cromatografía de líquidos de fase reversa, fase normal e intercambio iónico. La EFS puede considerarse como una extracción líquido-sólido aunque algunos de los mecanismos que involucran la retención obedezcan a fenómenos diferentes.

Las técnicas de preconcentración por EFS se efectúan de dos modos: fuera de línea (en diferido) y en línea; ambas se usan en el monitoreo de sustancias contaminantes presentes en ríos y aguas residuales. En la modalidad fuera de línea, los compuestos traza son retenidos en una columna de vidrio o de plástico empacada con un adsorbente

apropiado o en una membrana porosa recubierta con una delgada capa del adsorbente y después son eluidos con un volumen pequeño de un disolvente orgánico adecuado seguido por una operación de evaporación con el fin de obtener un extracto más concentrado o bien, un extracto seco. Posteriormente el extracto es analizado por alguna técnica cromatográfica, por lo que puede emplearse la CG o la CLAR. En el desarrollo de esta técnica, se realizan varias etapas de manipulación de la muestra como evaporación y transferencia; razón por la cual existen riesgos de contaminación y de pérdida de la muestra. La aplicación de EFS en línea requiere del empleo de precolumnas de acero inoxidable empacadas con diversos adsorbentes de granulometría muy fina (aproximadamente 10 μm) que comprenden principalmente materiales polares, poco polares y de intercambio iónico, en los que se extraen y concentran los analitos de interés. Posteriormente los solutos adsorbidos son eluidos directamente desde la precolumna a la columna analítica mediante una válvula de conmutación, para su detección y cuantificación. Debido a que no hay manipulación externa de la muestra entre las etapas de preconcentración y análisis se obtienen resultados más exactos en el análisis de trazas.

Las superficies de fase sólida se clasifican por un conjunto conveniente de atributos químicos en polares o no polares; ácidas, neutras o básicas; hidrofílicas o hidrofóbicas y catiónicas o aniónicas (dependiendo si enlazan cationes o aniones, respectivamente). Los diversos tipos de superficies permiten reducir significativamente el volumen de disolventes necesarios para la preparación de la muestra y automatizar el proceso de extracción.

Un método típico de EFS se organiza en cinco pasos:

1. Activación. El primer paso es la activación en la que se utiliza un solvente orgánico para "humidificar" la fase. Con fases hidrofóbicas (p. ej. C18) se usa un solvente polar, como el metanol. Con fases estacionarias polares (p. ej. Sílice) se usa un solvente no polar, como el cloruro de metileno.

2. Acondicionamiento. La fase estacionaria EFS se acondiciona con el mismo solvente de la matriz, por ejemplo, con matrices acuosas el solvente es agua. El acondicionamiento permite "alinearse" la fase estacionaria lejos de la superficie de la sílice, permitiendo la interacción entre el analito y la fase estacionaria. Cualquier solvente orgánico residual se elimina en esta etapa, asegurando que los componentes de interés sean retenidos en la parte superior de la columna.

3. Retención. Las interacciones entre las moléculas de la muestra y la fase estacionaria controlan la retención en el adsorbente de EFS. Para maximizar las interacciones la muestra (analitos + matriz) deben cargarse en el adsorbente de EFS a aproximadamente 3 ml/min. Este caudal puede controlarse mediante una válvula en la estación de vacío. Los componentes de interés han de retenerse en el adsorbente de EFS mientras que la matriz y los contaminantes deben eluirse y descartarse.

Durante las etapas 1-3 el adsorbente EFS ha de mantenerse húmedo siempre, puesto que el secado del mismo puede acarrear una pérdida de muestra.

4. Eliminar interferencias. Usando un solvente o una serie de solventes de fuerza creciente los contaminantes pueden eliminarse del adsorbente de EFS hasta que solo los analitos de interés queden atrapados.

5. Elución. La elución de los analitos se efectúa mediante un eluyente adecuado y a un caudal de 1 ml/min. El adsorbente de EFS y las interacciones analito-adsorbente determinan el eluyente final de elución

TABLA 5. Sólidos para Extracción en Fase Sólida.

NOMBRE	IDENTIDAD	CARACTERISTICAS SUPERFICIALES	TIPO DE ENLACE, CONDICIONES Y EJEMPLOS
OCTADECIL	(-C ₁₈ H ₃₇)	Hidrofóbico No polar	Especies hidrofóbicas que proceden de soluciones acuosas (productos orgánicos)
OCTILO	(-C ₁₈ H ₁₇)	Hidrofóbico	Especies hidrofóbicas que proceden de soluciones acuosas (unidas con menor fuerza que C ₁₈).
SILICE		Hidrofílica Polar Neutra	Especies de polaridad baja a moderada que proceden de soluciones acuosas (vitaminas liposolubles).
FLORISIL	Silicato de magnesio	Hidrofílica Polar Levemente básico	Especies de polaridad baja a moderada que proceden de soluciones no acuosas (grasas, bifenilos policlorados)
ALUMINA A (ALUMINA ACIDA)		Hidrofílica Polar Asida Enlazador de cationes	Especies hidrofílicas en soluciones no acuosas (antibióticos, cafeína)
ALUMINA N (ALUMINA NEUTRA)		Hidrofílica Polar Neutra	Especies hidrofílicas en soluciones no acuosas (petróleo)
ALUMINA B (ALUMINA BASICA)		Hidrofílica Polar Básica Enlazador de cationes	Especies hidrofílicas en soluciones no acuosas (esteroides, pesticidas)
AMINOPROPILO	-C ₃ H ₆ NH ₂	Hidrofílico Moderadamente polar Ligeramente básico Enlazador de aniones	Analitos en disolventes acuosos u orgánicos (fenoles, petróleo, sacáridos)
CIANOPROPILO	-C ₃ H ₆ CN	Hidrofóbico Casi no polar Neutro	Analitos en disolventes acuosos u orgánicos (péptidos hidrofóbicos, pesticidas)

DIOL		Hidrofóbico Casi no polar Neutro	Trazas de elementos en agua; proteínas y péptidos en disolventes acuosos u orgánicos.
ESTIRENO DIVINILBENCENO		Hidrofóbico Neutro	Productos orgánicos en agua (hidrocarburos y poliaromáticos, vitamina B ₁₂).
ENLAZADOR DE ANIONES (INTERCAMBIO ANIONICO FUERTE)	-CH ₂ -CH ₂ -N ⁺ (CH ₃) ₃	Hidrofílica Enlazador de aniones	Aniones en agua o en disolventes mixtos acuosos (Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻)

II.- OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una metodología analítica que permita estudiar la reacción de cloración del 3-Clorofenol en agua en función de los parámetros experimentales estudiados, para ello, se empleará la extracción en Fase Sólida (EFS) como método de preparación de muestra y la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) como método de cuantificación de los productos formados (clorofenoles).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) desarrollar la metodología analítica para realizar la extracción, preconcentración y recuperación de los productos formados (diclorofenoles) mediante un proceso de EFS.
- 2) Realizar la separación cuantitativa y reproducible de la mezcla de diclorofenoles en un tiempo razonable en base a la gran selectividad aportada por la CLAR (cambios en la composición de la fase móvil y pH).
- 3) El estudio de la cloración del 3-Clorofenol en agua se efectuará bajo ciertas condiciones experimentales. La caracterización de los productos formados (diclorofenoles) se realizará por CLAR usando un detector UV. La CLAR permitirá realizar una evaluación cuantitativa veraz de los productos formados en función de las condiciones estudiadas (concentración de cloro y concentración de 3-Clorofenol).

III.- DESARROLLO EXPERIMENTAL

A) EQUIPO Y ACCESORIOS

Cromatógrafo de Líquidos Binario Series 200 marca Perkin Elmer constituido por:

- Inyector de rizo Rheodyne BIO-7125, con loop de 20 μ L de Titanio.
- Bomba binaria serie 200, rango de flujo de 0.01-10mL. Presión máxima de operación 6200psi (420bar), opera en dos modos: elución isocrática y gradiente de disolventes.
- Detector UV/VIS programable de longitud de onda variable, marca Perkin Elmer modelo 785 A de doble haz, indicador de absorbancia de seis dígitos. Rango de operación de 190-700nm. Para este trabajo la longitud de onda utilizada es de 280nm.
- Interfase NCI-901 para almacenamiento de datos.
- Sistema Turbochrom PRO SI, para coleccionar y procesar los datos cromatográficos provenientes del detector. Serie numero 0699PR0059.

B) OTROS EQUIPOS Y ACCESORIOS.

- Columna analítica (150x4.6mm D.I.) C-18, TermoQuest Hypersil Division ODS de 5 μ m.
- Precolumna de EFS (20x2 mm D.I.) empacada con fase reversa polimérica de tipo estireno-divinilbenceno, PLRP-S 100A de 10-15 μ m.
- Sistema desmineralizador, purificador y desionizador de agua nanopure, Easy Pure para 4 cartuchos marca Barnsted Thermolyne modelo D-4641-5028.
- Potenciómetro modelo 520, marca Barnsted, equipado con un electrodo vidrio de Ag/AgCl.
- Balanza analítica Sartorius.
- Baño de ultrasonido de 3L con timer y calefacción marca Sonicator modelo SC-100TH
- Equipo de filtración de disolventes Millipore modelo OM037.
- Bomba marca Eldex, modelo CC-100-S que opera en un rango de flujo de 0.01-7.5mL/min.
- Bomba de vacío marca Siemens
- Parrilla de calentamiento Thermolyne con agitador.

C) MATERIAL

- Frascos ámbar de vidrio Pirex de 250ml.
- Matraces Erlenmeyer de 250ml.
- Bureta Pirex de 50ml
- Pipetas volumétricas de 1,5 y 10ml.
- Micropipetas marca Brand, de capacidades: 5-50, 25-250 y 100-1000 μ L.

- Jeringa de vidrio marca Hamilton de punta plana, modelo 80600 con capacidad de 0-100 μ L.
- Membranas de nylon para filtración, marca Millipore de 47mm de 0.45 μ m.

D) DISOLVENTES Y REACTIVOS

- Ácido acético glacial de 99.7% de pureza, Baker, USA.
- Ácido sulfúrico concentrado de 72% de pureza, Baker, USA.
- Ácido perclórico de 70-72% de pureza, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania.
- Ácido fórmico de 98% de pureza, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania.
- Hidróxido de sodio, 98% de pureza, Sigma Aldrich.
- Agua nanopura.
- Hipoclorito de sodio, 6% de cloro libre disponible, Sigma Aldrich.
- Yodato de potasio de 99% de pureza, Sigma Aldrich.
- Tiosulfato de sodio de 99% de pureza, Sigma Aldrich.
- Sulfato de sodio de 99% de pureza, Sigma Aldrich.
- Almidón.
- Yoduro de mercurio (II) de 99% de pureza, Baker.
- Fosfato diácido de potasio de 99% de pureza, Baker.
- Fosfato ácido de potasio trihidratado de 99% de pureza, Baker.
- Yoduro de potasio de 99% de pureza, Sigma Aldrich.
- Acetato de sodio de 99% de pureza, Baker.
- Metanol grado cromatográfico, Prolabo, Francia.
- Acetonitrilo grado cromatográfico, Prolabo, Francia.

E) ESTÁNDARES

- 3-Clorofenol de 98.4% de pureza, Chem. Service Co., USA
- 2,3-Diclorofenol de 99.4% de pureza, Chem. Service Co., USA
- 2,5-Diclorofenol de 99% de pureza, Chem. Service Co., USA
- 2,6-Diclorofenol de 99% de pureza, Chem. Service Co., USA
- 3,4-Diclorofenol de 99% de pureza, Chem. Service Co., USA
- 3,5-Diclorofenol de 99.5% de pureza, Chem. Service Co., USA
- 2,3,4,5-Tetraclorofenol de 99% de pureza, Chem. Service Co., USA
- 2,3,4,6-Tetraclorofenol de 99% de pureza, Chem. Service Co., USA
- 2,3,5,6-Tetraclorofenol de 99.5% de pureza, Chem. Service Co., USA
- Pentaclorofenol de 99% de pureza, Chem. Service Co., US

III.1 DISOLUCIONES ESTÁNDAR Y DE PATRON PRIMARIO.

- Tiosulfato de sodio 0.1N
- Tiosulfato de sodio 0.01N

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Pesar aproximadamente 2.6g de tiosulfato de sodio, disolver en agua recién hervida y fría, añadir 0.1ml de cloroformo (o Na_2CO_3) para neutralizar posibles iones hidrogeno y evitar el desarrollo de microorganismos, aforar con la misma agua a 100ml. Guardar la disolución en frasco color ámbar.

PREPARACIÓN DE LA DISOLUCIÓN DE KIO_3 .

Pesar 3.5667g de KIO_3 (patrón primario) y aforar a un litro con agua destilada para preparar una disolución 0.1N.

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.01N.

Se prepara por dilución de la disolución concentrada de 0.1N y se valora con una disolución de KIO_3 de la misma concentración (0.01N).

III.2.- DESARROLLO DEL MÉTODO

El pretratamiento de la muestra se realiza de la siguiente manera:

- 1) Pasar agua por la tubería de la bomba (10ml a flujo grande).
- 2) Pasar a flujo de 1ml/min agua por la precolumna (aproximadamente 20min).
- 3) Pasar por la tubería 10ml de una mezcla de HClO_4 (Ácido Perclórico) de pH 2 que contiene 1% de Metanol en volumen.
- 4) Pasar por la precolumna a flujo de 1ml/min la mezcla de HClO_4 y Metanol para la activación de esta, durante 15min.
- 5) Pasar por la tubería 10ml de la mezcla de reacción.
- 6) Pasar por la precolumna 25ml de la disolución de la mezcla de reacción a flujo de 1ml/min (midiendo en matraz aforado).
- 7) Quitar la precolumna, para acoplarla en el sistema cromatográfico y la posterior desorción de los analitos.

Preparación de la Mezcla de Reacción.

- 1) En un matraz aforado de 50ml colocar: La disolución buffer (de pH determinado), agregar el cloro (de concentración a emplear) y aforar con el buffer.
- 2) En un recipiente oscuro agregar 67 μL de 3-Clorofenol de concentración 37.5 ppm, posteriormente adicionar la mezcla del paso 1.
- 3) Inmediatamente tomar el tiempo y colocar el frasco en el potenciómetro para comenzar con la lectura del pH.
- 4) Una vez completa la reacción, agregar 600 μL de Na_2SO_3 (Tiosulfito de Sodio) al 10%.
- 5) Agregar a la mezcla anterior gota a gota HClO_4 concentrado para ajustar el pH de la mezcla a 2.
- 6) Filtrar la mezcla de reacción, ultrasonar y analizar por CLAR.

IV.- RESULTADOS OBTENIDOS.

Como la caracterización de los compuestos formados (diclorofenoles) durante la cloración del 3-CF en base a las diferentes condiciones experimentales estudiadas, se realiza mediante la CLAR, los datos proporcionados por la propia separación cromatográfica de los fenoles y la respuesta del detector UV son primordiales para determinar la cantidad y el tipo de diclorofenoles que se forman.

IV.1 SEPARACION CROMATOGRÁFICA

La mezcla de diclorofenoles esta constituida por 5 solutos: 2,3-DCF, 2,5-DCF, 2,6-DCF, 3,4-DFC y 3,5-DCF.

La mezcla de diclorofenoles se inyecta en el sistema en línea precolumna-columna analítica ya que ambas contribuyen a la retención y forma de los picos de los analitos. La composición de la fase móvil debe ser tal que permita la desorción cuantitativa de los analitos de la precolumna, su transferencia eficiente hacia la columna analítica y su separación cromatográfica.

Para lograr buena resolución y eficiencia en la separación de la mezcla de los diclorofenoles, la optimización de condiciones debe considerar no solo la proporción de disolvente orgánico en la fase móvil sino también pH, concentración y naturaleza del buffer. Además, la fase móvil debe ser compatible con el detector UV.

Estos compuestos presentan propiedades químicas muy parecidas ya que son isómeros de posición y como presentan propiedades ácido-base su separación deberá basarse en la selectividad de esta técnica mediante cambios en la composición de la fase móvil (pH, naturaleza y contenido de disolventes orgánicos).

Los ensayos efectuados para lograr la separación de los diclorofenoles fueron los siguientes:

a) Acetonitrilo-Fase acuosa (pH 3.5)

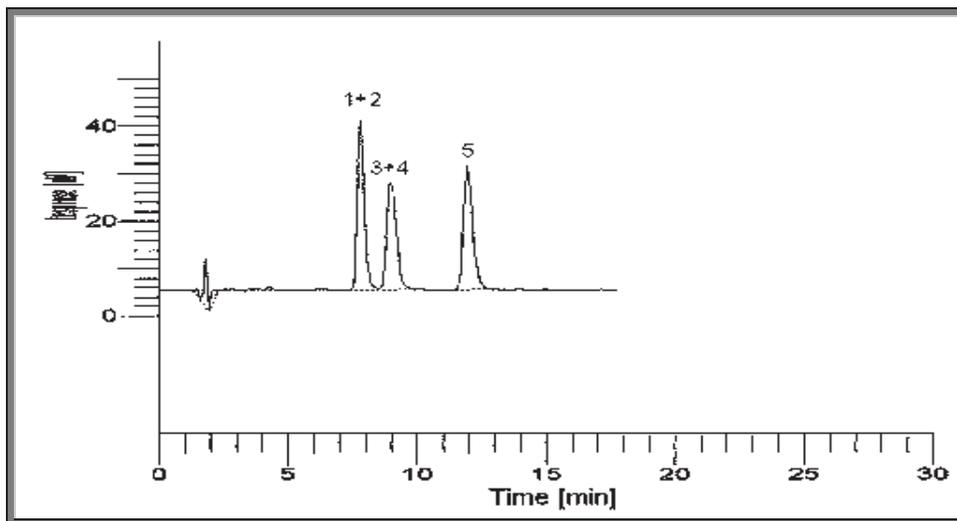


Figura 3. Inyección de una mezcla de 10 ppm de diclorofenoles, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 25:75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 70:30 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min. Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

Gradiente:

%B	28	28	30
T (min.)	0	12	10

La separación de los diclorofenoles con el Acetonitrilo no es reproducible ni eficiente, algunos diclorofenoles coeluyen como puede observarse en la Fig 3, en el pico 1 se encuentran el 2,6-Diclorofenol y el 2,3-Diclorofenol, así como en el pico 2 vemos el 2,5-Diclorofenol y el 3,4-Diclorofenol, siendo el pico 5 (3,5-Diclorofenol) el único que se separa adecuadamente.

b) Acetonitrilo-Metanol-Fase acuosa (pH 3.5)

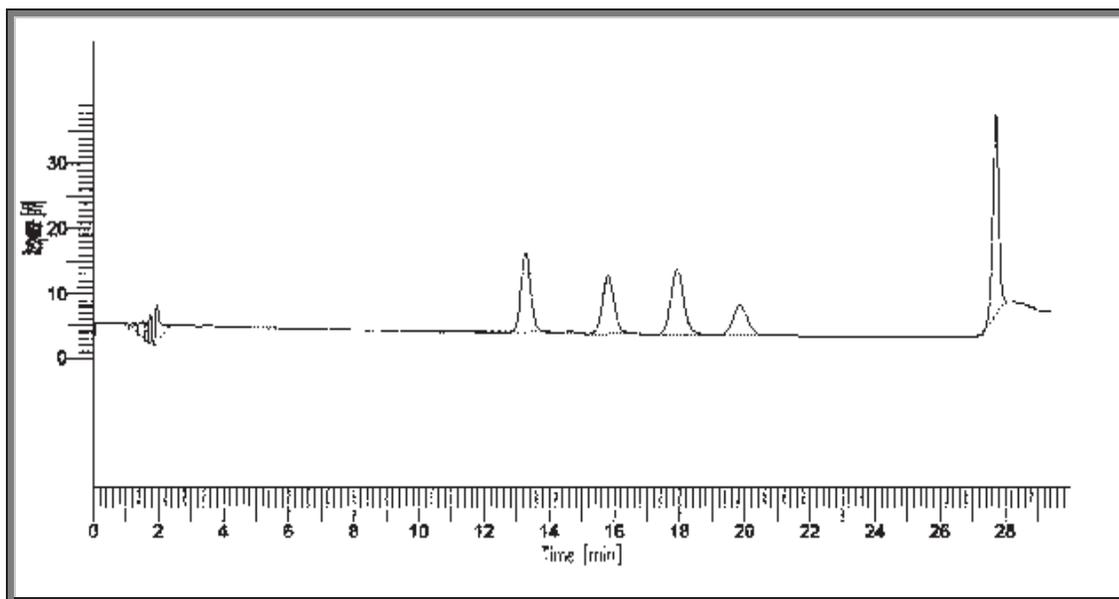


Figura 4. Inyección de una mezcla de 10 ppm de diclorofenoles, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm DI) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min. Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

Gradiente:

%B	20	20	70
T (min.)	0	24	10

Los picos son más anchos debido a que la fase móvil contiene menor proporción de disolvente orgánico por lo cual se retienen más en la fase estacionaria y en consecuencia el tiempo de análisis es grande.

c) Acetonitrilo-Metanol-Fase acuosa (pH 3.5)

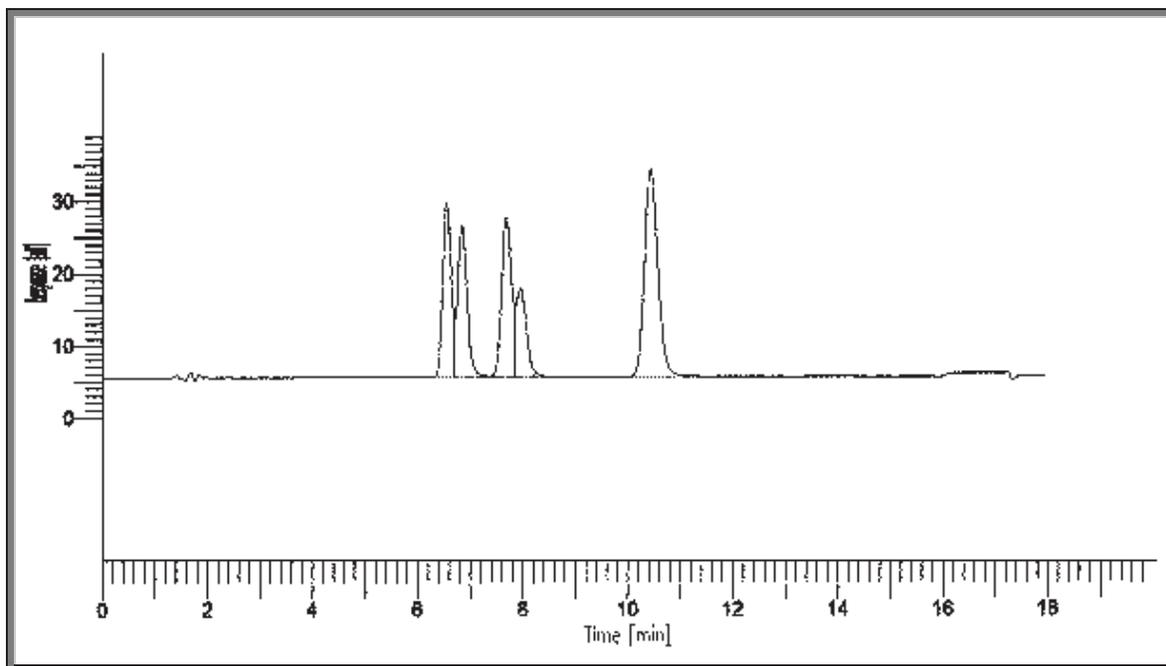


Figura 5. Inyección de una mezcla de 10 ppm de diclorofenoles, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución isocrática, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min. Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

Elución Isocrática:

70% A	30% B
-------	-------

La elución isocrática se usa cuando la mezcla a separar contiene pocos solutos. En este caso como los compuestos tienen propiedades químicas similares este modo no es suficiente para lograr una buena separación.

La separación obtenida no es reproducible, los analitos 2,5-DCF y 3,4-DCF coeluyen, el tiempo de análisis es corto, de igual manera los picos 1 y 2 no se separan adecuadamente.

La separación reproducible y eficiente se obtuvo con la mezcla de dos disolventes orgánicos y el buffer de pH 3.5 en un tiempo de análisis de aproximadamente 20min.:

d) Acetonitrilo-Metanol-Fase acuosa (pH 3.5).

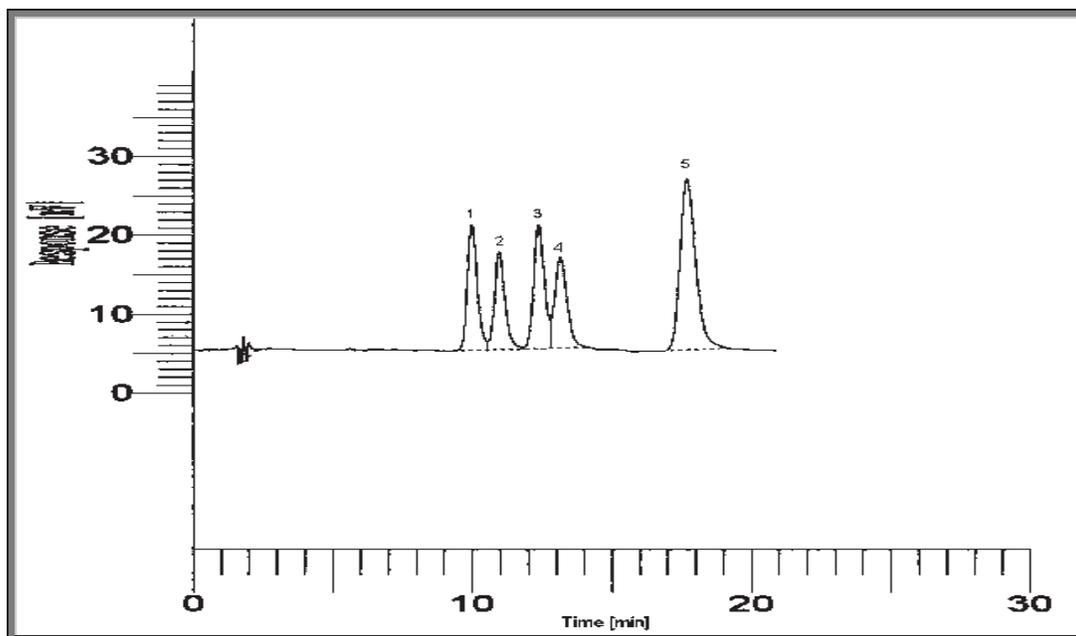


Figura 6. Inyección de una mezcla de 10 ppm de diclorofenoles, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1ml/min. Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

Gradiente:

%B	28	28	30
T (min.)	0	12	10

La identificación de cada analito se realizó inyectando cada soluto a las mismas condiciones. El orden de elución es: 1) 2,6-Diclorofenol, 2) 2,3-Diclorofenol, 3) 2,5-Diclorofenol, 4) 3,4-Diclorofenol y 5) 3,5-Diclorofenol.

La repetibilidad de la separación cromatográfica es muy importante porque la información obtenida de dicha separación es necesaria para efectuar la caracterización de los compuestos formados en la cloración del 3-Clorofenol.

Por ello, se inyectó 5 veces el estándar de la mezcla de los diclorofenoles.

REPETIBILIDAD DE LA SEPARACIÓN [A]:

TABLA 6. Para la media, desviación estándar y coeficiente de varianza con respecto al área en los picos de los compuestos.

COMPUESTO	\bar{X}_{AREA}	S_{AREA}	CV_{AREA}
2,6-DCF	394422.41	8979	2.28
2,3-DCF	321544.62	8568.72	2.66
2,5-DCF	420784.18	11470.6	2.72
3,4-DCF	358380.59	14086.60	3.93
3,5-DCF	837750.42	19702.81	2.35

TABLA 7. Para la media, desviación estándar, coeficiente de variación e intervalo de confianza con respecto al tiempo de retención de los picos de los compuestos.

COMPUESTO	\bar{X}_{Tr}	S_{Tr}	CV_{Tr}	INTERVALO DE CONFIANZA PARA Tr
2,6-DCF	9.76	0.2261	2.32	$9.52 \leq Tr \leq 10$
2,3-DCF	10.69	0.2787	2.61	$10.39 \leq Tr \leq 10.98$
2,5-DCF	12.10	0.3290	2.27	$11.75 \leq Tr \leq 12.45$
3,4-DCF	12.88	0.3708	2.88	$12.49 \leq Tr \leq 13.27$
3,5-DCF	17.3	0.4595	2.66	$16.82 \leq Tr \leq 17.78$

IV.2.- EFICIENCIA DE LA COLUMNA

Expresa el grado de ensanchamiento que sufren las bandas de los solutos al migrar a través de la columna.

La calidad de una columna se juzga por el bajo grado de ensanchamiento de las bandas, pues esto es un índice de la posibilidad de lograr una buena separación; mientras más pequeño sea este ensanchamiento la columna es más eficiente. Esa eficiencia está vinculada al número de platos teóricos que contiene (N), es decir, el número de ocasiones en que la fase móvil y los solutos se ponen en equilibrio con la fase estacionaria contenida en el plato. Por esta razón se considera el movimiento de la fase móvil como una serie de pasos sucesivos y no como un desplazamiento continuo, lo cual permite calcular el perfil de la distribución de cada especie en cada paso y cada plato.

TABLA 8. Eficiencia de la Columna.

COMPUESTO	Tr (min)	AREA (A) ($\mu\text{V}\cdot\text{s}$)	ALTURA (h) (μV)	A/h (s)	$W_{1/2}$ (min)	N (μm)	H (μm)	κ'
2,6-DCF	9,97	394092,58	15708,6	25,09	0,3927	3573,36	41,98	3,24
2,3-DCF	10,98	320627,74	11673,79	27,47	0,4299	3615,56	41,49	3,67
2,5-DCF	12,48	417969,84	14180,26	29,48	0,4615	4055,66	36,98	4,31
3,4-DCF	13,32	350805,34	10989,13	31,92	0,4996	3940,67	38,06	4,67
3,5-DCF	17,75	856513	21999,03	38,93	0,6093	4704,52	31,88	6,55

TABLA 9. Factor de Selectividad.

FACTOR DE SELECTIVIDAD	FACTOR DE SELECTIVIDAD (α)
$\alpha_{K'_{2,6-DCF}/K'_{2,3-DCF}}$	1,1327
$\alpha_{K'_{2,3-DCF}/K'_{2,5-DCF}}$	1,1744
$\alpha_{K'_{2,5-DCF}/K'_{3,4-DCF}}$	1,0835
$\alpha_{K'_{3,4-DCF}/K'_{3,5-DCF}}$	1,4026

Si los componentes de la mezcla tienen coeficientes de distribución diferentes, su velocidad de migración es distinta y pueden separarse. Si un soluto tiene mayor afinidad por la fase estacionaria, su interacción será mayor, su coeficiente de distribución (κ') será mayor y viajará más lentamente. En este caso, el 2,6-DCF es más afín a la fase móvil y eluye en primer lugar, por el contrario el 3,5-DCF es el más retenido por la fase estacionaria.

IV.3.- TRANSFORMACIÓN QUÍMICA DEL FENOL A CAUSA DE LA CLORACIÓN.

El interés de realizar este trabajo es debido a que al analizar compuestos fenólicos en aguas cloradas se ha observado la transformación de estos en productos que probablemente pudieran ser compuestos policlorados mucho más tóxicos que los compuestos iniciales.

El cloro reacciona con compuestos orgánicos traza presentes en cuerpos de agua, los productos formados pueden tener sabor u olor desagradables. La clorooxidación de los fenoles conlleva a la transformación progresiva de los mismos en una primera etapa hacia compuestos policlorados más tóxicos y posteriormente, dependiendo de las condiciones da lugar a la formación de compuestos alifáticos de cadena corta.

La cloración del fenol procede por la sustitución en pasos de las posiciones 2,4 y 6 del anillo aromático en dirección a la formación de los productos de oxidación no fenólicos.

Se producen 8 reacciones interdependientes que ocurren simultáneamente. Inicialmente el fenol es clorado y forma 2 y 4-clorofenol. El 2-CF es clorado para formar el 2,4-DCF y 2,6-DCF, mientras que el 4-CF forma el 2,4-DCF. Ambos compuestos diclorados son clorados para formar el 2,4,6-TCF. Este compuesto reacciona con cloro acuoso para originar una mezcla de productos de oxidación no fenólicos.

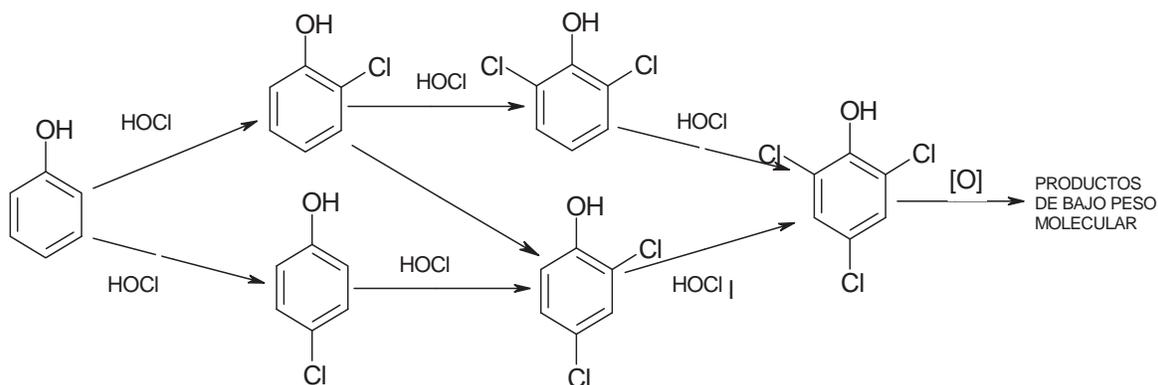


FIGURA 7. Esquema de la reacción de cloración del fenol.

La transformación química del 3-CF a causa de la cloración del agua produce compuestos clorados los cuales serán caracterizados mediante un sistema en línea de EFS-CLAR. El método analítico empleado se ha desarrollado para caracterizar diclorofenoles y tetraclorofenoles usando un detector UV a 280nm.

Las concentraciones máximas permisibles (ppb) de clorofenoles en agua para protección de la salud humana establecidas por la USEPA son:

COMPUESTO	CONCENTRACIÓN MÁXIMA (ppb)
3-CLOROFENOL	50
4-CLOROFENOL	30
2,5-DICLOROFENOL	3
2,6-DICLOROFENOL	3
2,4,5-TRICLOROFENOL	10
2,4,6-TRICLOROFENOL	100
2,3,4,6-TETRACLOROFENOL	253

El tipo y cantidad de clorofenoles formados durante la cloración del 3-CF depende de los parámetros experimentales estudiados tales como: la concentración de cloro, el pH y el tiempo de contacto.

La concentración del fenol de 50 ppb utilizada en los diversos experimentos es la comúnmente encontrada en suministros de agua de desecho.

IV.4.- PODER OXIDANTE DEL CLORO

El cloro aplicado al agua en forma de gas o de hipoclorito se hidroliza para producir cloro libre consistente en cloro molecular acuoso, ácido hipocloroso (HOCl) e ion hipoclorito (ClO⁻). La proporción relativa de estas formas de cloro libre depende del pH y la temperatura. Al pH de la mayoría de las aguas, predominan del HOCl y el ClO⁻; y a esto se le denomina cloro libre disponible o residual de cloro libre expresado en mg/L.



El cloro residual puede existir como compuestos clorados de materia orgánica y amoníaco, en cuyo caso se conoce como “cloro residual combinado”, puede estar presente como cloro libre y en este caso se conoce como “cloro residual libre”, o puede estar al mismo tiempo como “combinado” y como “cloro residual libre” y en este caso se conoce como “cloro residual total”. En consecuencia, “cloro suficiente” es la cantidad requerida para producir un residual deseado, ya sea combinado, libre o total, después de un periodo de contacto definido.

Considerando el equilibrio (1), se tiene que a valores de pH mayores de 4 en disoluciones diluidas (concentraciones menores de 1000mg/L), la reacción de hidrólisis se completa en segundos.

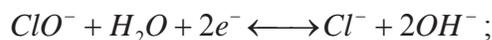
En el intervalo de pH de 6.5 a 8.5, la reacción de disociación es incompleta y ambas especies HOCl y ClO⁻ están presentes. La principal diferencia de las formas de cloro es referente al pH resultante, el cloro disminuye el pH inicial y los hipocloritos lo incrementan.

La capacidad de desinfección del cloro acuoso está relacionada con su carácter oxidante:



E^0 = Potencial estándar de electrodo a 25°C.

Ambos equilibrios dependen del pH; por lo que el potencial normal aparente (E') es:



$$E' = E_{\text{ClO}^- / \text{Cl}^-}^0 - 0.06 \text{pH} ; \quad E' = 0.9 - 0.06 \text{pH}$$



$$E' = E_{\text{HOCl} / \text{Cl}^-}^0 - 0.03 \text{pH} ; \quad E' = 1.49 - 0.03 \text{pH}$$

El HOCl es un oxidante más fuerte que el ion ClO⁻.

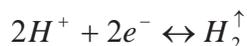
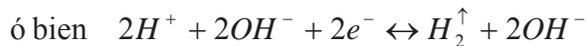
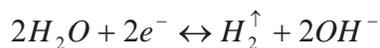
IV.4.1. DIAGRAMA DE EQUILIBRIO DE POTENCIAL CONDICIONAL DEL CLORO.

Las disoluciones empleadas para realizar las reacciones de óxido-reducción tienen comúnmente al agua como disolvente.

El agua y sus iones pueden intercambiar e⁻, es decir, comportarse como oxidante o reductor.

Existen en el agua dos sistemas oxido-reductores, desempeñando el agua dos papeles:

❖ De oxidante:



Su potencial será igual a:

$$E = E_{\text{H}^+ / \text{H}_2}^0 + \frac{0.06}{2} \log \frac{[\text{H}^+]^2}{[\text{H}_2]}$$

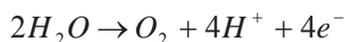
Como $E_{H^+/H_2}^0 = 0$ y como la $P_{H_2} = 1atm$

$$E = 0 + 0.06 \log[H^+]$$

$$pH = 0 \quad [H^+] = 10^{-0} = 1 \quad E = 0$$

$$pH = 14 \quad [H^+] = 10^{-14} \quad E = -0.84$$

❖ De reductor:



$E_{O_2/H_2O}^0 = 1.23$ y la $P_{O_2} = 1atm$

$$E = E_{O_2/H_2O}^0 + \frac{0.06}{4} \log[O_2][H^+]^4$$

$$E = 1.23 + \frac{0.06}{4} \log[1][H^+]^4$$

$$E = 1.23 + \frac{0.06}{4} \log[H^+]^4$$

$$pH = 0 \quad E = 1.23$$

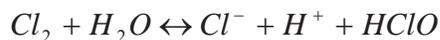
$$pH = 14 \quad E = 0.39$$

Las reacciones son muy lentas en ausencia de catalizadores, y en general los iones del agua no intervienen en equilibrios con los oxidantes y reductores disueltos. El agua es en general inerte desde el punto de vista de la oxidación-reducción.

Las reacciones de desproporción (o de dismutación) son reacciones en la que un elemento en parte se oxida y en parte se reduce; esto es, el elemento pase a dos nuevos estados de oxidación, uno mayor y el otro menor, respecto a su estado inicial. En estas reacciones es importante la influencia del pH.

Diagrama E (volts) Vs pH

Considerando el Cl_2 en disolución acuosa:



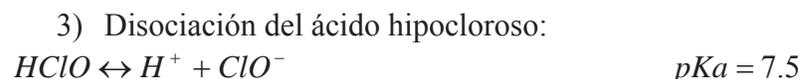
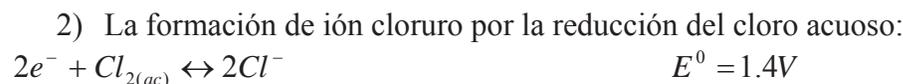
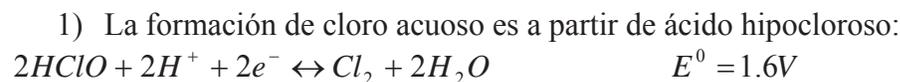
Las especies que intervienen en el sistema de cloro acuoso son:



CONSTRUCCION DEL DIAGRAMA E'-pH PARA SISTEMA DE CLORO ACUOSO.

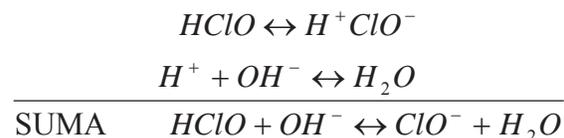
Al escribir los equilibrios redox, las reacciones siempre deben representarse como reducciones.

Se tienen 3 reacciones básicas:

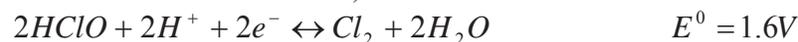


Se usó una concentración de $10^{-2}M$, pero cuando los valores de $C_{T,Cl}$ son distintos se observa que las fronteras o límites del diagrama tienen poca variación con $C_{T,Cl}$. Por tanto, el diagrama $E^0f(pH)$ se aplica en general a otras concentraciones totales.

En medio básico se tiene:



De acuerdo a la ecuación 1):

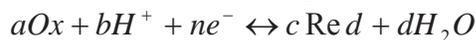


Aplicando la ecuación de Nernst:

$$E = E^0_{HClO/Cl_2} + \frac{0.06}{n} \log \frac{[Oxidante]^a [H^+]^b}{[Reductor]^c [H_2O]^d}$$

$$E = E_{HClO/Cl_2}^0 + \frac{0.06}{n} \log \frac{[Ox]^a [H^+]^b}{[Red]^c [H_2O]^d}$$

Para una reacción del tipo:



$$E = 1.6 + \frac{0.06}{2} \log \frac{[HClO]^2 [H^+]^2}{[Cl_2]}$$

$$E = 1.6 + 0.03 \log \frac{[HClO]^2 [H^+]^2}{[Cl_2]}$$

$$E = 1.6 + 0.06 \log [H^+] + 0.03 \log \frac{[HClO]^2}{[Cl_2]}$$

$$E = 1.6 - 0.06 pH + 0.03 \log \frac{[HClO]^2}{[Cl_2]}$$

$$\text{Si } [HClO] = [Cl_2] \quad E' = 1.06 - 0.06 pH$$

$$pH = 0 \quad E' = 1.6$$

$$pH = 7.5 \quad E' = 1.15$$

$$pH = 14 \quad E' = 0.76$$

El E' (potencial) disminuye al aumentar el pH por lo que el E'_{HClO/Cl_2} es indicado en el diagrama por una línea inclinada.

De la ecuación 2):



$$E = 1.4 + \frac{0.06}{2} \log \frac{[Cl_2]}{[Cl^-]^2} \quad (\text{No depende del pH})$$

$$\text{Si } [Cl_2] = [Cl^-] \quad E' = 1.4$$

El potencial del par Cl_2/Cl^- que no cambia al variar el pH es indicado por una línea horizontal.

Como estas 2 reacciones tienen en común al cloro acuoso $Cl_{2(ac)}$; estas dos líneas se encuentran a un $pH = 3.34$.

O sea:

$$E = E_{HClO/Cl_2} = E_{Cl_2/Cl^-}$$

$$1.6 - 0.06 pH = 1.4 \quad ; \quad pH = \frac{0.2}{0.06} = 3.34$$

$$- 0.06 pH = -0.2$$

De acuerdo a la ecuación 3):



$$Ka = \frac{[H^+][ClO^-]}{HClO} = 10^{-7.5}$$

Para $[HClO] = [ClO^-]$

$$\frac{Ka}{[H^+]} = \frac{[ClO^-]}{[HClO]} = 1$$

$Ka = [H^+]$ Aplicando logaritmos y multiplicando por -1.

$$- \log Ka = - \log [H^+]$$

$$pKa = pH = 7.5$$

Este valor del pH no varia al cambiar las condiciones redox, y por ello se indica mediante una línea vertical.

El diagrama se divide en 4 zonas correspondientes a campos de estabilidad de Cl_2 , $HClO$, ClO^- y Cl^- ; en cada una de las zonas, la especie indicada se encuentra en concentraciones $10^{-2}M$. Las líneas de separación corresponden a las condiciones de coexistencia de dos especies conjugadas, cada una en concentración $10^{-2}M$. Los puntos de intersección, a su vez indican la coexistencia de 3 componentes $10^{-2}M$ (para valores de las concentraciones diferentes a $10^{-2}M$, las líneas de separación resultan ligeramente desplazadas paralelamente entre si).

Las líneas de separación horizontal dividen los campos de estabilidad de dos especies, las cuales, transformándose la una en la otra, implican una transferencia de electrones y no de protones, (para $Cl_2 + 2e^- \leftrightarrow 2Cl^-$).

Las líneas de separación vertical dividen campos de estabilidad de 2 especies, las cuales, transformándose la una en la otra, implican transferencia de protones. Línea entre la zona $HClO$ y ClO^- correspondiente al equilibrio $HClO \leftrightarrow H^+ + ClO^-$.

Las líneas de separación inclinadas dividen campos de estabilidad de 2 componentes, los que, transformándose el uno en el otro, implican simultáneamente transferencia de e^- y de protones.

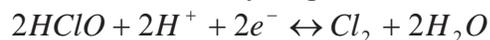


Diagrama:

pH = 0

Para $E < 1.4$ la especie predominante es Cl^- en concentración 10^{-2}M .

Para $E = 1.4$ $[\text{Cl}_2] = [\text{Cl}^-] = 10^{-2}$

Para $1.4 < E < 1.6$ la especie predominante es Cl_2 en concentración 10^{-2}M .

Para $E = 1.6$ se tiene $[\text{HClO}] = [\text{Cl}_2]$.

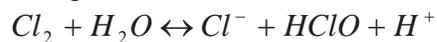
Para $E > 1.6$ la especie predominante es HClO en concentración 10^{-2}M , mientras $[\text{Cl}_2]$ tiende rápidamente a cero.

Al aumentar el pH el campo de estabilidad del Cl_2 disminuye.

Para pH < 3.3 HClO reacciona con Cl^- para dar Cl_2 .

Para pH = 3.3 Cl_2 , HClO y Cl^- están en equilibrio en concentración 10^{-2}M .

Para pH > 3.3; el Cl_2 no es estable, en concentraciones 10^{-2}M , y reacciona:



A pH > 3.3 por reducción del HClO o del ClO^- se obtiene directamente Cl^- .

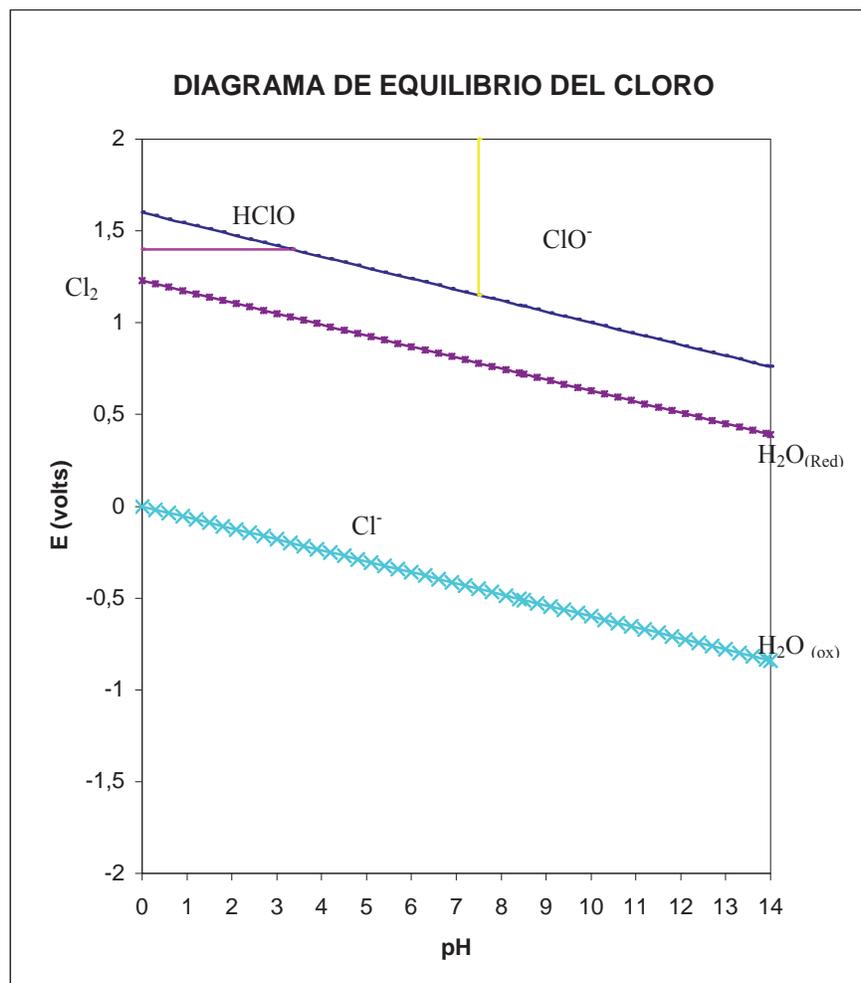


Figura 8. Diagrama de equilibrio de potencial condicional del cloro.

IV.5 RESULTADOS DE LA REACCIÓN DE CLORACIÓN DEL 3-CLOROFENOL EN FUNCIÓN DE LAS CONDICIONES EXPERIMENTALES ESTUDIADAS

Los parámetros experimentales estudiados fueron:

- a) Concentración de cloro
- b) pH
- c) Tiempo de contacto

1) CONCENTRACION DE CLORO 5 ppm

- a) Relación cloro-3-Clorofenol (100:1)
Tiempo de contacto 30min

Se consideró esta relación ya que se ha demostrado [8] que una relación en peso (cloro:fenol) de (100:1) permite la oxidación completa del fenol en un intervalo de pH de 7 a 8.3 y se minimiza la formación de clorofenoles.

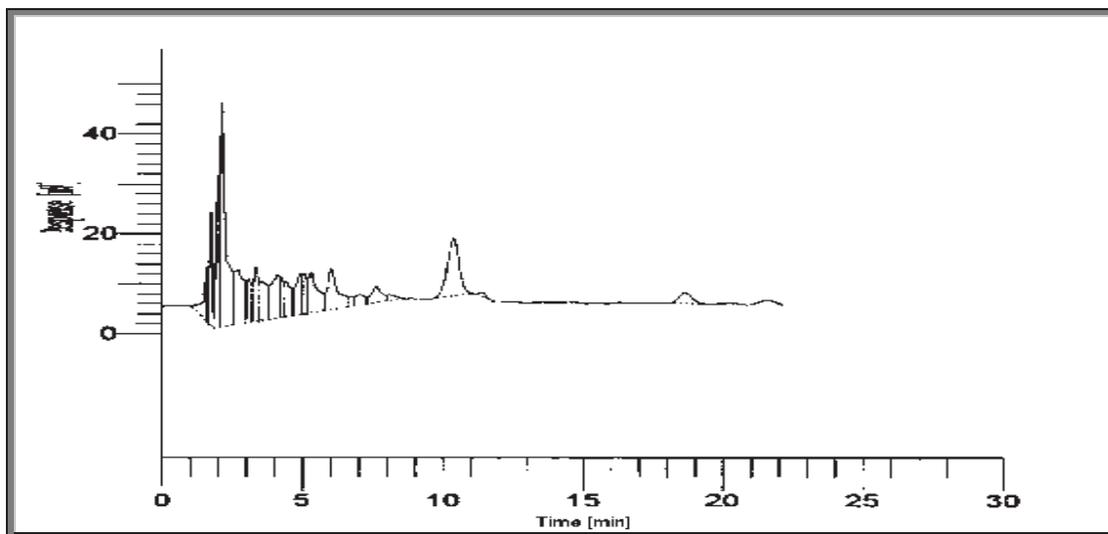


Figura 9. Inyección de una mezcla de cloro de 5 ppm disuelto en un buffer de ácido acético-acetato (pH 4.76), 3-CF (50 ppb), tiempo de contacto: 30min, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min. Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

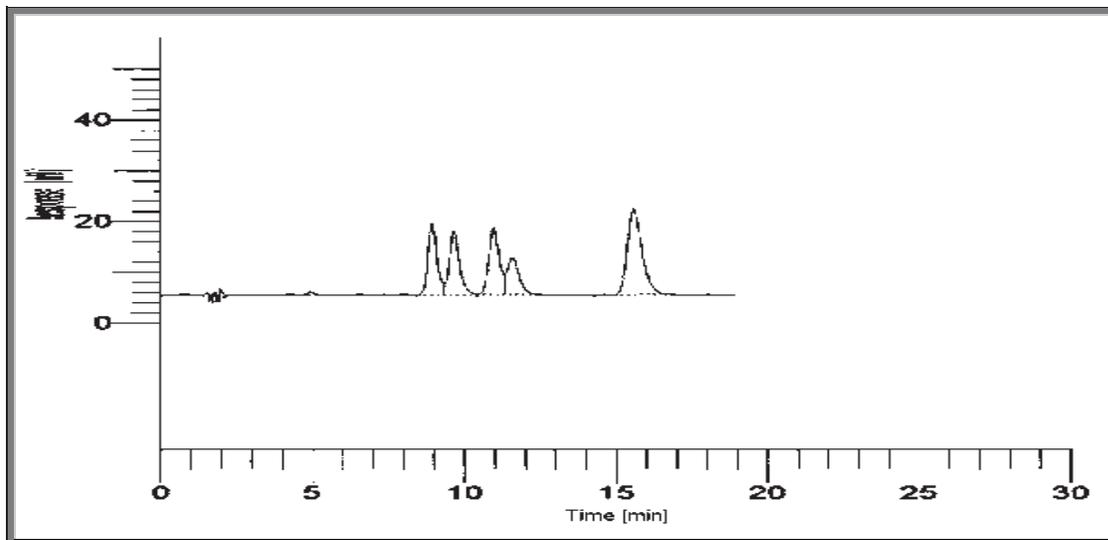


Figura 10: Estándar de la mezcla de diclorofenoles

Inyección de una mezcla de 10ppm de diclorofenoles, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min.

Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

Se observa la formación del compuesto 2,5-Diclorofenol cuya concentración se calcula mediante la Ecuación A del Apéndice C.

Compuesto	Concentración (ppb)
2,5-DCF	8.63

b) Relación cloro-3-Clorofenol (100:1)
Tiempo de contacto 1h

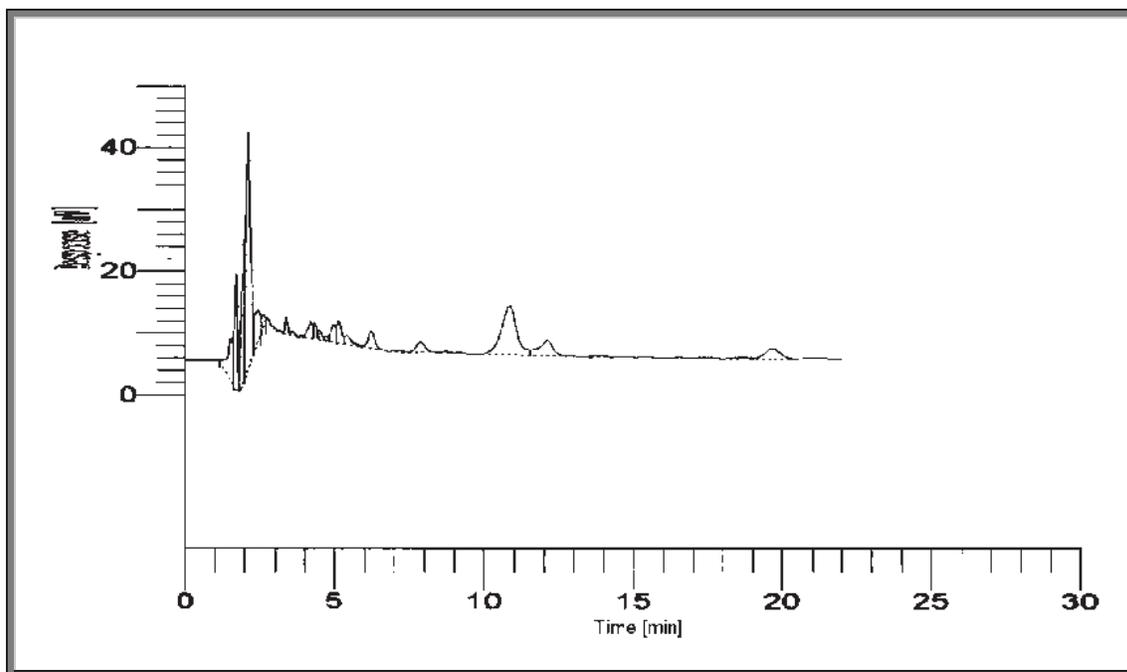


Figura 11. Inyección de una mezcla de cloro de 5 ppm disuelto en un buffer de ácido acético-acetato (pH=4.76), 3-CF (50 ppb), tiempo de contacto:1h, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min.

Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

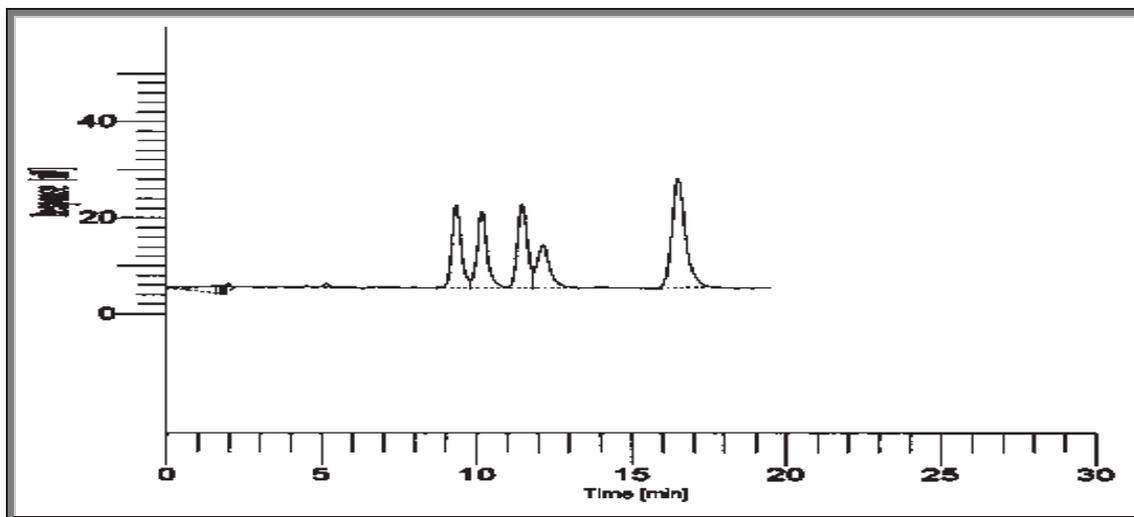


Figura 12. Estándar de la mezcla de diclorofenoles

Inyección de una mezcla de 10ppm de diclorofenoles, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

Los compuestos caracterizados son: 2,5-Diclorofenol y 3,4-Diclorofenol. Las concentraciones calculadas son:

Compuesto	Concentración (ppb)
2,5-DCF	5.9
3,4-DCF	2.47

En ambos casos el cloro libre disponible se encuentra en forma de HClO como puede observarse en el diagrama de la Figura 8. A estas condiciones se observa la formación de 2,5-Diclorofenol y apenas se aprecia al 3,4-Diclorofenol como puede observarse en los cromatogramas.

Además la concentración del 2,5-Diclorofenol se encuentra por encima de la concentración máxima permisible de acuerdo con la EPA.

A medida que aumenta el tiempo de contacto las concentraciones de los compuestos van disminuyendo.

2) CONCENTRACIÓN DE CLORO 1 ppm

- a) Relación de cloro-3-Clorofenol (20:1)
Tiempo de contacto 1h

Se observa la formación de 3 compuestos diclorados, 2,3-DCF, 2,5-DCF y 3,4-DCF.

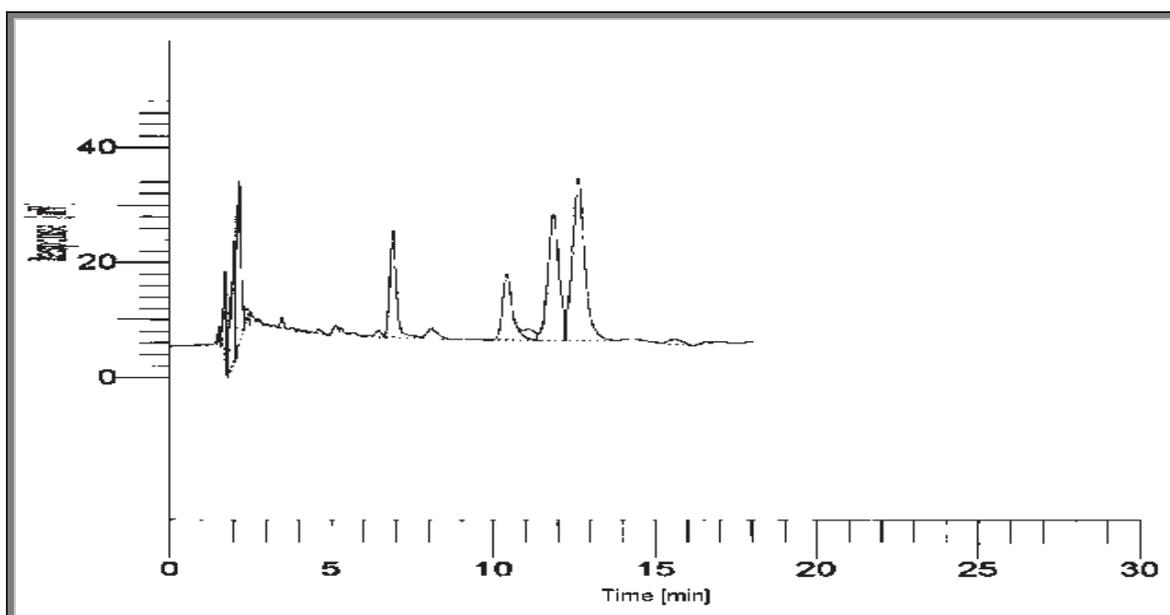


Figura 13. Inyección de una mezcla de cloro de 1 ppm disuelto en un buffer de ácido acético-acetato (pH 4.76), 3-CF (50 ppb), tiempo de contacto: 1h, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min. Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

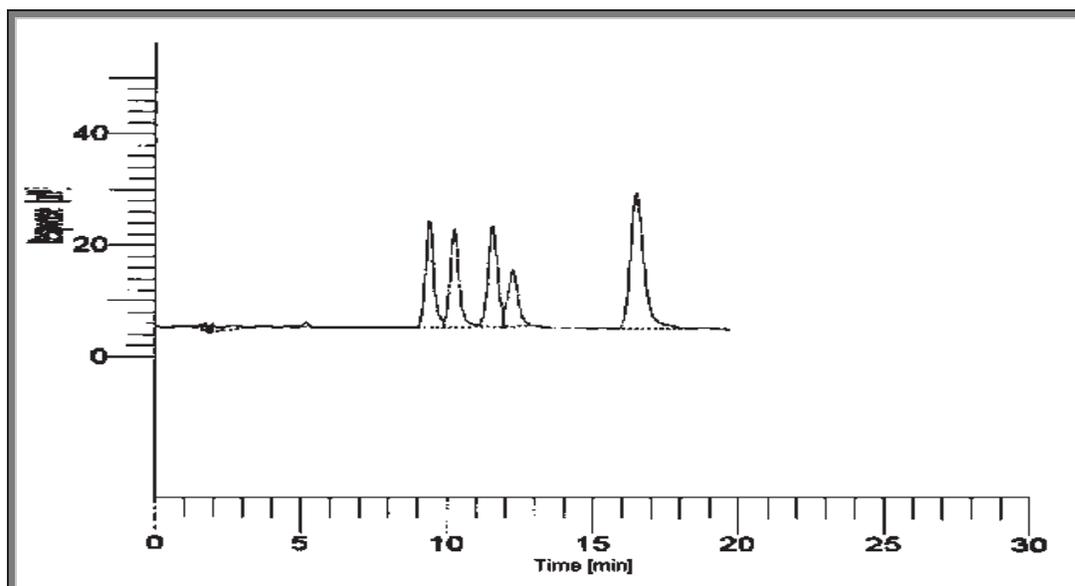


Figura 14. Estándar de la mezcla de diclorofenoles

Inyección de una mezcla de 10ppm de diclorofenoles, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min.

Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

Los compuestos caracterizados por la CLAR son: 2,3-Diclorofenol, 2,5-Diclorofenol y 3,4-Diclorofenol, sus respectivas concentraciones son:

Compuesto	Concentración (ppb)
2,3-DCF	5.36
2,5-DCF	11.72
3,4-DCF	24.45

b) Relación cloro-3-Clorofenol (20:1)
Tiempo de contacto 2h

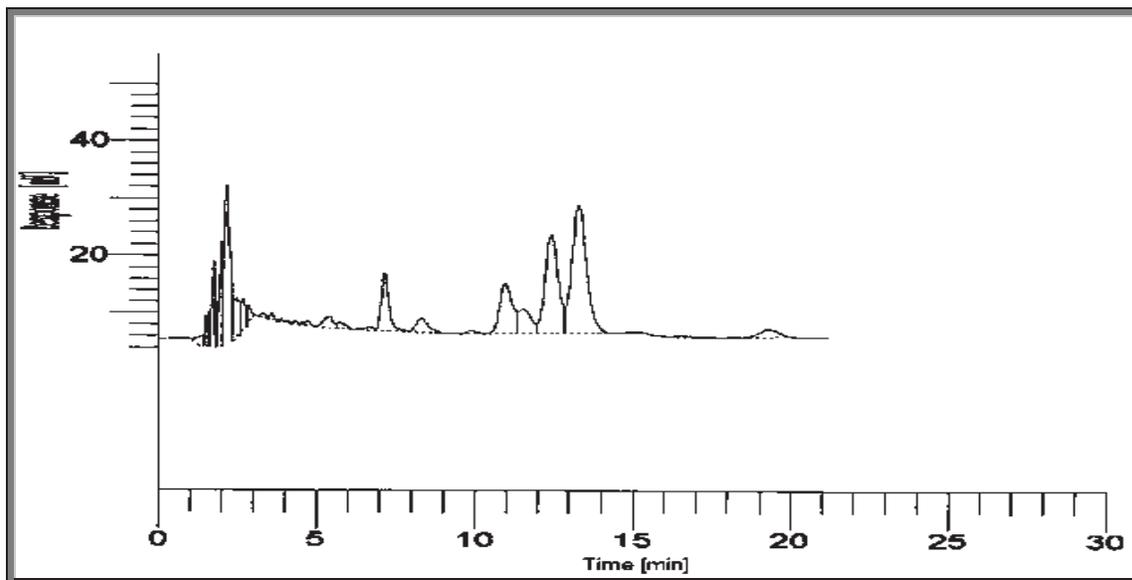


Figura 15. Inyección de una mezcla de cloro de 1 ppm disuelto en un buffer de ácido acético acetato (pH 4.76), 3-CF (50 ppb), tiempo de contacto: 2h, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min. Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

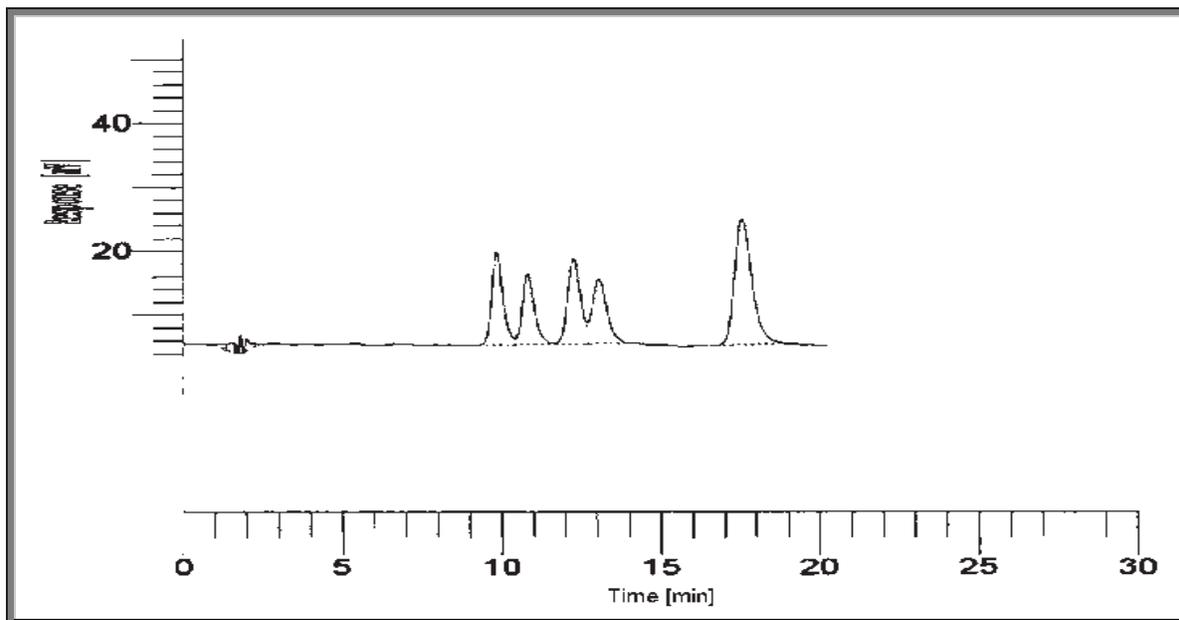


Figura 16. Estándar de la mezcla de diclorofenoles

Inyección de una mezcla de 10ppm de diclorofenoles, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min.

Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

Los compuestos caracterizados y sus respectivas concentraciones se dan a continuación:

Compuesto	Concentración (ppb)
2,3-DCF	4.8
2,5-DCF	10.70
3,4-DCF	18.01

- c) Relación cloro-3-Clorofenol (20:1)
Tiempo de contacto 3h

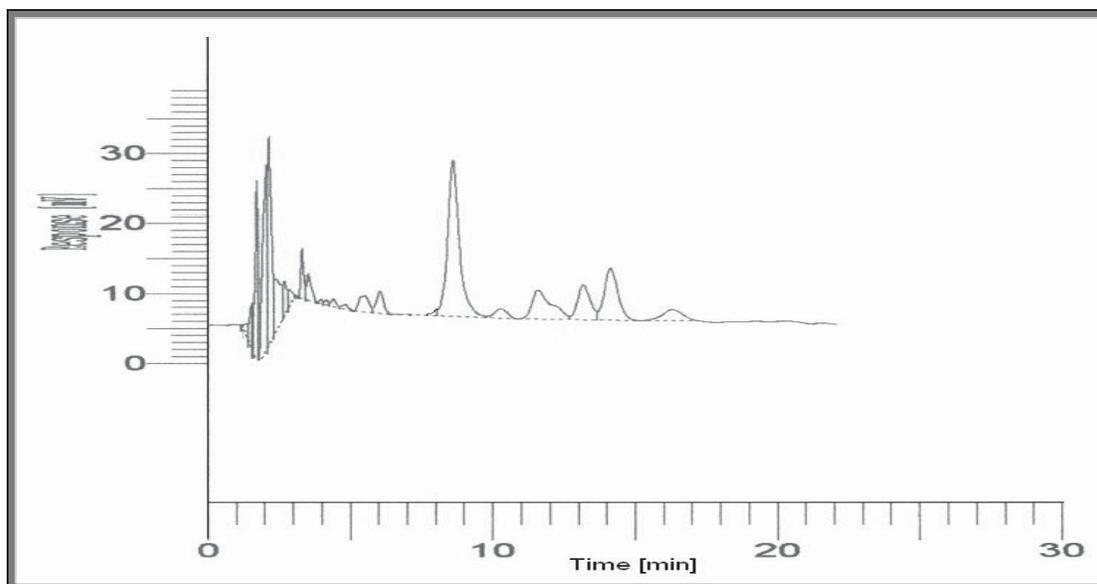


Figura 17. Inyección de una mezcla de cloro de 1 ppm disuelto en un buffer de ácido acético-acetato (pH 4.76), 3-CF (50 ppb), tiempo de contacto:3h, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min. Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

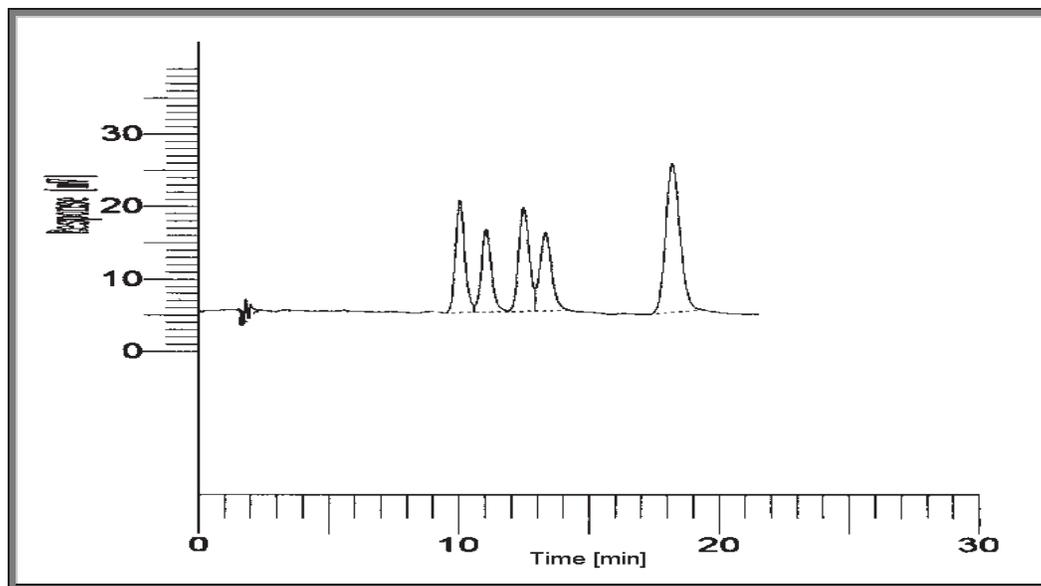


Figura 18. Estándar de la mezcla de diclorofenoles

Inyección de una mezcla de 10ppm de diclorofenoles, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min.

Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

Las concentraciones calculadas son:

Compuesto	Concentración (ppb)
2,3-DCF	2.4
2,5-DCF	3.10
3,4-DCF	5.86

En la siguiente gráfica se puede apreciar la variación de las concentraciones de los productos formados a los diferentes tiempos de contacto para una misma concentración de cloro a pH 4.76.

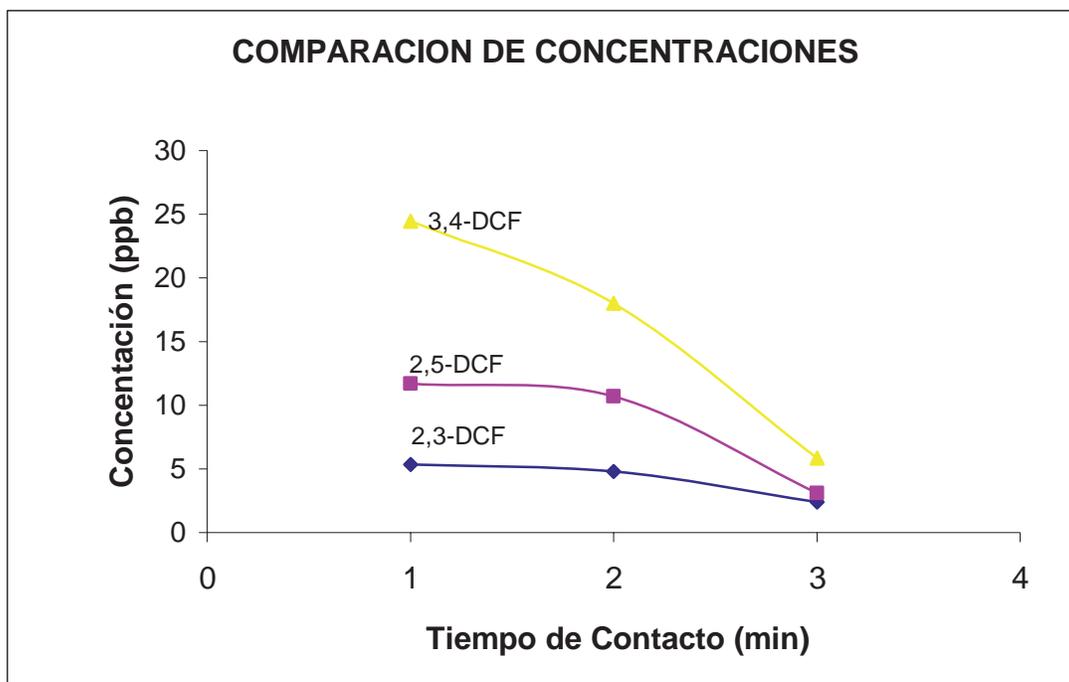


Figura 19. Gráfica de concentración de producto formado.

A pH 4.76 el cloro se encuentra en forma de HClO , a menor concentración del cloro se forman concentraciones significativas de los compuestos 2,3-DCF, 2,5-DCF y 3,4-DCF. La concentración del 2,5-DCF está por encima de la máxima permisible para la protección de la salud humana para los tiempos de 1h y 2h.

A medida que transcurre el tiempo estos compuestos se van transformando quizá en otros más clorados por lo que se observa una disminución en sus concentraciones.

3) CONCENTRACION DE CLORO 1 ppm, PARA DIFERENTE pH

a) Relación cloro-3-clorofenol (20:1)

Sin amortiguar

Tiempo de contacto 1h

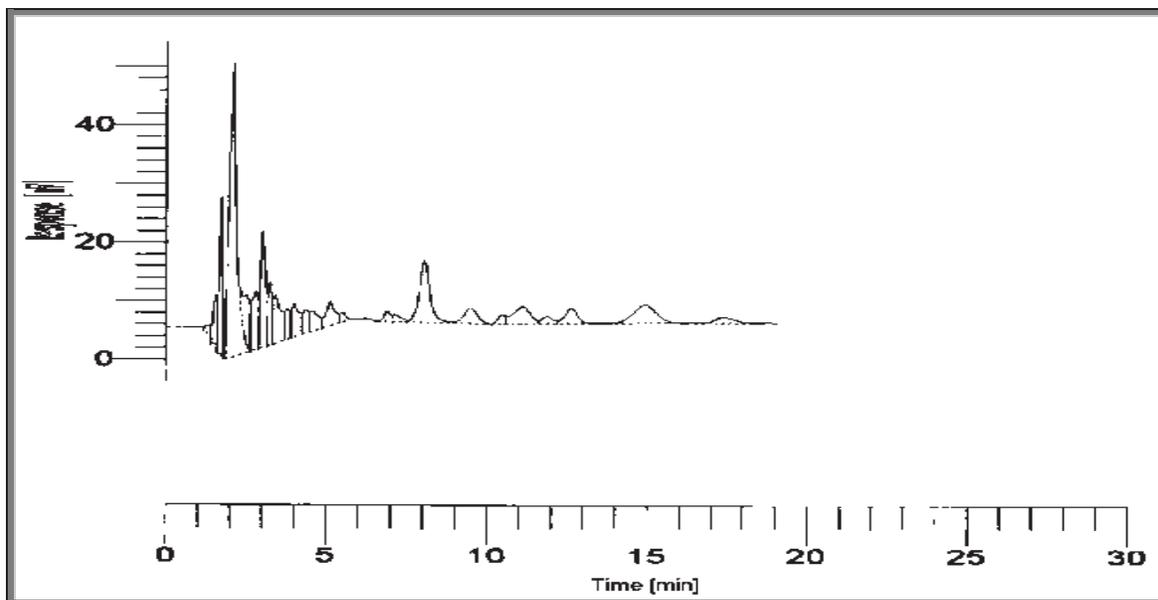


Figura 20. Inyección de una mezcla de cloro de 1 ppm, sin amortiguar (pH 6.34), 3-CF (50 ppb), tiempo de contacto: 1h, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min.

Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

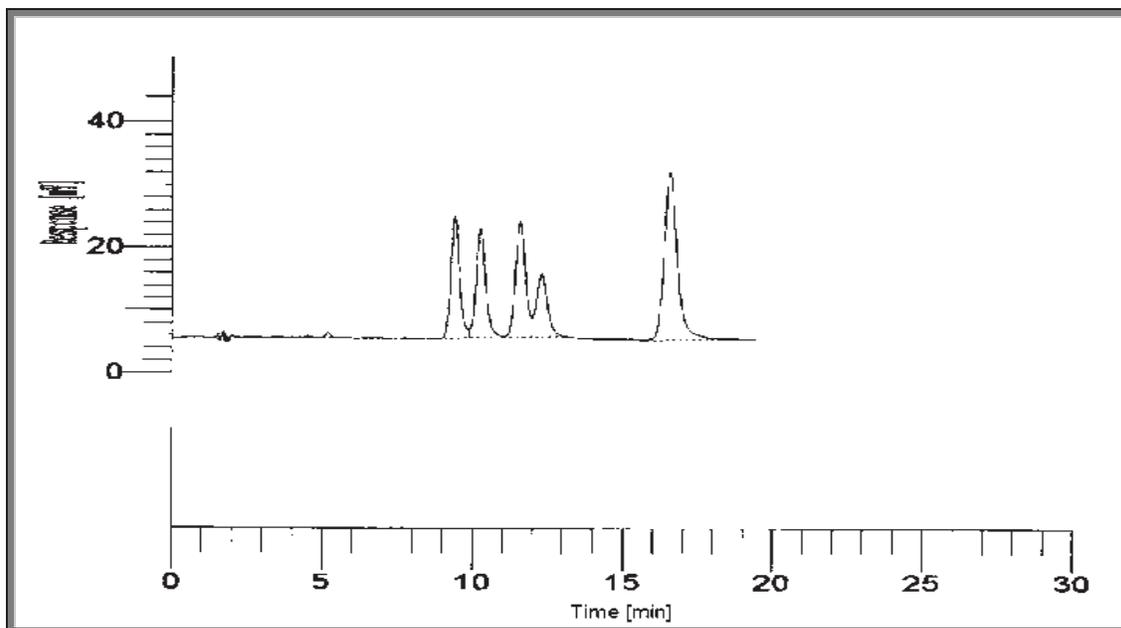


Figura 21. Estándar de la mezcla de diclorofenoles

Inyección de una mezcla de 10ppm de diclorofenoles, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Agua (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min.

Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

Los picos de los compuestos formados son muy pequeños y podrían corresponder a los compuestos 2,3-DCF, 2,5-DCF y 3,4-DCF siendo sus concentraciones muy pequeñas. A este pH, el cloro libre disponible se encuentra como HClO (en mayor proporción) y ClO⁻.

Compuesto	Concentración (ppb)
2,3-DCF	0.5682
2,5-DCF	0.62
3,4-DCF	2.35

b) Relación cloro-3-Clorofenol (20:1)
pH 7
Tiempo de contacto 1h

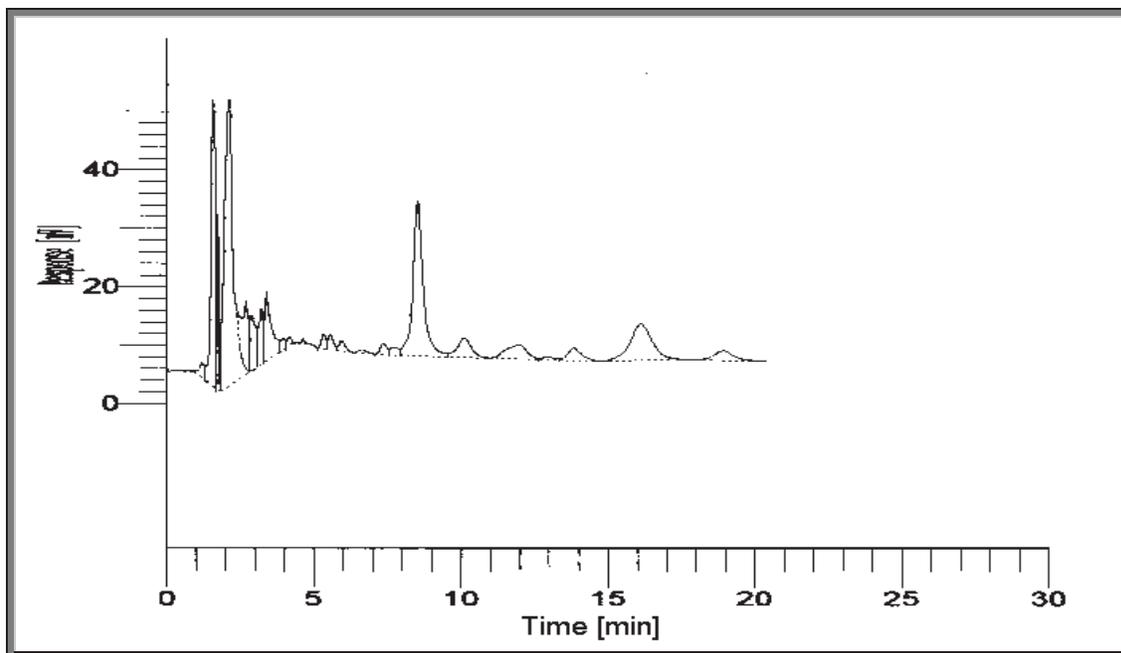


Figura 22. Inyección de una mezcla de cloro de 1 ppm disuelto en un buffer de fosfatos (pH 7), 3-CF (50 ppb), tiempo de contacto: 1h, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min. Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

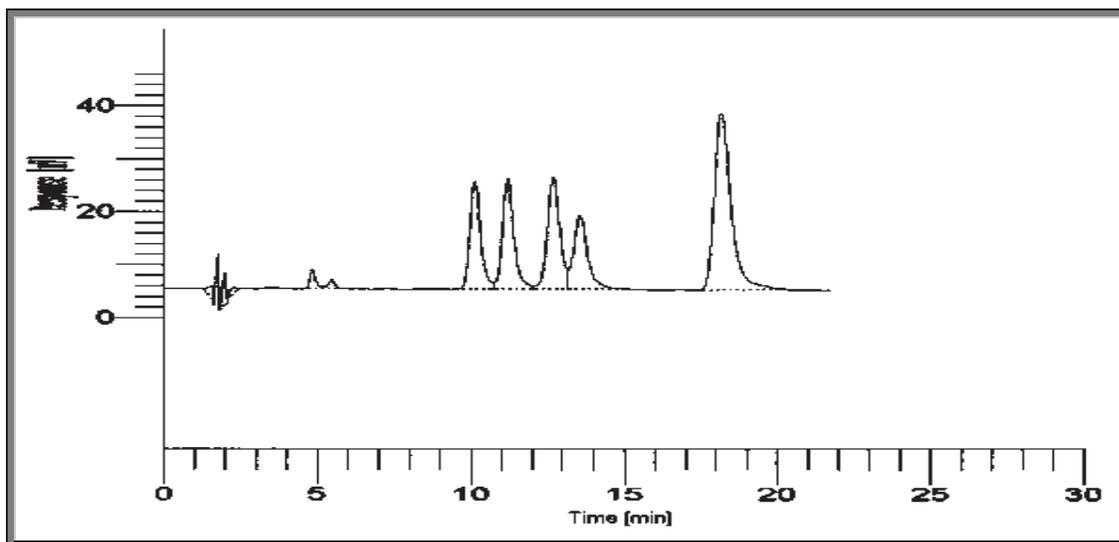


Figura 23. Estándar de la mezcla de diclorofenoles

Inyección de una mezcla de 10ppm de diclorofenoles, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min.

Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

Las concentraciones de los productos que se forman bajo estas condiciones son muy pequeñas, como puede observarse en el cromatograma de la Figura 22 los picos de estos compuestos son poco apreciables.

A este pH el cloro se encuentra como HClO y ClO⁻

- c) Relación cloro-3-Clorofenol (20:1)
pH 9
Tiempo de contacto 1h

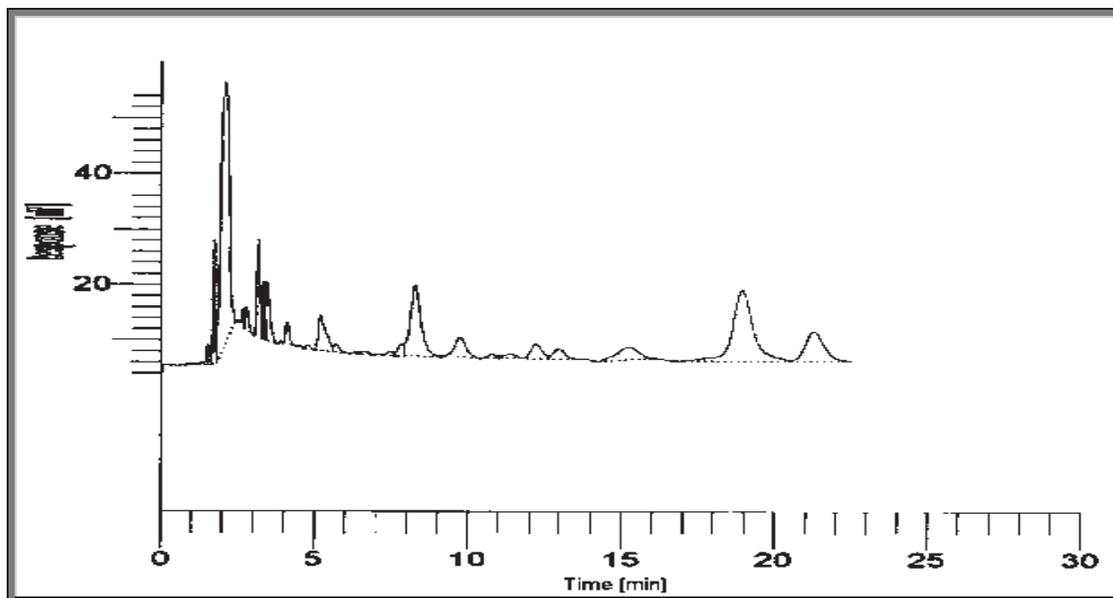


Figura 24. Inyección de una mezcla de cloro de 1 ppm disuelto en un buffer de boratos (pH 9), 3-CF (50 ppb), tiempo de contacto 1h, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 3.5) 15-10-75 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Fase Acuosa (pH 3.5) 75:25 v/v conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Flujo: 1 ml/min.
Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

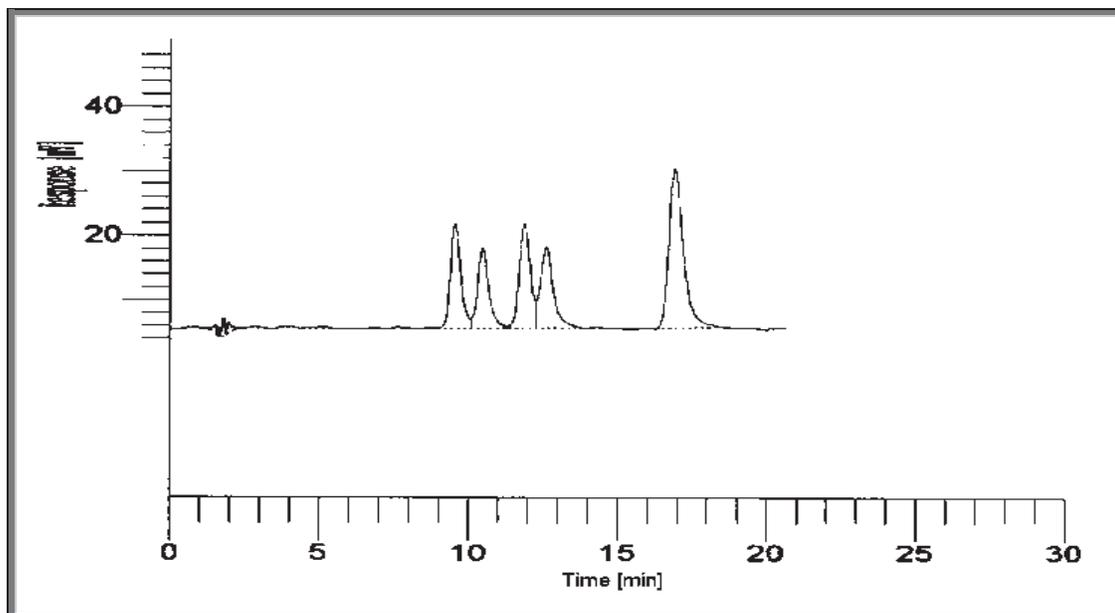


Figura 25. Estándar de la mezcla de diclorofenoles

Inyección de una mezcla de 10ppm de diclorofenoles, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución en gradiente, Fase A: ACN-MeOH-Agua (pH 3.5) 15-10-75 V/V conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Fase B: ACN-Agua (pH 3.5) 75:25 V/V conteniendo HCOOH-HCOONa 0.02M, Detector UV; $\lambda = 280\text{nm}$, $S=0.01\text{AUFS}$, $\tau = 0.5\text{s}$.

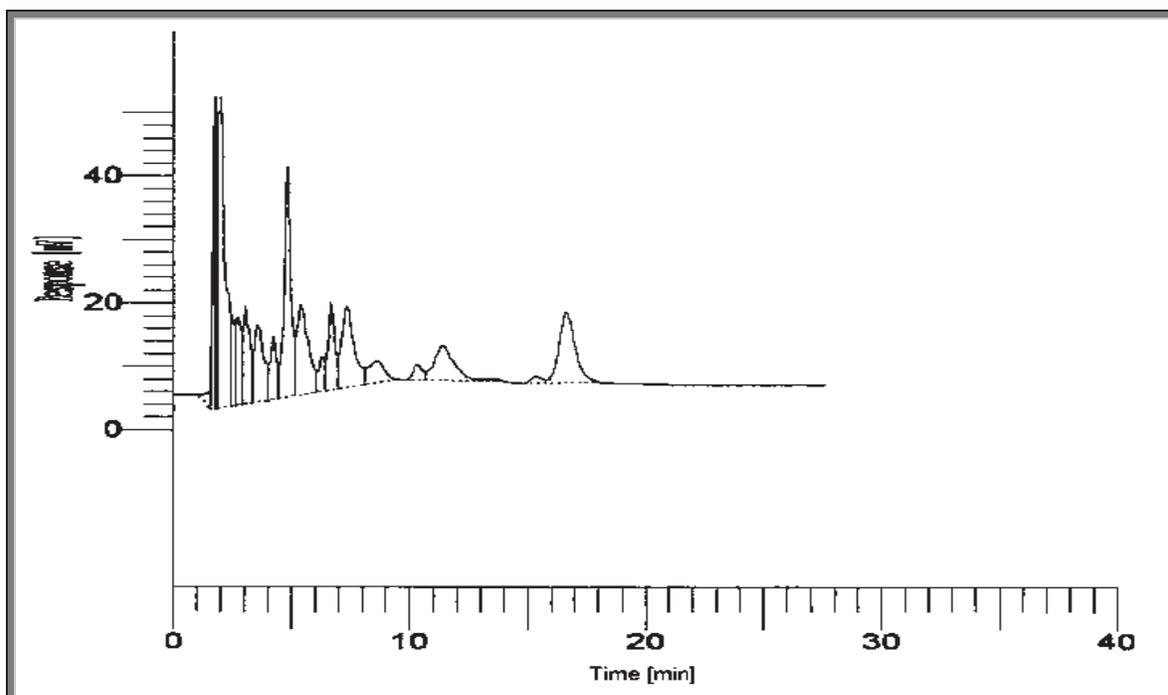
No se forman concentraciones apreciables de diclorofenoles, a este pH el cloro se encuentra como ClO^- .

4) CONCENTRACION DE CLORO 1 ppm, EN FASE ACUOSA (pH 4.3)

a) Relacion cloro-3-Clorofenol (20:1)

pH 7

Tiempo de contacto 1h



Figur 26. Inyección de una mezcla de cloro de 1 ppm disuelto en un buffer de fostatos (pH 7), 3-CF (50 ppb), tiempo de contacto: 1h, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución isocrática, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 4.3) 29-28-43 v/v, Flujo: 1 ml/min. Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01AUFS, $\tau = 0.5$ s.

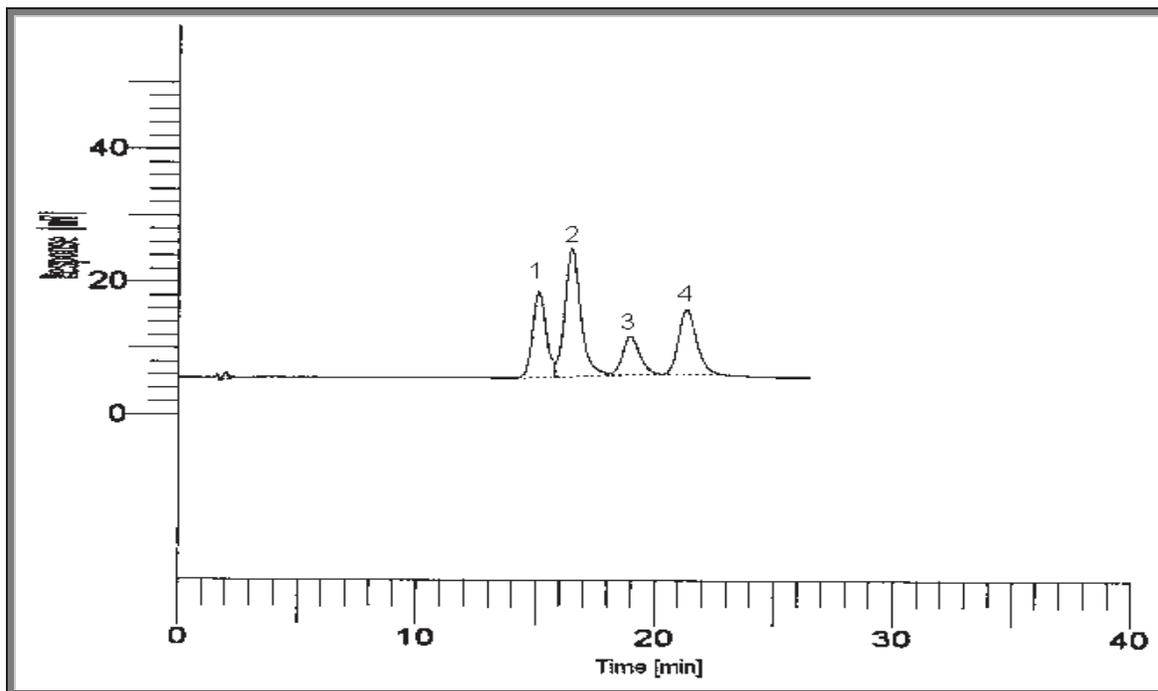


Figura 27. Estándar de Tetraclorofenoles

Inyección de una mezcla de 10 ppm de tetraclorofenoles, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución isocrática, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 4.3) 29-28-43 v/v, Flujo: 1 ml/min.

Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

El orden de elución es: 1) 2,3,4,5-Tetraclorofenol, 2) 2,3,4,6-Tetraclorofenol, 3) Pentaclorofenol y 4) 2,3,5,6-Tetraclorofenol [9].

La CLAR permite caracterizar y cuantificar el 2,3,4,6-Tetraclorofenol. A este pH el cloro se encuentra como cloro libre disponible (HClO y ClO⁻). La concentración de este compuesto es 5.34.

A este pH los Diclorofenoles se transforman en compuestos más clorados que podrían ser Triclorofenoles y el 2,3,4,6-Tetraclorofenol.

Compuesto	Concentración (ppb)
2,3,4,6-TETRACLOROFENOL	5.34

b) Relación cloro-3-Clorofenol (20:1)

pH 7

Tiempo de contacto 2 h

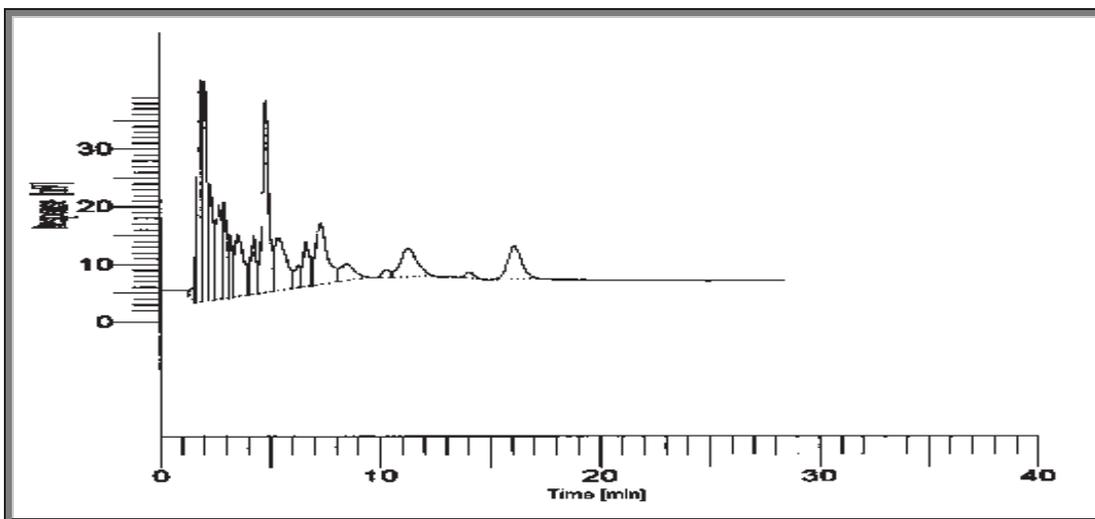


Figura 28. Inyección de una mezcla de cloro de 1 ppm disuelto en un buffer de fosfatos (pH 7), 3-CF (50 ppb), tiempo de contacto: 2h, precolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución isocrática, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 4.3) 29-28-43 v/v, Flujo: 1 ml/min. Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

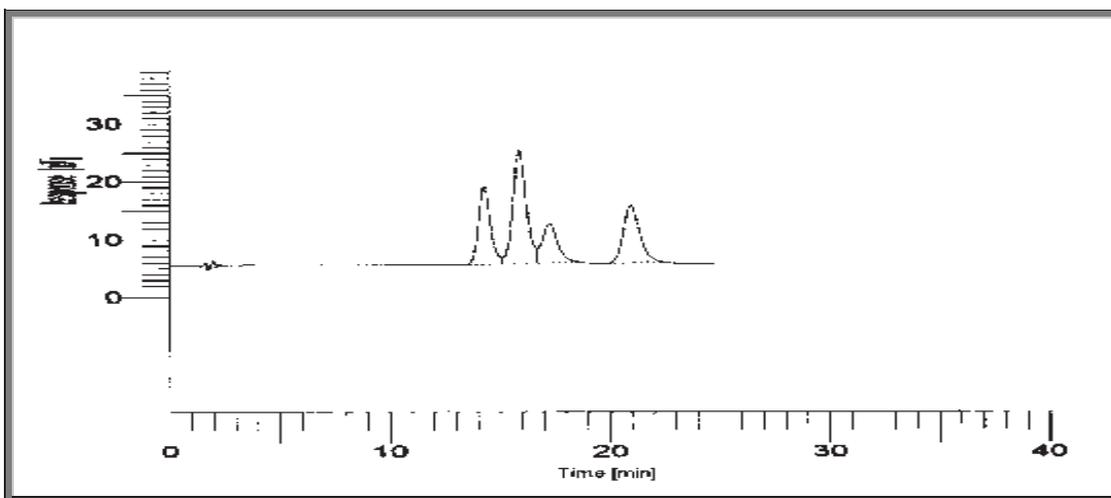


Figura 29. Estándar de Tetraclorofenoles

Inyección de una mezcla de 10ppm de tetraclorofenoles, recolumna polimérica (20x2 mm D.I.) en línea con columna analítica (150x4.6mm D.I.) empacada con Hypersil de 5 μ m, elución isocrática, Fase A: ACN-MeOH-Fase Acuosa (pH 4.3) 29-28-43 v/v, Flujo: 1 ml/min.

Detector UV; $\lambda = 280$ nm, S = 0.01 AUFS, $\tau = 0.5$ s.

A este pH el cloro se encuentra como cloro libre disponible (HClO y ClO^-). La concentración de este compuesto es 2.67.

A estas condiciones los Diclorofenoles se transforman en compuestos más clorados que podrían ser Triclorofenoles y el 2,3,4,6-Tetraclorofenol.

Compuesto	Concentración (ppb)
2,3,4,6-TETRACLOROFENOL	2.67

A pH 7 se observa la formación del 2,3,4,6- Tetraclorofenol, la cual va disminuyendo al aumentar el tiempo de contacto.

V.- CONCLUSIONES

1) La separación en un tiempo corto de la mezcla de Diclorofenoles constituida por isómeros de posición cuyas propiedades químicas son semejantes requiere de la mezcla de dos disolventes orgánicos (Acetonitrilo-Metanol), un buffer de pH 3.5; además de un gradiente de disolventes.

2) En medio moderadamente ácido (pH 4.76) a mayor concentración de cloro, la reacción de cloración del 3-Clorofenol conlleva a la formación de los componentes diclorados 2,5-Diclorofenol y 3,4-Diclorofenol. La concentración del 2,5-Diclorofenol se encuentra por encima de la establecida por la USEPA.

La concentración del 2,5-Diclorofenol va disminuyendo al incrementarse el tiempo de contacto.

3) A menor concentración de cloro en medio moderadamente ácido, la reacción de cloración del 3-Clorofenol produce los compuestos 2,3-Diclorofenol, 2,5-Diclorofenol y 3,4-Diclorofenol cuyas concentraciones van disminuyendo a medida que aumenta el tiempo de contacto. La concentración del 2,5-Diclorofenol es mayor que la establecida por la USEPA.

4) La reacción de cloración del 3-Clorofenol a pH 7 conlleva a la formación de los compuestos más clorados 2,3,4,6-Tetraclorofenol. Quizá en el intervalo de pH (6.34-9); la reacción de cloración del 3-Clorofenol se dirige hacia la formación de los compuestos clorados (Triclorofenoles y Tetraclorofenoles).

VI.- GLOSARIO

ANALITO. Especie química que se cuantifica en una determinación analítica.

ALTURA DEL PICO. La medida de la distancia en un cromatograma desde la línea base hasta el punto más alto del pico.

ANCHO DE PICO. El pico se mide con frecuencia en la intensidad, que es equivalente a 0.5 del pico máximo. Se expresa generalmente en min o segundos.

AUFS. Unidades de absorbancia de escala completa (se refiere a la desviación a gama completa de un metro o de una pluma en un registrador de carta; utilizado conjuntamente con un detector de la absorbancia.).

ÁREA DEL PICO. Es el área debajo de la línea trazada y sobre la línea base. El área máxima es proporcional a la cantidad de material en la muestra. Para un pico electroquímicamente generado, el área se puede relacionar con la carga de reacción la cual se relaciona con la cantidad de analito.

CAÍDA DE PRESIÓN. Depende de la viscosidad de la fase móvil, de la longitud de la columna, de la velocidad y de la resistencia específica de la columna y es inversa al diámetro de la partícula.

CROMATOGRAMA. Es un registro de una separación la cual indica la respuesta del detector como una función del tiempo. El cromatograma indica la elusión de las especies electroactivas de la columna

EFICIENCIA (CROMATOGRÁFICA). Es una medida de la eficiencia de la columna para una separación dada. La eficiencia es medida por el número de platos teóricos en la columna.

EFICIENCIA (DETECTOR). Es la razón de la cantidad de analito actualmente detectada a la cantidad total de analito que pasa a través de la celda.

FACTOR DE CAPACIDAD (k'). Relaciona la cantidad del soluto en las dos fases.

FACTOR DE RESPUESTA. La cantidad de compuesto que fue inyectada dividida por el área del pico.

FACTOR DE SELECTIVIDAD (α).- Expresa la diferencia en los equilibrios de distribución entre dos solutos, $\alpha = \kappa'_2 / \kappa'_1$ y depende de la afinidad del soluto respecto de la fase móvil y de la columna. Si $\alpha = 1$ no existe separación

FASE MÓVIL. Esta formada por disolventes de viscosidad baja, con baja absortividad.

FASE ESTACIONARIA. Es el empaque de la columna; las hay de compuestos hidratados de sílica, de partículas de alúmina, de polímeros de silanos combinados con cadenas de C₈, C₁₀ y C₁₈, etc. El tamaño de la partícula es su diámetro que puede ser de 3, 5 o 10µm. Las partículas mas finas generalmente se utilizan en las columnas mas cortas y se necesitan presiones más altas para mover la fase móvil a través de la columna. El tamaño optimo de partícula esta en razón de la longitud de la columna, el numero de platos, de la presión, de la viscosidad del eluyente y de la velocidad a la que se trabaja.

FLUJO (F). Velocidad a la que se mueve la fase móvil en el sistema. Es un valor que generalmente permanece constante a lo largo de una determinación y está en razón de la viscosidad del disolvente.

INTEGRADOR. Es un equipo el cual puede calcular el área y la altura del pico cromatográfico, es usado para análisis cuantitativo

NUMERO DE PLATOS (N). Es una contribución cinética y corresponde a la medida como está empacada la columna. A mayor número de platos mayor es la eficiencia

PICO. Es una indicación en la salida cromatográfica en la cual en detector electroquímico ha observado la presencia de un compuesto electroactivo en la fase móvil. La respuesta será sobre la línea base. Un pico tiene la forma de una curva de Gauss

RESOLUCIÓN. Es la separación de dos picos en el cromatograma.

TIEMPO MUERTO (To). Es el tiempo que tarda en salir una sustancia no retenida.

TIEMPO DE RETENCION (Tr). Es el tiempo transcurrido desde la introducción de la muestra hasta que el detector registra el máximo del pico. Es característico de un soluto dado siempre y cuando se conserven las mismas condiciones de operación.

VELOCIDAD DE FLUJO. Velocidad a la cual la fase móvil es bombeada a través de la columna (usualmente esta dada en ml/min).

VISCOSIDAD. Propiedad de un líquido de deslizarse en relación a otro.

VII.- APÉNDICES

APÉNDICE A.

ECUACIONES UTILIZADAS PARA EL CÁLCULO DE LA REPETIBILIDAD DE LA SEPARACION.

Media:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N} \quad \text{ECUACIÓN A}$$

Donde :

N = Numero de datos

x_i = Valor numérico de la i-ésima medida.

\bar{x} = Media de las N medidas

Desviación Estandar Absoluta:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N-1}} \quad \text{ECUACIÓN B}$$

El intervalo de confianza (IC) para el Tr se calcula mediante la siguiente expresión:

$$\bar{x} - t_{\frac{\alpha}{2}} \left(\frac{S}{\sqrt{n}} \right) \leq Tr \leq \bar{x} + t_{\frac{\alpha}{2}} \left(\frac{S}{\sqrt{n}} \right) \quad \text{ECUACIÓN C}$$

Donde: $t_{\frac{\alpha}{2}(n-1)} = t_{\frac{\alpha}{2}(5g,l)} = 2.57 [1]$

APÉNDICE B.

ECUACIONES UTILIZADAS PARA EL CÁLCULO DE LA EFICIENCIA DE LA COLUMNA.

$$\rightarrow W_{1/2} = \frac{\left[\frac{A}{h} * 0.9392 \right]}{60} \quad \text{ECUACIÓN D}$$

Donde:

$W_{1/2}$ = Ancho del pico a la mitad de su altura (min).

A = Area del pico ($\mu\text{V}\cdot\text{s}$)

h = Altura del pico (μV)

$$\rightarrow N = 5.455 \left(\frac{Tr}{W_{1/2}} \right)^2 \quad \text{ECUACIÓN E}$$

Donde:

N = Numero de platos teoricos en (μm).

Tr = Tiempo de retencion del soluto (min)

$$\rightarrow H = \frac{L}{N} \quad \text{ECUACIÓN F}$$

Donde:

H = Altura del plato (μm).

L = Longitud de la columna = 150,000 (μm).

$$\rightarrow k' = \frac{Tr - To}{To} \quad \text{ECUACIÓN G}$$

Donde:

To = El tiempo muerto, se determinó con NaCl, a $F = 1\text{ml}/\text{min}$ y la fase móvil preparada correspondiendo $To = 2.35\text{min}$.

APÉNDICE C.

ECUACIONES UTILIZADAS EN EL CÁLCULO DE LA CONCENTRACION DE PRODUCTO FORMADO.

$$\rightarrow Cd = \frac{Am \cdot Cst \cdot Viny}{Ast \cdot Vm \cdot b} \quad \text{ECUACIÓN H}$$

Donde:

Cd = Concentración determinada para el compuesto fenólico.

Am = Área del pico del analito en el cromatograma de la muestra.

Ast = Área del pico del analito en el cromatograma del estándar.

b = Factor correctivo que toma en cuenta la recuperación promedio del compuesto; este factor corresponde a la pendiente de las rectas de “Cantidad Recuperada Vs Cantidad Analizada”.

Cst = Concentración del analito en el estándar inyectado.

Viny = Volumen inyectado del estándar (volumen rizo del inyector).

Vm = Volumen de la muestra fortificada que fue cargado en el precolumna de EFS.

Unidades de los parámetros:

Cd = [ppb]

Am = [μ V].

Ast = [μ V].

Cst = 10000 ppb (μ g/L).

Viny = 20 μ L = 2x10⁻⁵L.

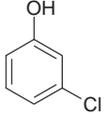
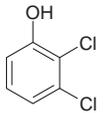
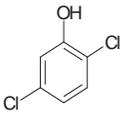
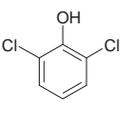
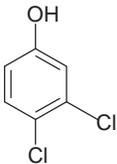
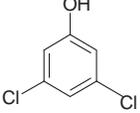
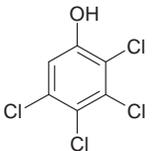
Vm = 25ml = 0.025L.

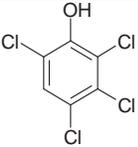
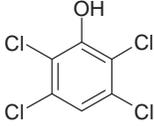
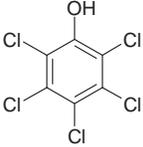
b = Este valor depende del compuesto para el cual se este determinando su concentración y representa el % de recuperación o de recobro de cada analito.

ANALITO	VALOR DE LA PENDIENTE (b)
2,6-DCF	0.969
2,3-DCF	0.990
2,5-DCF	0.987
3,4-DCF	0.995
3,5-DCF	0.948
2,3,4,5-TETRACF	0.878
2,3,4,6-TETRACF	0.886
PCF	0.894
2,3,5,6-TETRACF	0.859

APÉNDICE D.

ALGUNAS PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL FENOL Y CLOROFENOLES.

COMPUESTO	ESTRUCTURA QUÍMICA	P.F. (°C)	P.E. (°C)	SOLUBILIDAD	pKa
FENOL		43	181	Soluble en agua (9.3g/100gH ₂ O) y Metanol	9.89
3-CLOROFENOL		32	214	Soluble en Etanol y Eter (>200g/100g) y Metanol	8.85
2,3-DICLOROFENOL		57-58	206	Soluble en Metanol	6.44
2,5-DICLOROFENOL		57	211	Soluble en Etanol, Metanol, Dietil eter y Benceno	6.34
2,6-DICLOROFENOL		68-69	218-220	Soluble en Etanol, Metanol, Dietil eter y Benceno	6.79
3,4-DICLOROFENOL		66-68	254	Soluble en Benceno, Etanol, Metanol, Dietil eter y Eter de Petroleo.	7.38
3,5-DICLOROFENOL		67-68	233	Soluble en Etanol, Metanol, Dietil Eter y Benceno.	6.92
2,3,4,5-TETRA CLOROFENOL		116-118	----	Soluble en Metanol y Acetonitrilo	6.95

2,3,4,6-TETRA CLOROFENOL		70	285	Soluble en Metanol (319g/100g), Acetona (570g/100g) y Tolueno (175g/100g)	5.37
2,3,5,6-TETRA CLOROFENOL		114- 116	----	Soluble en Metanol	5.48
PENTACLOROFENOL		190- 191	309- 310	Soluble en Acetona (53g/100g), Dietil Eter (158g/100g), Etanol (143g/100g), Metanol (202g/100g) y Tolueno (16g/100g)	4.92

VIII.- BIBLIOGRAFÍA.

- [1].- Estadística para Química Analítica. J.C. Miller, J.N.Miller, Segunda edición, Editorial Addison-Wesley Iberoamericana. (1993)
- [2].- Introducción a la cromatografía de líquidos de alta resolución. Universidad Autónoma Metropolitana. M.C. María Guadalupe Prado Flores, M.C. María del Rosario Cobarrubias Herrera. Primera edición (1996)
- [3].- Calidad del Agua. Jairo Alberto Romero Rojas, Segunda edición, Editorial Escuela Colombiana de Ingeniería (1999)
- [4].- Química del Agua. V.L. Snoeyink y D. Jenkins, Primera edición, Editorial Limusa (1987)
- [5].- Principios de Analisis Instrumental. Douglas Skoog-James Holler y Timothy Nieman, Quinta edición, Editorial Mc. Graw Hill (2001)
- [6].- Introduction to Modern Liquid Chromatography. L.R. Snyder y J.J. Kirkland, Segunda edición, New York Wiley (1979)
- [7].- Langers Handbook of Chemistry. John A. Dean, Thirteenth edition (1985)
- [8].- Water Supply. M.T.Galceran and F.J. Santos, 7 (1989) 69-75
- [9].- Separación de una mezcla de Diclorofenoles, Triclorofenoles, Tetraclorofenoles y Pentaclorofenol por Cromatografía en Fase Reversa. Tesis de Licenciatura, Isis Pérez Mendoza, Marco Favio Mejía Torres. Fac. Ing. Química, U.M.S.N.H. 2002
- [10].- Carron J.M. and Afghan B.K. Anal.Trace Org.Aquat, Environ (1989)
- [11].- Journal of Chromatography. Jeffrey J. Sun and James S. Fritz, 590(1992) 197-202
- [12].- P. Subra, M.C. Hennion, R. Rosset and R.W. Frei. Intern. J. Environ and Chem 37(1989) 45-62
- [13].- <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/127ssa14.zip>.
- [14].- <http://www.epa.gov/openfead1/safety/spanish/healthcare/handbook/sch10.pdf>
- [15].- <http://www.camindustriales.org.ec/paginas/promocion/biblioteca/legislacion%20secundaria/tulas/librovianexo1.doc>.