

PROYECTO “MÉTODOS ANÁLITICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA” CLAVE: TC1402.1 Informe final

COORDINACIÓN: TRATAMIENTO Y CALIDAD DEL AGUA
SUBCOORDINACIÓN: CALIDAD DEL AGUA

MANUEL SÁNCHEZ ZARZA
MARTHA AVILÉS FLORES
MINERVA SÁNCHEZ GUZMÁN
NORMA RAMÍREZ SALINAS

México, 2014

 SEMARNAT <small>SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES</small>	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 IMTA <small>INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA</small>
Página 1 de 62	México, 2014	Clave: F.C0.2.04.01

INDICE

1. Índice	1
2. Resumen ejecutivo.....	2
3. Objetivos.....	3
4. Antecedentes	4
4.1 Antecedentes de la evaluación de la correlación entre los parámetros de color verdadero, absorbancia en el rango de UV, COT y compuestos orgánicos con muestras sintéticas.....	32
5. Metodología de la implementación de quince fármacos en agua por cromatografía de líquidos masas	7
5.1 Metodología de la evaluación de la correlación entre los parámetros de color verdadero, absorbancia en el rango de UV, COT y compuestos orgánicos con muestras sintéticas.....	32
6.Resultados de la implementación de quince fármacos en agua por cromatografía de líquidos masas masas.....	12
6.1 Resultados de la evaluación de la correlación entre los parámetros de color verdadero, absorbancia en el rango de UV, COT y compuestos orgánicos con muestras sintéticas..	52
7.Conclusiones de la implementación de quince fármacos en agua por cromatografía de líquidos masas masas.....	31
7.1 Conclusiones de la evaluación de la correlación entre los parámetros de color verdadero, absorbancia en el rango de UV, COT y compuestos orgánicos con muestras sintéticas.....	58
8. Bibliografía.....	61

 	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 IMTA <small>INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA</small>
Página 2 de 62	México, 2014	Clave: F.C0.2.04.01

2. RESUMEN EJECUTIVO.

La actividad que diariamente desarrollamos como sociedad implica que generamos alteraciones sobre nuestro entorno y el medio ambiente. Así, actividades tan comunes como la higiene personal o el cuidado de la salud pueden generar serios problemas en el ecosistema, dado que incorporamos a éste una serie de sustancias de diferente origen y naturaleza química, de los cuales se sabe relativamente poco respecto de su impacto en los distintos compartimentos ambientales y en el ser humano, sustancias que los investigadores han dado en denominar contaminantes emergentes.

Dentro de estos contaminantes están los productos farmacéuticos (antibióticos, antidepresivos, hormonas, etc.) y sus subproductos (metabolitos), un tema interesante de estudiar considerando que, a nivel internacional, las investigaciones en este campo se vienen desarrollando hace ya 20 años; y si bien no se trata de compuestos persistentes, su constante utilización y vertimiento los hacen estar presentes en nuestro entorno. La principal fuente de ingreso al ecosistema de este tipo de compuestos son las descargas de aguas servidas no tratadas y los efluentes de las plantas de tratamiento de esta agua; y en lo que respecta a la presencia de productos y subproductos farmacéuticos en agua para consumo humano, existe ciertamente un riesgo menor para la población, que debe ser estudiado. Actualmente las plantas de tratamiento, ya sea de agua para consumo humano como las de aguas servidas, no están diseñadas para tratar y eliminar productos y subproductos farmacéuticos, por lo que conocer de su presencia en nuestro entorno es fundamental.

  <p>SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES</p>	<p>MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA</p>	 <p>IMTA INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA</p>
<p>Página 3 de 62</p>	<p>México, 2014</p>	<p>Clave: F.C0.2.04.01</p>

3. OBJETIVOS DEL PROYECTO.

3.1 Desarrollo e implementación de metodologías para la identificación y cuantificación de compuestos emergentes en aguas subterráneas y superficiales.

3.2 Evaluación de la correlación entre los parámetros de color verdadero, absorbancia en el rango de UV, COT y compuestos orgánicos con muestras sintéticas.

3.3 Publicar un artículo de divulgación.

  SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 IMTA INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA
Página 4 de 62	México, 2014	Clave: F.C0.2.04.01

4. ANTECEDENTES GENERALES

Diariamente la actividad humana crea alteraciones sobre su entorno, es así como actividades tan comunes como la higiene personal o el cuidado de la salud pueden generar serios problemas en el ecosistema. En la actualidad para muchos investigadores los contaminantes más problemáticos son los llamados contaminantes emergentes, que son compuestos de diferente origen y naturaleza química, compuestos de los cuales se sabe relativamente poco respecto de su presencia e impacto de los distintos compartimientos ambientales y en el humano, por lo que se requiere del desarrollo de investigación respecto de los mismos (Barceló, D. et. al. 2008). Una amplia gama de sustancias, entre las que se mencionan los productos farmacéuticos y sus derivados, esteroides y hormonas, productos de cuidado personal, aditivos y agentes industriales, entre otros son los que se consideran contaminantes emergentes (Barceló, D.n 2003). En el caso particular de los productos farmacéuticos y sus subproductos (metabolitos), se puede hablar claramente que se trata de contaminantes emergentes, que no se encuentran regulados por ningún tipo de normativa, y cuyos efectos sobre el medio ambiente en general (seres humanos y biota) no son todavía suficientemente conocidos. Conocer su posible impacto es un tema que se ha venido desarrollando fuertemente, a partir de la década de los 90's. Por sus características intrínsecas, los productos farmacéuticos son sustancias altamente solubles en agua, que se liberan a medio ambiente vía excreción, ya sea metabolizados o no metabolizados, por vertido de los productos no utilizados o caducos, o bien procedentes como residuos de los procesos de producción, por lo que pueden estar presentes en todas las etapas de un ciclo de vida del agua puntual y referido a su uso. Si bien no se trata de compuestos persistentes, éstos si son constantemente utilizados y vertidos, y, los sistemas de tratamiento convencionales de agua potable y de aguas residuales muchas veces no son capaces de eliminarlos, su concentración aumenta en el ecosistema, por lo que se requiere de nuevos y más sensibles métodos de análisis para su detección y cuantificación, razón por la cual en el laboratorio de Calidad del Agua se desarrollan e implementan metodologías de análisis para la identificación y cuantificación de éstos compuestos a nivel de nano gramos por litro.

De todos los contaminantes emergentes, los que probablemente suscitan mayor preocupación y estudio en los últimos años son los fármacos y, en particular, los antibióticos. El consumo de fármacos en los países de la UE se cifra en toneladas por año, y muchos de los más usados, entre ellos los antibióticos, se emplean en cantidades similares a las de los pesticidas (Jones OA et al., 2001).

Las primeras evidencias de la presencia de fármacos en el medio acuático se produjeron en los años 70 con la identificación en aguas residuales en EEUU del ácido clofíbrico, que es el metabolito activo de varios reguladores de lípidos en sangre (clofibrato, etofilin

 SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA
Página 5 de 62	México, 2014	Clave: F.C0.2.04.01

clofibrato, y etofibrato). Sin embargo, no ha sido hasta principios de la década de los 90 que el tema de los fármacos en el medio ambiente ha surgido con fuerza, como demuestran los numerosos artículos publicados desde entonces, los cuales han despertando un gran interés científico y social (tal y como ocurrió en España tras la publicación en la prensa de algunos de los resultados obtenidos por el equipo de investigación del Dr. Barceló: El Periódico, 26 Octubre 2005; El País, 17 Enero 2006; El global, 30 Enero 2006).

Entre los fármacos más prescritos en medicina humana destacan los analgésicos/antiinflamatorios como el ibuprofeno y el diclofenaco, los antiepilépticos como la carbamacepina, antibióticos como la amoxicilina y el sulfametoxazol, y los β -bloqueantes como el metoprolol. A éstos cabe añadir los, cada vez más, utilizados en veterinaria, en actividades como la acuicultura, la ganadería, y la avicultura. Según las propiedades físico-químicas de los fármacos y sus metabolitos y productos de degradación, y las características de los suelos, estas sustancias pueden llegar a alcanzar las aguas subterráneas y contaminar los acuíferos o bien quedar retenidas en el suelo y acumularse pudiendo afectar al ecosistema y a los humanos a través de la cadena trófica. En consecuencia, para una evaluación realista del medio acuático es necesario un estudio integrado agua subterránea-suelo/sedimento-agua superficial- suelo. Los fármacos que se han detectado en el medio ambiente acuático, ya sea directamente o sus metabolitos, incluyen analgésicos/antiinflamatorios, antibióticos, antiepilépticos, β -bloqueantes, reguladores de lípidos, medios de contraste en rayos X, anticonceptivos orales, esteroides y otros, como broncodilatadores, tranquilizantes, etc. (Hernando MD et al., 2006a).

Las concentraciones a las que se han encontrado en aguas superficiales (como consecuencia de una eliminación incompleta en las plantas de depuración de aguas) o en aguas subterráneas (debido a la escasa atenuación que experimentan algunos compuestos durante la filtración a través de suelos) se sitúan normalmente en el rango de ng/L o $\mu\text{g/L}$, mientras que en suelos y sedimentos, en donde pueden persistir durante largos periodos de tiempo (la vida media del ácido clofíbrico, por ejemplo, se estima en 21 años), alcanzan concentraciones de hasta g/Kg (Hernando MD et al., 2006a; Díaz-Cruz MS, Barcelo D, 2005). Pero lo que ha despertado una mayor preocupación ha sido el hallazgo de algunos de ellos (como el ibuprofeno, el diclofenaco, la carbamacepina, o el ácido clofíbrico) en aguas potables (Bedner M, Maccrehan WA, 2006).

En muchos casos, las consecuencias de su presencia en el medio ambiente no están aún claras, pero en otros el riesgo parece evidente, y alarmante. Así, por ejemplo, el diclofenaco, aparte de afectar a los riñones en los mamíferos, se ha asociado (como consecuencia de su uso en veterinaria) con la desaparición de los buitres blancos en la India y Pakistán, lo que supone, según el autor de este estudio (Fent K et al., 2006), un desastre ecológico comparable al acontecido en el pasado con el DDT. Otro ejemplo es el del propanolol, que el equipo de investigación del Dr. Barceló ha detectado en múltiples ocasiones en España (Hernando MD et al., 2006b), y que se ha visto tiene

 	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 IMTA <small>INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA</small>
Página 6 de 62	México, 2014	Clave: F.CO.2.04.01

efectos sobre el zooplancton, así como sobre los organismos bentónicos. (Fent K et al., 2006).

Como resultado de las investigaciones llevadas a cabo hasta ahora, algunos fármacos están siendo considerados por la US EPA como posibles candidatos a ser incluidos en la lista de los contaminantes orgánicos prioritarios en el agua potable, como es el caso del diclofenaco (antirreumático), la carbamacepina (antiepiléptico), y el cloranfenicol (antibiótico). En la UE, por el momento, no se han fijado límites máximos en el agua potable, y por tanto, no es necesario el seguimiento de tales compuestos, sin embargo, lo más probable es que en un futuro próximo sean regulados.

Actualmente en Europa hay más de 3000 ingredientes activos permitidos para su uso en el cuidado de la salud. Sin embargo, desde que se detectara el primer residuo de ácido clofíbrico hasta el momento, únicamente unos 100 de ellos han sido alguna vez analizados en diferentes compartimentos medioambientales. La necesidad de seguir trabajando en esta línea de investigación, en la que se debe incluir el estudio de los metabolitos y los productos de transformación (Miao XS et al., 2005; Bedner M, Maccrehan WA, 2006), es, por tanto, evidente.

Por el momento el número de artículos dedicados al análisis de fármacos en aguas es muy superior al del análisis en matrices sólidas (Díaz-Cruz S et al., 2003; Díaz-Cruz MS, Barcelo D, 2005; Hernando MD et al., 2006a). Ello probablemente es debido a la gran complejidad que representa el estudio de tales matrices. Sin embargo, los avances tecnológicos habidos en el campo de la química analítica permiten afrontar hoy por hoy este reto con grandes probabilidades de éxito.

Para el análisis de fármacos se han empleado fundamentalmente la cromatografía de gases y la de líquidos con espectrometría de masas, pero la tendencia es a emplear, tanto en una como en otra, la espectrometría de masas en tándem para poder diferenciar entre posibles isómeros (Díaz-Cruz MS, Barceló D, 2005; Petrovic et al., 2005; Petrovic M, Barceló D, 2006). Los grupos de fármacos que en la actualidad se consideran más peligrosos y demandan investigación son:

- los antibióticos, por la posibilidad de que se desarrollen cepas bacterianas resistentes que hagan que estos compuestos resulten ineficaces para el fin para el que fueron diseñados (Díaz-Cruz S et al., 2003) (los antibióticos ocupan el tercer puesto en volumen de uso de todos los fármacos empleados en medicina humana, y el 70% de los empleados en medicina veterinaria),
- los medios de contraste en rayos X, porque son muy persistentes, no resultan eliminados en las plantas de tratamiento, y alcanzan fácilmente las aguas subterráneas por percolación a través de suelos.
- los citostáticos, porque debido a su gran potencia farmacológica, exhiben con frecuencia propiedades carcinogénicas, mutagénicas o embriogénicas, y, al igual que los anteriores, parecen presentar una nula eliminación en los procesos de depuración, y

 SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA
Página 7 de 62	México, 2014	Clave: F.C0.2.04.01

-los estrógenos, utilizados fundamentalmente como anticonceptivos y para el tratamiento de desórdenes hormonales tan frecuentes como la menopausia, que son los responsables en muchos casos de la aparición de fenómenos de feminización, hermafroditismo, y disminución de la fertilidad.

5. METODOLOGÍA

La metodología consistió en realizar una búsqueda bibliográfica a nivel nacional e internacional de determinación de los compuestos emergentes mencionados en el objetivo del proyecto, por cromatografía de gases y cromatografía de líquidos a nivel nacional e internacional..

El material bibliográfico resultante de la búsqueda se revisó y se seleccionaron las técnicas de cromatografía acopladas con espectrometría de masas triple cuadrupolo, asistidas por extracción en fase sólida. Dentro de la selección de las técnicas se revisó la polaridad de los compuestos a estudiar, así como los derivatizantes, fases móviles, reguladores de pH, tipos de ácidos, disolventes grado masas, cartuchos de extracción en fase sólida, columnas y pre columnas para la determinación de los fármacos en estudio. Además se analizaron las condiciones instrumentales, tiempos de retención de los compuestos emergentes e iones precursores y iones producto en el método de masas sugeridos por la bibliográfica seleccionada.

El Desarrollo e implementación del método. Consistió en:

Preparar soluciones estándar de los compuestos en forma individual en el disolvente afín en este caso metanol a una concentración de 100 nanogramos por mililitro.

Se inyectaron los compuestos en forma independiente, uno por uno en el cromatógrafo de líquidos masas con triple cuadrupolo para confirmar los tiempos de retención así como los iones precursores y los iones producto y posteriormente optimizar las condiciones instrumentales.

Las condiciones instrumentales optimizadas fueron:

Método Cromatográfico para Cromatografo de líquidos masas triple cuadrupolo (LCMS) marca SHIMADZU:

MRM

Interfaz DUIS-ESI

Nebulizador 1.5 l/min

DL Temp 250 °C

Heat Block Temp 400°C

Drying gas Flow 10 min

CID gas 230kPa

Total flow 0.4 mL/min

Temp column 40°C

Gradiente

6 min	0	
16 min		80
16.01 min	100	
18.00min	100	
18.01 min	0	
34.90 min	0	

Fases móviles: Agua + 0.1% ácido fórmico y acetonitrilo + 0.1% ácido fórmico

Columna C18 Luna Phenomenex 3 µm 100^a 150mm X 2 mm

Disolventes: Metanol, Acetonitrilo, Agua grado masas

Ácidos: Ácido Clorhídrico

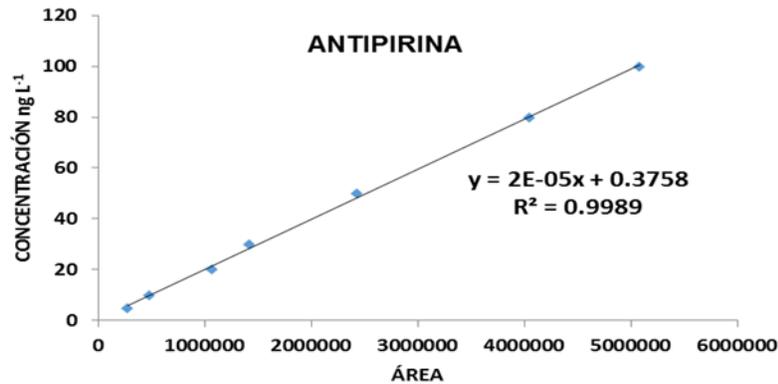
Bases: Hidróxido de sodio.

FARMACOS	ION PRECURSOR (m/z)	ION PRODUCTO 1 (m/z)	ION PRODUCTO 2 (m/z)
4-dimethylaminofenazona	232	58	111
Pindolol	249	116	72
Metoprolol	268	116.10	74
Clenbuterol	277	132	108
Bisoprolol	326.6	115.10	56
Propranolol	260	183.05	116
Betaxolol	308	55.10	56
Antipirina	189	56	77
Sulfametoxazol	254	156	108
Ifosfamida	261	92.05	63.2
Propilfenazona	231	189.10	56.2
Atenolol	267	145.05	190.2
Salbutamol	240	166.10	148
Terbutalin	226	152.1	107
Sotalol	273	213.1	133

Una vez que se han optimizado condiciones instrumentales, se procedió a preparar las curvas de calibración de cada uno de los compuestos emergentes para obtener los parámetros de ordenada al origen, pendiente y coeficiente de correlación satisfactorios. Posterior a esto se prepararon dos curvas más de calibración y se determinó la linealidad.

Aquí sólo se presenta una curva de calibración de uno de los fármacos (antipirina) y la linealidad del método de tres fármacos.

Gráfico de la curva de calibración de antipirina

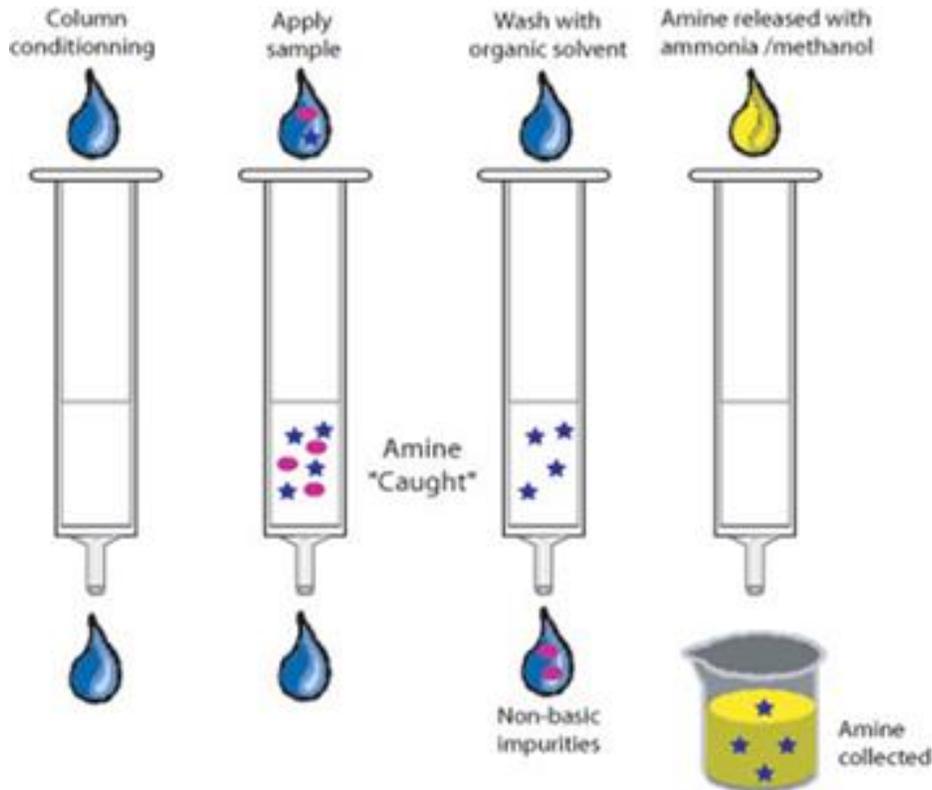


LINEALIDAD MÉTODO

Fármaco	Pendiente	Ordenada al origen	Coefficiente de Correlación	Coefficiente de Determinación
Antipirina	0.975	-0.345	0.995	0.991
Ifosfamida	0.961	-0.565	0.993	0.987
Propilfenazona	0.987	-0.483	0.996	0.993

En paralelo se inició la implementación del método de extracción en fase sólida el cual se describe en forma esquemática en la siguiente figura.

 SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA
Página 10 de 62	México, 2014	Clave: F.C0.2.04.01



El cual consiste en el acondicionamiento del cartucho de extracción, aplicación de la muestra, lavado con disolvente orgánico para eliminar impurezas y por último elución de los compuestos de interés.

Este método es el que lleva mayor tiempo de trabajo en laboratorio ya que se tienen que ver las características de los compuestos en estudio con respecto a la fase sólida, es decir la afinidad de los compuestos, sus constantes de acidez y solubilidad en la columna, así como la solubilidad de los eluatos con diferentes disolventes o mezcla de disolventes /ácidos para llevar cabo la extracción con los óptimos porcentajes de extracción.

Para la obtener el método de extracción en fase sólida se prepararon soluciones de 20 nanogramos por litro de cada uno de los fármacos y se aplicaron a los cartuchos de extracción en fase sólida.

Los cartuchos de extracción en fase sólida empleados para la implementación del método para la extracción de los 16 fármacos fueron cuatro:

OASIS MCX 60 mg, OASIS HLB 200mg, OASIS HLB 60 mg y PPL 200mg.

En la extracción se aplicaron diferentes condiciones como:

La carga del pH de la muestra (pH 4 y 7)

 	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 IMTA <small>INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA</small>
Página 11 de 62	México, 2014	Clave: F.C0.2.04.01

Diferente solvente de elución o mezcla de solvente: solvente /ácido fórmico
 Evaporación de eluato con nitrógeno gas en frío o a temperatura controlada.

La reconstitución siempre fue en metanol.

El número de experimentos realizados por fármaco fue de cuatro, siendo 16 fármacos los estudiados, a continuación se presentan los cuadros de cada experimento con sus condiciones de extracción y sus porcentajes de recuperación después de inyectar los eluatos en el cromatógrafo de líquidos masas triple cuádruplo con el método cromatográfico y de masas indicado anteriormente.

6. RESULTADOS

6. RESULTADOS

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
<p>4-DIMETHYLAMINOANTIPYRINE</p>	<p>67.235</p>	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml</p>
	<p>13.81</p>	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH4 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION CON NITROGENO AP 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml</p>
	<p>83.66</p>	<p><i>CARTUCHO HLB 200 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 5 ml 5. LAVADO H₂O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION (BANO 38 C) 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml</p>
	<p>11.23</p>	<p><i>CARTUCHO HLB 60 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H₂O, pH2 3. CARGA DE MUESTRA A pH7, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H₂O, pH7 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH + 10 ml MeOH 2% A.FORMICO 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml</p>

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
BISOPROLOL	102.23	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	108.325	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH4 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	108.69	<p><i>CARTUCHO HLB 200 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 5 ml 5. LAVADO H₂O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	90.095	<p><i>CARTUCHO HLB 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H₂O, pH2 3. CARGA DE MUESTRA A pH7, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H₂O, pH7 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH + 10 ml MeOH 2% A.FORMICO 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
SULFAMETHOXAZOLE	34.825	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	2.33	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A Ph6 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	85.63	<p style="text-align: center;"><i>CARTUCHO HLB 200 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 5 ml 5. LAVADO H₂O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	75.83	<p><i>CARTUCHO HLB 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H₂O, pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH9, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H₂O, Ph9 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
SALBUTAMOL	95.62	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	47.77	<p><i>CARTUCHO HLB 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H₂O, pH2 3. CARGA DE MUESTRA A pH9, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H₂O, pH7 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH + 10 ml MeOH 3% A.FORMICO 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	164.15	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH4 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	73.215	<p><i>CARTUCHO PPL 200 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 5 ml 5. LAVADO H₂O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml



		8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
--	--	---

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
PINDOLOL	56.835	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH6 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	29.885	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH4 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	60.06	<p><i>CARTUCHO HLB 200 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 5 ml 5. LAVADO H₂O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	75.0625	<p><i>CARTUCHO HLB 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H₂O, pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH9, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H₂O, Ph9 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
PROPANOLOL	96.76	CARTUCHO OASIS MCX 60 mg 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H ₂ O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H ₂ O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH ₄ OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	90.55	CARTUCHO OASIS MCX 60 mg 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H ₂ O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH4 4. LAVADO H ₂ O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH ₄ OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	69.50	CARTUCHO HLB 200 mg 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H ₂ O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H ₂ O HPLC 5 ml 5. LAVADO H ₂ O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	80.755	CARTUCHO HLB 60 mg 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H ₂ O, pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH9, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H ₂ O, Ph9 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
<p>IFOSFAMIDE</p>	<p>70.245</p>	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml</p>
	<p>0.00</p>	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A Ph6 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml</p>
	<p>94.68</p>	<p><i>CARTUCHO HLB 200 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 5 ml 5. LAVADO H₂O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml</p>
	<p>99.875</p>	<p><i>CARTUCHO HLB 60 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H₂O, pH2 3. CARGA DE MUESTRA A pH7, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H₂O, pH7 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH + 10 ml MeOH 2% A.FORMICO 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml</p>

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
SALBUTAMOL	95.62	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	47.77	<p><i>CARTUCHO HLB 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H₂O, pH2 3. CARGA DE MUESTRA A pH9, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H₂O, pH7 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH + 10 ml MeOH 3% A.FORMICO 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	164.15	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH4 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	73.215	<p><i>CARTUCHO PPL 200 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 5 ml 5. LAVADO H₂O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
METOPROLOL	124.725	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	115.19	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH4 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	0.00	<p><i>CARTUCHO HLB 200 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 5 ml 5. LAVADO H₂O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	90.69	<p><i>CARTUCHO HLB 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H₂O, pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH9, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H₂O, Ph9 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
BETAXOLOL	106.155	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	90.425	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A Ph6 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	62.51	<p><i>CARTUCHO HLB 200 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 5 ml 5. LAVADO H₂O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	61.05	<p><i>CARTUCHO HLB 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H₂O, pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH9, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H₂O, Ph9 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
PROPYPHENAZONE	78.64	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	0.00	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A Ph6 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	83.05	<p><i>CARTUCHO HLB 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H₂O, pH2 3. CARGA DE MUESTRA A pH7, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H₂O, pH7 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH + 10 ml MeOH 3% A.FORMICO 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	92.105	<p><i>CARTUCHO HLB 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H₂O, pH2 3. CARGA DE MUESTRA A pH7, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H₂O, pH7 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH + 10 ml MeOH 2% A.FORMICO

		8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
--	--	---

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
TERBUTALINE	74.11	<i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H ₂ O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H ₂ O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH ₄ OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	0.00	<i>CARTUCHO HLB 60 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H ₂ O, pH2 3. CARGA DE MUESTRA A pH9, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H ₂ O, pH7 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH + 10 ml MeOH 3% A.FORMICO 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	97.87	<i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H ₂ O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH4 4. LAVADO H ₂ O HPLC 6 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH ₄ OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	0.00	<i>CARTUCHO PPL 200 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H ₂ O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H ₂ O HPLC 5 ml 5. LAVADO H ₂ O 5% MeOH 1 ml

		6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
--	--	--

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
CLENBUTEROL	94.06	CARTUCHO OASIS MCX 60 mg 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H ₂ O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H ₂ O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH ₄ OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	89.145	CARTUCHO OASIS MCX 60 mg 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H ₂ O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH4 4. LAVADO H ₂ O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH ₄ OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	67.81	CARTUCHO HLB 200 mg 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H ₂ O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H ₂ O HPLC 5 ml 5. LAVADO H ₂ O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	61.15	CARTUCHO HLB 60 mg 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H ₂ O, pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH9, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H ₂ O, Ph9 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
ANTIPYRNE	73.29	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	0	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A Ph6 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	78.52	<p><i>CARTUCHO HLB 200 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 5 ml 5. LAVADO H₂O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	89.4975	<p><i>CARTUCHO HLB 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H₂O, pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH9, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H₂O, Ph9 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml

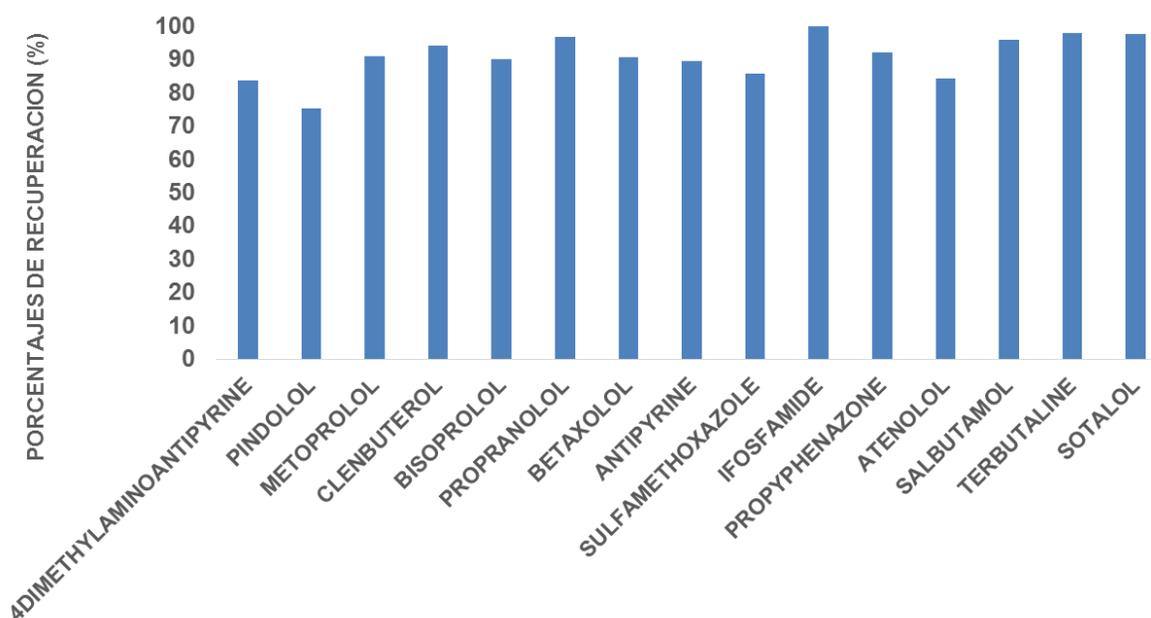
COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
ATENOLOL	117.97	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	122.73	<p><i>CARTUCHO HLB 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H₂O, pH2 3. CARGA DE MUESTRA A pH9, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H₂O, pH7 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH + 10 ml MeOH 2% A.FORMICO 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	116.45	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH4 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	84.29	<p><i>CARTUCHO PPL 200 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 5 ml 5. LAVADO H₂O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)
SOTALOL	65.49	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH6 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	51.30	<p><i>CARTUCHO HLB 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H₂O, pH2 3. CARGA DE MUESTRA A pH9, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H₂O, pH7 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH + 10 ml MeOH 3% A.FORMICO 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	97.50	<p><i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH4 4. LAVADO H₂O HPLC 6 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH₄OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
	0.00	<p><i>CARTUCHO PPL 200 mg</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H₂O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H₂O HPLC 5 ml 5. LAVADO H₂O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml

De los experimentos realizados se seleccionaron aquellos que tuvieron porcentajes de recuperación del 75 al 99.88% para quince fármacos, esto sólo después de la optimización de los métodos de extracción en fase sólida.

El gráfico siguiente muestra los porcentajes de recuperación de los quince fármacos estudiados.

Gráfico de porcentaje de recuperación de 15 fármacos



En el cuadro 1 se presenta los métodos de extracción en fase sólida optimizados con porcentajes de recuperación de 75 al 99.88 para los quince fármacos.

Cuadro1. Condiciones de extracción en fase sólida y porcentajes de recuperación.

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA
BETAXOLOL SALBUTAMOL TERBUTALINE* SOTALOL*	90.425 95.62 97.87 97.5	<i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H ₂ O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H ₂ O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILLO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH ₄ OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
* PARA OBTENER ESTOS RESULTADOS SE ELIMINARON LOS PASOS 5, 6 EN UN METODO ALTERNATIVO		
4DIMETHYLAMINOANTIPYRINE SULFAMETHOXAZOLE	83.66 85.63	<i>CARTUCHO HLB 200 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H ₂ O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H ₂ O HPLC 5 ml 5. LAVADO H ₂ O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
PINDOLOL METOPROLOL ANTIPYRINE	75.0625 90.69 89.50	<i>CARTUCHO HLB 60 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H ₂ O, pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH9, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H ₂ O, Ph9 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml

COMPUESTO	PORCENTAJE DE RECUPERACION	METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA
CLENBUTEROL PROPRANOLOL	94.06 96.76	<i>CARTUCHO OASIS MCX 60 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H ₂ O pH7 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H ₂ O HPLC 6 ml 5. LAVADO ACETONITRILO 1 ml 6. LAVADO MeOH 1 ml 7. SECADO 20 MINUTOS 8. ELUCION MeOH 5%NH ₄ OH 10 ml 9. EVAPORACION 10. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
BISOPROLOL* IFOSFAMIDE PROPPHENAZONE	90.095 99.88 92.105	<i>CARTUCHO HLB 60 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO 9 ml H ₂ O, pH2 3. CARGA DE MUESTRA A pH7, 250 ml 4. LAVADO 6 ml H ₂ O, pH7 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION 10 ml MeOH + 10 ml MeOH 2% A.FORMICO 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml
* PARA OBTENER ESTOS RESULTADOS SE HIZO UNA MODIFICACION EN EL PASO 7 EL CUAL CONSISTE EN AUMENTAR EL PORCENTAJE DE A. FORMICO A 3%		
ATENOLOL	84.29	<i>CARTUCHO PPL 200 mg</i> 1. ACONDICIONAMIENTO MeOH 6 ml 2. EQUILIBRIO H ₂ O HPLC 3. CARGA DE MUESTRA A pH7 4. LAVADO H ₂ O HPLC 5 ml 5. LAVADO H ₂ O 5% MeOH 1 ml 6. SECADO 20 MINUTOS 7. ELUCION MeOH 10 ml 8. EVAPORACION 9. RECONSTITUCION MeOH 1 ml

 SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 IMTA INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA
Página 31 de 62	México, 2014	Clave: F.C0.2.04.01

7. CONCLUSIONES.

La cromatografía de líquidos masas con detector de triple cuadrupolo es la técnica analítica más recomendable y exitosa para la determinación de contaminantes emergentes como lo son los fármacos, sin embargo esta debe asistirse por la extracción en fase sólida para determinar estos compuestos a niveles de nanogramos por litro.

Por otra parte los fármacos se deben de extraer en condiciones óptimas para obtener porcentajes de recuperación del orden del 70-100% siendo muy confiables.

En el presente proyecto se cumplió la implementación de 15 fármacos por cromatografía de líquidos masas con detector de triple cuadrupolo con asistencia de la extracción en fase sólida en agua. Es importante comentar que el método de extracción en fase sólida es el punto más importante de la implementación ya que aquí se debe seleccionar el tipo de cartucho de acuerdo a las propiedades de los compuestos a extraer, tomar en cuenta el ajuste del pH de la muestra antes de pasar por el cartucho, así como el disolvente o mezcla de disolvente y ácido para eluir los compuestos en estudio.

El método generado promete ser el mejor y más adecuado para la determinación de los 15 fármacos estudiados.

 	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 IMTA <small>INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA</small>
Página 32 de 62	México, 2014	Clave: F.CO.2.04.01

3.1 Evaluación de la correlación entre los parámetros de color verdadero, absorbancia en el rango de UV, COT y compuestos orgánicos con muestras sintéticas.

4.1 Antecedentes.

La falta de información con referencia a las consecuencias de los contaminantes emergentes en el agua, fomenta la investigación para la búsqueda de metodologías de análisis más precisas que permitan identificar y cuantificar su presencia en el entorno. Es así como los componentes antropogénicos que otorgan color al agua se han considerado como un elemento importante de estudio dentro de este contexto, pues diversas industrias -principalmente la textil- generan gran cantidad de éstos compuestos, las actividades domésticas también aportan una suma considerable de agentes colorantes. Es así como el color como parámetro fisicoquímico, constituye el primer indicador de la calidad del agua.

La metodología seguida para la evaluación de la correlación entre los parámetros antes mencionados fue la siguiente:

5.1 Metodología.

Preparar muestras de agua sintéticas con concentraciones conocidas de compuestos que imparten color al agua para medir color, absorbancia en el rango UV-Visible, demanda química de oxígeno y carbono orgánico total.

Preparación de muestras de agua sintética y fortificada

Se utilizaron los colorantes marcados en la sección 4.1 (ver fig.4.1 Colorantes utilizados para la preparación de las soluciones coloridas), de los cuales la marca “Mariposa” en presentación de pastilla fue necesario pulverizarlos con ayuda de un mortero. Posteriormente, se pesó aproximadamente y con precisión 0.5 g de cada colorante (Ver tabla Registro de pesos para la preparación de soluciones coloridas) para ser disuelto en 100 mL de agua desionizada (para el caso de muestras sintéticas) o de otra matriz diferente (para el caso de las fortificadas –residual, residual tratada, de laguna y río). La concentración final de las muestras preparadas fue de aproximadamente 500 mg/L.



Fig. 4.1 Colorantes utilizados para la preparación de las soluciones coloridas

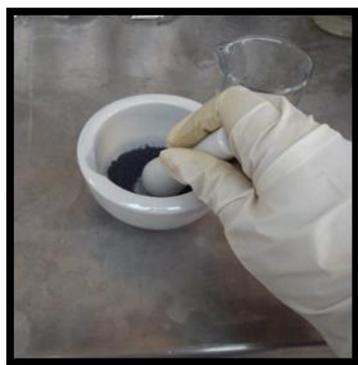


Fig. 4.2 Pulverización de colorantes

Analizar muestras de agua fortificada con concentraciones conocidas de compuestos coloridos para medir color, absorbancia en el rango UV-Visible, demanda química de oxígeno y carbono orgánico total utilizando muestras de agua residual de origen diverso: doméstico, industrial, agrícola, entre otras.

Construir curvas de calibración a determinadas concentraciones con los colorantes orgánicos e inorgánicos.

 	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 IMTA <small>INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA</small>
Página 34 de 62	México, 2014	Clave: F.CO.2.04.01

Establecer la correlación entre los parámetros fisicoquímicos mencionados con base en los resultados obtenidos de las determinaciones realizadas.

Determinación del punto más bajo para la curva de concentración de colorantes

El procedimiento de comparación visual para color, requiere de una disolución de color de 500 UPtCo, ya sea preparada en el laboratorio o de preferencia, adquirirla comercialmente. En el caso de ser preparada en el laboratorio seguir el procedimiento marcado en la Norma NMX-AA-045-SCFI-2001, el cual indica pesar 1,246 g de Hexacloroplatinato de potasio (K₂PtCl₆) y 1,000 g de Cloruro de Cobalto hexahidratado (CoCl₂•6H₂O).

Fue necesario relacionar el límite máximo permisible de color establecido por la norma NOM-127-SSA1-1994 de 20 proporcionado en unidades de color en la escala Platino-Cobalto, para ser llevado al método espectrofotométrico de manera que las concentraciones de estudio resultaran equivalentes.

Se consideran los pesos antes mencionados para la preparación de la solución de cloroplatinato para establecer el punto más bajo de la curva de concentración en cuanto a los colorantes, para ello se realizó lo siguiente:

Los respectivos pesos moleculares de los reactivos son:

K₂PtCl₆= 485,994 g/mol y el CoCl₂•6H₂O= 237,928 g/mol

Los pesos atómicos para el platino y el cobalto son los siguientes:

Pt = 195,08 g/mol y Co= 58,933 g/mol

Dado que el color obtenido por comparación visual se reporta en unidades platino-cobalto, entonces, los gramos que se usan de cada uno de los elementos para obtener una solución de color de 500U PtCo se obtienen relacionando los pesos atómicos y moleculares de la siguiente manera:

485,994 g/mol – 1,246 g

195,08 g/mol - X

X= 0,5001 g 237,928 g/mol – 1,000 g

58,933 g/mol – X

X= 0,2477 g

Entonces:

0,5001 g + 0,2477 g = 500 UPtCo

0,7478 g = 500 UPtCo

Finalmente:

500 UPtCo = 0,7478 g

20 UPtCo = X

$X = 0,02991 \text{ g en } 1 \text{ L} = 29,91 \text{ mg/L} = 30 \text{ mg/L}$

Es así que se concluye que 30 mg/L corresponde al punto de concentración más bajo para la construcción de las curvas de concentración y ser leídas en el espectrofotómetro UV-Visible.

Preparación de curvas de concentración para los colorantes en estudio

Se pesó aproximadamente 1,000 g de los colorantes: 606 Azul marino, 667 Verde ultramar, 611 Castaño claro, Azul mezclilla y café tabaco (todos con fijador), para su posterior disolución en 1000 mL de las matrices de estudio (desionizada, residual y de efluente final) con ayuda de una parrilla magnética.

Para la preparación de las soluciones madre de colorantes se registraron los siguientes pesos (ver Tabla 4.3 Registro de pesos de colorantes) obteniendo una concentración aproximada de 1000 mg/L.

Colorante disuelto	Agua desionizada	Agua de efluente final	Agua residual
	Pesos (g)		
606 Azul marino	1,0011	1,0010	1,0011
667 Verde ultramar	1,0010	1,0007	1,0003
611 Castaño claro	1,0009	1,0018	1,0013
Azul mezclilla	1,0011	1,0020	1,0019
Café tabaco	1,0010	1,0013	1,0021
Volumen preparado: 1 L			

Tabla 4.3. Registro de pesos de colorantes

También se indican los volúmenes tomados de las soluciones madre preparadas (Ver Tabla 4.4 Volumen tomado de la solución madre para la preparación de la curva) y llevados al aforo a 500 mL con la matriz indicada, esto con la finalidad de preparar los estándares para construir las curvas de concentración.

Concentración mg/L	Volumen tomado de la solución madre mL
20	10
30	15
60	30
90	45
120	60
150	75
200	100
350	175
500	250
VOLUMEN PREPARADO: 500 mL	

Tabla 4.4. Volumen tomado de la solución madre para la preparación de la curva

Analizar muestras de agua fortificada con concentraciones conocidas de compuestos coloridos para medir color, absorbancia en el rango UV-Visible, demanda química de

oxígeno y carbono orgánico total utilizando muestras de agua residual de origen diverso: doméstico, industrial, agrícola, entre otras. Para esto se construyeron curvas de calibración a determinadas concentraciones con los colorantes orgánicos e inorgánicos.

Las curvas de colorantes preparadas con agua residual tratada se muestran a continuación (Ver Fig. 3 Curvas finales por colorante preparadas con agua residual tratada a) 606- Azul marino, b) 667- Verde ultramar, c) 611- Castaño claro d) Azul mezclilla e) Café tabaco).



a



b



c



d

 SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA
Página 38 de 62	México, 2014	Clave: F.C0.2.04.01



e

Fig. 3 Curvas finales por colorante preparadas con agua residual tratada
 a) 606- Azul marino, b) 667- Verde ultramar, c) 611- Castaño claro d) Azul mezclilla e) Café tabaco

Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)

El procedimiento que se aplicó para la determinación de la Demanda Química de Oxígeno DQO – TS se basa en la normatividad vigente (ver ANEXO 1 NMX-AA-030/2-SCFI-2011 ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA - PARTE 2 - DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO – MÉTODO DE TUBO SELLADO A PEQUEÑA ESCALA) consistió en la determinación espectrofotométrica, - o en su caso, por titulación -, de muestras de agua residual con una concentración de DQO de hasta 1000 mg/L, y que no exceda esa misma concentración en contenido de cloruros.

FUNDAMENTO

La medición espectrofotométrica se basa en la oxidación química de la materia orgánica e inorgánica presente en las muestras de agua, con ácido sulfúrico y dicromato de potasio a ebullición en presencia de sulfato de plata y sulfato de mercurio.

La cantidad de dicromato consumido se determina midiendo la absorbancia del Cromo (III) formado a una longitud de onda de 600 nm para un intervalo de concentración de 150 a 1000 mg/L. La cantidad de dicromato remanente, es determinado por la medición de absorbancia del Cromo (VI) a una longitud de onda de 420 nm. Las mediciones de la absorbancia son convertidas a un valor de DQO.

REACTIVOS

Todos los reactivos que a continuación se mencionan deben ser grado reactivo analítico, excepto el $K_2Cr_2O_7$ y el biftalato de potasio que deben ser de una pureza $\geq 99.95\%$. Cuando se hable de agua desionizada, ésta debe ser tipo IV (Conductividad máxima de $5.0 \mu S/cm$ y pH de 5.0 a 8.0) o mejor.

Se permite preparar mayor o menor cantidad de soluciones, siempre y cuando se usen cantidades proporcionales de los reactivos.

- Solución de ácido sulfúrico $\pm 20\%$ (lavado de material). En un vaso de precipitado mezclar 200 mL de ácido sulfúrico concentrado y 800 mL de agua desionizada.

 SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA
Página 39 de 62	México, 2014	Clave: F.C0.2.04.01

- Tubos sellados DQO-TS. Pueden ser adquiridos comercialmente listos para su uso o prepararlos en el laboratorio. Si se adquieren, es necesario que contengan sulfato de mercurio para eliminar interferencias debido a cloruros.

- Disolución de dicromato de potasio ± 0.1 M (intervalo hasta 1000 mg/L de DQO-TS). Disolver 29.418 ± 0.005 g de $K_2Cr_2O_7$, con pureza $\geq 99.95\%$ previamente secado a $105^\circ C$ por $2\text{ h} \pm 10$ min, en aproximadamente 600 mL de agua en un vaso de precipitado. Agregar cuidadosamente 160 mL de ácido sulfúrico concentrado con agitación. Dejar enfriar y aforar a 1000 mL en un matraz volumétrico. La solución es estable al menos por seis meses.

- Disolución de dicromato de potasio ± 0.015 M (intervalo hasta 150 mg/L de DQO-TS). Disolver 4.4127 ± 0.005 g de $K_2Cr_2O_7$, de la mayor pureza disponible previamente secado a $105^\circ C$ por $2\text{ h} \pm 10$ min, en aproximadamente 600 mL de agua en un vaso de precipitado. Agregar cuidadosamente 160 mL de ácido sulfúrico concentrado con agitación. Dejar enfriar y aforar a 1000 mL en un matraz volumétrico. La solución es estable al menos por seis meses.

- Solución de Ácido sulfúrico ± 4 M. A un vaso que contenga aproximadamente 500 mL de agua, añadir cuidadosamente con agitación, 220 ± 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. Dejar enfriar y llevar a 1000 ± 10 mL en una probeta. Almacenar en un frasco de vidrio. La disolución es estable por doce meses.

- Solución de ácido sulfúrico ± 1.8 M. A un vaso que contenga 180 ± 2 mL de agua, añadir cuidadosamente y con agitación, 20 ± 1 mL de ácido sulfúrico concentrado. La disolución es estable por doce meses.

- Disolución de sulfato de mercurio (II) ($HgSO_4$) ± 1.35 M. Disolver 80 ± 1 g de sulfato de mercurio grado reactivo en 200 ± 2 mL de solución de $H_2SO_4 \pm 1.8$ mol/L. La disolución es estable por doce meses.

- Disolución de sulfato de plata en ácido sulfúrico (Ag_2SO_4/H_2SO_4) ± 0.0385 M. Disolver 24.0 ± 0.1 g de sulfato de plata en 2 L de ácido sulfúrico concentrado. Para obtener una disolución satisfactoria, agite la mezcla inicial. Deje reposar una noche y después agite nuevamente con el fin de disolver todo el sulfato de plata. Almacenar en botella de vidrio oscuro protegido de la luz directa del sol. La disolución es estable por doce meses.

- Viales de digestión DQO – ALTA. Colocar en tubos de digestión individuales (previamente lavados con solución de ácido sulfúrico al 20 %), 0.50 ± 0.01 mL de disolución de dicromato de potasio ± 0.1 M, con cuidado, adicionar 0.20 ± 0.01 mL de disolución de sulfato de mercurio (II) seguido de 2.50 ± 0.1 mL de sulfato de plata. Agitar cuidadosamente y a continuación, tapar los tubos. Dejar reposar una noche para enfriar. Agitar de nuevo antes de su uso.

 	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 IMTA <small>INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA</small>
Página 40 de 62	México, 2014	Clave: F.CO.2.04.01

□ Viales de digestión DQO – BAJA. Colocar en tubos de digestión individuales (previamente lavados con solución de ácido sulfúrico al 20 %), 0.50 ± 0.01 mL de disolución de dicromato de potasio ± 0.015 M, con cuidado, adicionar 0.20 ± 0.01 mL de disolución de sulfato de mercurio (II) seguido de 2.50 ± 0.1 mL de sulfato de plata. Agitar cuidadosamente y a continuación, tapar los tubos. Dejar reposar una noche para enfriar. Agitar de nuevo antes de su uso.

Los viales son estables por un año si se almacena en lugar oscuro a temperatura ambiente.

Disolución madre

□ Disolución madre de ftalato ácido de potasio (KHP) [$C_6H_4(COOH)(COOK)$], DQO-TS de 10000 mg/L. Disolver y llevar al aforo a 500 mL con agua, 4.251 ± 0.002 g de ftalato hidrógeno de potasio (biftalato de potasio), previamente secado a 105 ± 5 °C durante $2 \text{ h} \pm 10$ min. Usar matraz volumétrico. Almacenar la disolución en refrigeración de 2 °C a 8 °C y preparar nuevas disoluciones cada mes.

Curva de calibración

a. Intervalo alto de concentración. Disoluciones estándar para calibración instrumental, con valores de concentración de masa DQO-TS de: 150, 200, 400, 600, 800 y 1000 mg/L. Diluir por separado, 15, 20, 40, 60, 80 y 100 mL de la disolución madre de 10000 mg/L, con 4 mL de solución de ácido sulfúrico ± 4 M y llevando al aforo a 1000 mL con agua desionizada. Preparar nuevas disoluciones cada mes (cuando aplique).

b. Intervalo bajo de concentración. Se preparan disoluciones de calibración de 15, 20, 30, 60, 90, 120 y 150 mg/L. Diluir por separado, 1.5, 2.0, 3.0, 6.0, 9.0, 12.0 y 15.0 mL de la disolución de 10000 mg/L, con 4 mL de solución de ácido sulfúrico ± 4 M y llevando al aforo a 1000 mL con agua desionizada. Almacenar estas disoluciones de 2 °C a 8 °C. Preparar nuevas disoluciones cada mes (cuando aplique).

PROCEDIMIENTO

1. Verificar si la disolución del vial de digestión muestra alguna traza de color verde; si es así, rechazar el vial. El método es adecuado para concentraciones de masa de cloruro de hasta 1000 mg/L.

2. Precalentar el digestor de DQO a 150 °C. Destapar el vial que contiene los reactivos de digestión. Mantener el vial a un ángulo de 45°.

3. Preparar las curvas de calibración como se indicó en el apartado correspondiente. Preparar nueva curva de calibración cada vez que se prepare nueva solución madre de ftalato ácido de potasio.

 SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA
Página 41 de 62	México, 2014	Clave: F.CO.2.04.01

3. a. Por separado, depositar cuidadosamente en los viales de digestión “DQO - ALTA” 2 mL de cada uno de los estándares preparados para la curva de calibración con intervalo alto de concentración.

3. b. Colocar cuidadosamente en cada uno de los viales de digestión “DQO - BAJA” 2 mL de cada uno de los estándares preparados para la curva de calibración con intervalo bajo de concentración.

4. Pipetear cuidadosamente 2 mL o una alícuota diluida de la muestra (previamente homogenizada con un agitador magnético) dentro del vial correspondiente (DQO – ALTA o DQO – BAJA). Cerrar el vial; para que no se escapen vapores, asegurarse que el tapón esté bien cerrado. Suavemente invertir el vial varias veces, destapándolo después de cada inversión para liberar presión. Precaución, el vial se calentará en este proceso, trabaje con guantes térmicos.

NOTA: Preparar al menos dos testigos (blancos) con agua desionizada.

5. Colocar los viales en el reactor precalentado (ver fig. 4.4), espere a que se estabilice la temperatura a 150 °C, e inicie a contar el tiempo. Anotar el(los) lote(s) de vial usado, así como la clave del equipo en el cual se hizo la digestión.



Fig. 4.4 Reactor precalentado

6. Digerir las muestras (ver fig. 4.5) por 2 horas \pm 10 min. Después de cumplir el tiempo de digestión retirar los viales del digestor. Esperar a que lleguen a temperatura ambiente.



Fig. 4.5 Digestión de las muestras

7. Realizar la medición espectrofotométrica iniciando con los estándares de la curva de calibración. Para la curva de calibración que va de 150 a 1000 mg/L de DQO-TS, medir la absorbancia a 600 ± 20 nm. En el caso de la curva que cuantifica DQO-TS de 15 a 150 mg/L, realizar la medición a 440 ± 20 nm.
8. Seguir con la medición de muestras si éstas son claras (fig. 4.6). Medir la absorbancia a la longitud de onda correspondiente según el vial que se haya usado.



Fig. 4.6 Muestras claras después del proceso de digestión

9. Realizar la medición transfiriendo el contenido de los viales (fig. 4.7) a una celda de 1 cm de paso óptico, teniendo cuidado de que no se transfiera sedimento del fondo del tubo.

 SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA
Página 43 de 62	México, 2014	Clave: F.CO.2.04.01



Fig. 4.7 Transferencia de volumen del vial de digestión a la celda de cuarzo

Determinación de color

Para determinar el color mediante los métodos actualmente aceptados, es necesario eliminar la turbidez antes de proceder al análisis, este se denomina color verdadero. Dentro de los pretratamientos que pueden emplearse para la eliminación de la turbidez están la centrifugación y el filtrado al vacío con filtros de 0.45 μm . En este caso, se usaron ambos procedimientos como pretratamiento a las muestras. Sin embargo, para muestras muy coloridas la normatividad menciona la determinación también del color aparente. Como ya se mencionó anteriormente, la diferencia entre ambos está en que el color aparente engloba toda la materia suspendida y disuelta la cual es eliminada para la posterior medición del color verdadero o real.

PROCEDIMIENTO

1. Encender el espectrofotómetro media hora previo uso. Configurarlos de manera que pueda leer transmitancia y seleccionar las longitudes de onda a las cuales leerá las muestras.
2. Recolectar 50 mL de cada muestra en vasos de precipitados.
3. Medición de color aparente.
- 3a. Medición y registro de pH con potenciómetro calibrado.

  <p>SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES</p>	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 <p>IMTA INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA</p>
Página 44 de 62	México, 2014	Clave: F.C0.2.04.01

3b. Llevar a cero el equipo con la matriz indicada sin colorante.

3c. Leer las muestras y obtener valores de transmitancia a determinadas longitudes de onda mostradas en las columnas X, Y, Z (ver Tabla 4.5 Ordinales seleccionados para determinaciones espectrofotométricas de color*).

NOTA: Homogeneizar la muestra entre cada medición ya sea mediante agitación manual o con ayuda de una parrilla magnética.

3d. Ajustar el pH de las muestras a un valor de 7.60 ± 0.02 mediante la adición de ácido sulfúrico o hidróxido de sodio diluido en concentraciones apropiadas.

3e. Repetir el paso 3a – 3c para obtener los valores de transmitancia y poder realizar los cálculos indicados por el procedimiento.

4. Enjuagar la celda para su resguardo y desechar las muestras.

5. Medición de color verdadero

5a. Filtrar al vacío con papel filtro de 45 μm o centrifugar a 3000 rpm por 10 min 50 mL de cada muestra.

5b. Medición y registro de pH con potenciómetro previamente calibrado.

5c. Llevar a cero el equipo con la muestra adecuada sin colorante.

5d. Leer las muestras y obtener valores de transmitancia a determinadas longitudes de onda mostradas en las columnas X, Y, Z de la Tabla 4.5 Ordinales seleccionados para determinaciones espectrofotométricas de color*.

5e. Ajustar el pH de las muestras a un valor de 7.60 ± 0.02 mediante la adición de ácido sulfúrico o hidróxido de sodio diluido en concentraciones convenientes.

5f. Repetir los pasos del punto 5b – 5d para obtener los valores de transmitancia y realizar los cálculos indicados por el procedimiento.

6. Enjuagar a celda para su resguardo y apagar el equipo. Desechar las muestras.

7. Una vez obtenidas las lecturas de las muestras tanto de color aparente como del verdadero a pH original y/o ajustado, lo correspondiente es totalizar la cada columna de transmitancia y multiplicar los totales por los factores adecuados (para 10 o 30 ordinales), con esto se obtendrán valores triestímulo X, Y, Z (del cual el porcentaje de luminancia está dado por Y).

ORDINAL	X	Y	Z
NÚM.	Longitud de onda		
	<i>nm</i>		
1	424,4	465,9	414,1
2*	435,5*	489,5*	422,2*
3	443,9	500,4	426,3
4	452,1	508,7	429,4
5*	461,2*	515,2*	432,0*
6	474,0	520,6	434,3
7	531,2	525,4	436,5
8*	544,3*	529,8*	438,6*
9	552,4	533,9	440,6
10	558,7	537,7	442,5
11*	564,1*	541,4*	444,4*
12	568,9	544,9	446,3
13	573,2	548,4	448,2
14*	577,4*	551,8*	450,1*
15	581,3	555,1	452,1
16	585,0	558,5	454,0
17*	588,7*	561,9*	455,9*
18	592,4	565,3	457,9
19	596,0	568,9	459,9
20*	599,6*	572,5*	462,0*
21	603,3	576,4	464,1
22	607,0	580,4	466,3
23*	610,9*	584,8*	468,7*
24	615,0	589,6	471,4
25	619,4	594,8	474,3

26*	624,2*	600,8*	477,7*
27	629,8	607,7	481,8
28	636,6	616,1	487,2
29*	645,9*	627,3*	495,2*
30	663,0	647,4	511,2

FACTORES CUANDO SE USAN 30 ORDINALES

	0,032 69	0,033 33	0,039 38
--	----------	----------	----------

FACTORES CUANDO SE USAN 10 ORDINALES

	0,098 06	0,100 00	0,118 14
--	----------	----------	----------

*** INSERTAR EN CADA COLUMNA EL VALOR DE TRANSMITANCIA (%) CORRESPONDIENTE A LA LONGITUD DE ONDA MOSTRADA. CUANDO BASTE UNA EXACTITUD LIMITADA, UTILÍCESE SOLAMENTE LOS ORDINALES MARCADOS CON ASTERISCO.**

- **Tabla 4.5 Ordinales seleccionados para determinaciones espectrofotométricas de color***

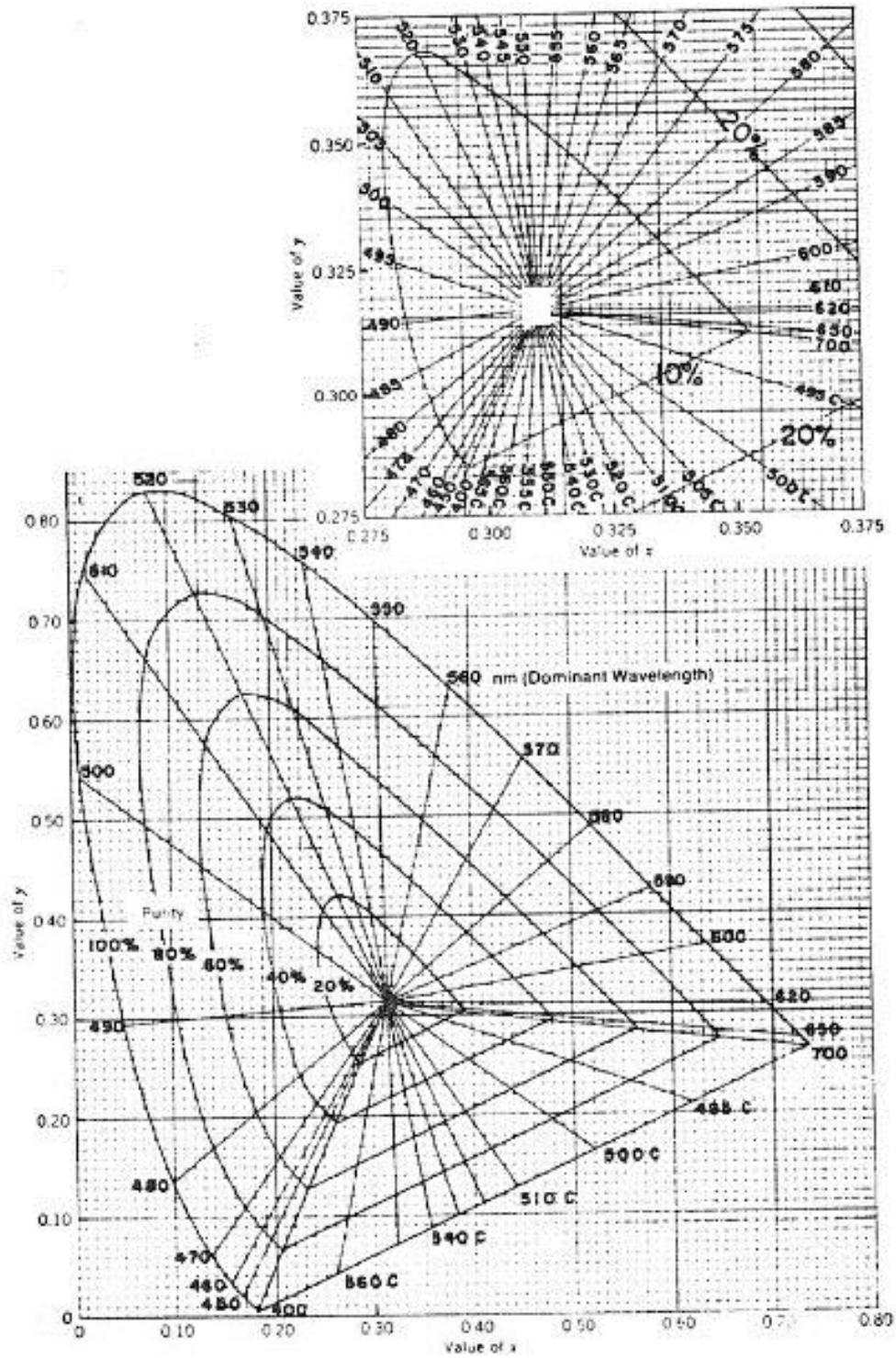
Fuente: Standard Methods (APHA; AWWA; WEF, 1992)

1. Posteriormente, se obtienen los valores tricromáticos a partir de los valores triestímulo mediante las ecuaciones:

$$x = \frac{X}{X+Y+Z} \qquad y = \frac{Y}{X+Y+Z}$$

  <p>SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES</p>	<p>MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA</p>	 <p>IMTA INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA</p>
<p>Página 47 de 62</p>	<p>México, 2014</p>	<p>Clave: F.C0.2.04.01</p>

2. En uno de los diagramas (ver fig. 4.8 Diagramas de cromaticidad) se localizó el punto (x, y) y se determinó la longitud de onda dominante (en nanómetros) y la pureza (en porcentaje).



• Fig. 4.8 Diagramas de cromaticidad

Fuente: Standard methods (APHA; AWWA; WEF, 1992)

3. A partir de la longitud de onda dominante (ver fig. 4.6 Matices de color para márgenes de longitud de onda dominante) se determinó la tonalidad o matiz:

Rango de longitud de onda <i>nm</i>	Matiz
400-465	Violeta
465-482	Azul
482-497	Azul-verde
497-530	Verde
530-575	Amarillo verdoso
575-580	Amarillo
580-587	Naranja amarillento
587-598	Naranja
598-620	Naranja-rojo
620-700	Rojo
400-530c *	Azul-púrpura
530c-700 *	Rojo púrpura
* Véase la Figura 1 para la significación de "c".	

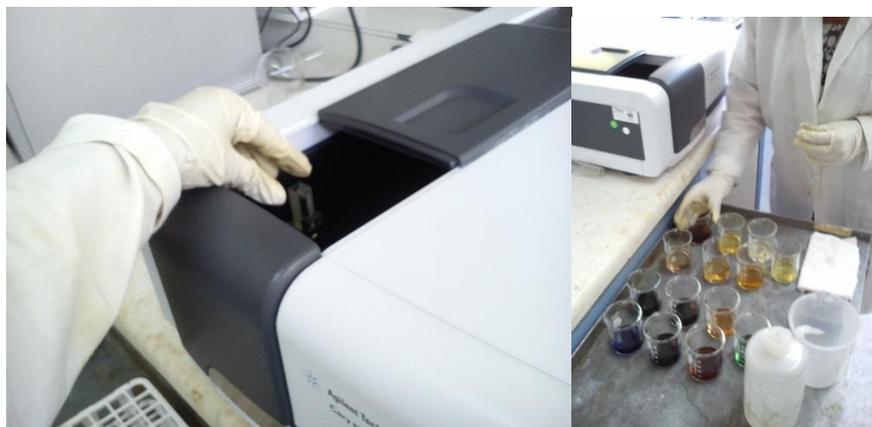
• **Tabla 4.6. Matices de color para márgenes de longitud de onda dominante**

Fuente: Standard Methods (APHA; AWWA; WEF, 1992)

4. Reporte de resultados. Los resultados se reportaron como longitud de onda dominante (en nanómetros), tonalidad (por ejemplo, azul, azul verdoso, etc.), luminancia (porcentaje), pureza (porcentaje) y pH original y/o ajustado. Asimismo se especificó el tipo de instrumento, número de ordinales seleccionado y la anchura de banda espectral utilizada (en nanómetros).

Medición de absorbancias

El procedimiento para la medición de absorbancias (fig. 4.9) consistió en realizar un barrido de las curva de colorantes preparados, en el espectrofotómetro UV – Vis bajo un intervalo de 200 – 1100 nm empleando una celda de cuarzo.



• **Fig. 4.9 Medición de absorbancias en el equipo UV-Vis**

PROCEDIMIENTO

1. Encender el espectrofotómetro media hora antes de ser utilizado.
2. Transferir 50 mL de las disoluciones preparadas de colorantes en vasos de precipitados.
3. Preparar el material a emplear (papel absorbente, piceta, vaso de desechos, entre otros).
4. Llevar a cero el equipo con la matriz indicada sin colorante.
5. Realizar la lectura de todo el lote de muestras que hayan sido preparadas con la matriz utilizada en el punto 4. Enjuagar la celda de cuarzo entre mediciones.

 SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 IMTA INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA
Página 51 de 62	México, 2014	Clave: F.C0.2.04.01

6. Llevar a cero el equipo con el agua residual tratada, cuando se inicien las lecturas de las disoluciones preparadas con esta agua. Lo mismo para el caso de agua de efluente final.
7. Después de leídas todas las muestras, enjuagar la celda para su posterior resguardo. Imprimir los resultados.
8. Apagar el equipo.

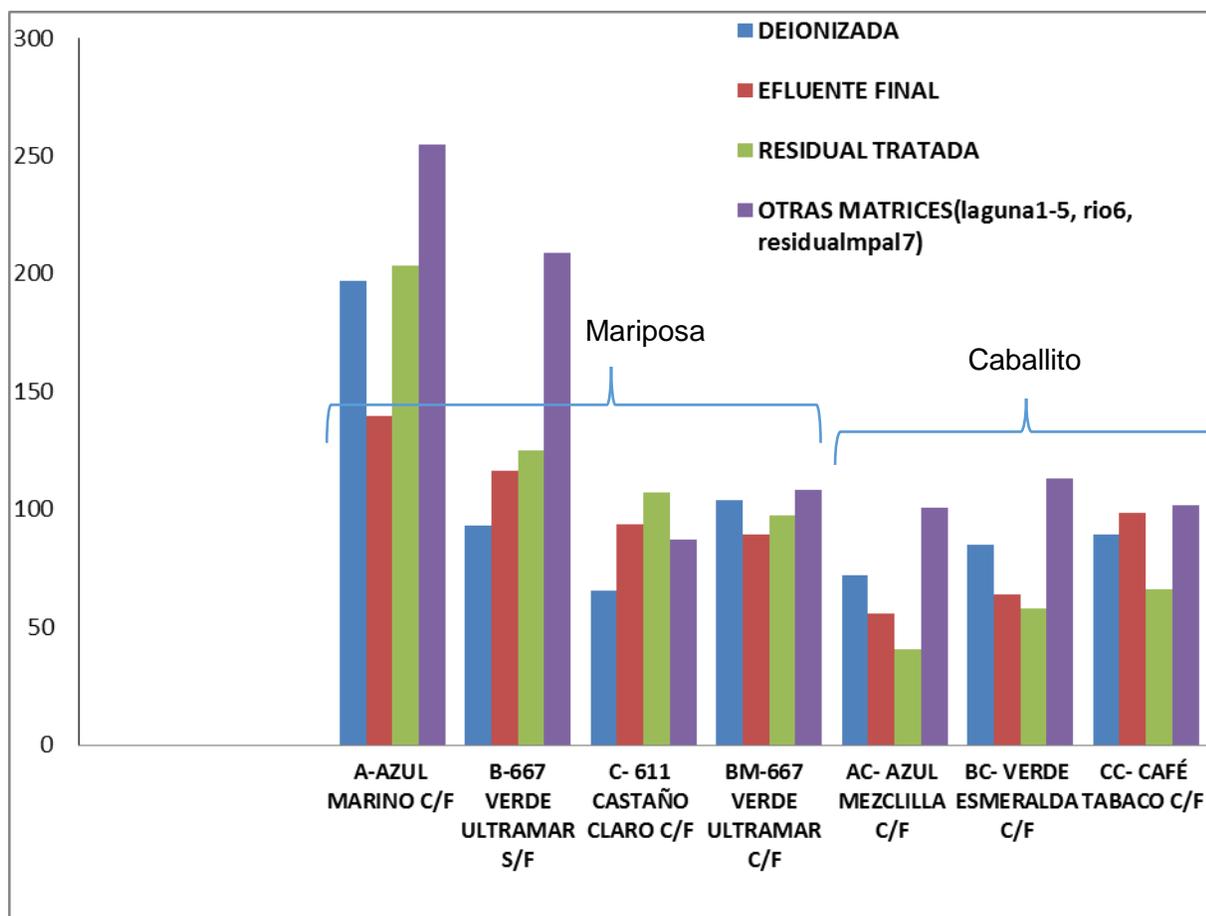
- Determinación de Carbono Orgánico Total

El procesamiento de la totalidad de las muestras no pudo llegar a ser completado debido a cuestiones relacionadas con la disponibilidad del equipo. Sin embargo, se realizó el muestreo y preservación de 100 mL de cada muestra que compone la curva por colorante y por matriz para posterior análisis.

PROCEDIMIENTO

1. Separar 100 mL de cada muestra que compone la curva de colorantes inorgánicos (20, 30, 60, 90, 120, 150, 200, 350 y 500 mg/L) en frascos de vidrio o plástico, previamente lavados con ácido sulfúrico al 20%.
2. Ajustar el pH de cada muestra hasta un valor de <2 mediante la adición con agitación de ácido sulfúrico concentrado. Rotular adecuadamente cada frasco especificando la concentración, colorante y tipo de matriz que compone la muestra.

6.1 RESULTADOS



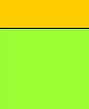
Realizando una comparativa entre los resultados obtenidos de las determinaciones de la demanda química de oxígeno para las muestras preparadas en la primera experimentación, se observó que la concentración de DQO resultó mucho mayor en aquellas donde se utilizaron colorantes “Mariposa” que en las preparadas con colorantes marca “Caballito”. De esto también se denota que los colorantes más oscuros requieren una mayor cantidad de oxígeno para ser degradados, a diferencia de los colorantes claros.

ABSORBANCIAS								
TIPO DE MUESTRA	AGUA DEIONIZADA		AGUA DE EFLUENTE FINAL		AGUA RESIDUAL TRATADA		OTRAS MATRICES (laguna,río y resid. mpal)	
	Longitud de onda nm	LECTURAS Abs	Longitud de onda nm	LECTURAS Abs	Longitud de onda nm	LECTURAS Abs	Longitud de onda nm	LECTURAS Abs
BM- 667 VERDE ULTRAMAR C/F	977,0	0,1270	1097,0	0,028	1087	0,022	1085	0,0460
	615,0	0,4470	978,0	0,142	975	0,142	1065	0,0520
	400,0	0,8270	364,0	0,518	609	0,398	975	0,1860
			222,0	3,038	398	0,841	610	0,4350
			220,0	3,049	221	3,065	400	0,9030
			217,0	0,376	213	3,176		
			215,0	3,136	210	3,254		
			212,0	3,131	205	3,234		
			210,0	3,197	201	3,407		
			205,0	3,270				
			203,0	3,266				

Con respecto a las absorbancias obtenidas espectrofotométricamente se observó que no todos los colorantes absorben en la región visible en todos los tipos de matriz, este colorante absorbe en la región visible solamente en agua residual tratada y en otras matrices. Es probable que en el efluente final influya el cloro residual (con una concentración de 15 mg/L) para no absorber en la región visible.

ABSORBANCIAS								
TIPO DE MUESTRA	AGUA DEIONIZADA		AGUA DE EFLUENTE FINAL		AGUA RESIDUAL TRATADA		OTRAS MATRICES (laguna,río y resid. mpal)	
	Longitud de onda nm	LECTURAS Abs	Longitud de onda nm	LECTURAS Abs	Longitud de onda nm	LECTURAS Abs	Longitud de onda nm	LECTURAS Abs
AC- AZUL MEZCLILLA C/F	973,0	0,1110	1067,0	0,000	1096	0,025	1090	0,3010
	600,0	0,9340	977,0	0,133	976	0,13	965	0,4660
	321,0	0,4240	219,0	3,027	598	1,194	590	1,6250
			212,0	3,178	319	0,639	310	1,6230
			209,0	3,158	223	3,046	225	2,8570
			207,0	3,257	215	3,125		
			205,0	3,234	211	3,18		
			203,0	3,215	206	3,261		
					204	3,338		
					202	3,324		

En muestras de agua residual, también se observó que las mismas absorben energía a las longitudes de onda del espectro ultravioleta y sólo se ve un pico en la región visible. Esto se explica probablemente por la presencia de compuestos formados después de la adición del colorante.

TIPO DE MUESTRA	COLORANTE DISUELTO	COLOR APARENTE									
		pH ORIGINAL					pH AJUSTADO				
		L %	P %	λ	TONO	pH	L %	P %	λ	TONO	pH
Laguna	A- AZUL MARINO	1,16	45%	468		8,30	1,45	30%	560		7,62
Laguna	B- 667 VERDE ULTRAMAR S/F	19,90	48%	549		8,32	22,13	42%	554		7,62
Laguna	C- 611 CASTAÑO CLARO	51,83	20%	582		8,07	59,71	34%	460		7,58
Laguna	BM- 667 VERDE ULTRAMAR	36,16	35%	556		8,15	43,36	35%	558		7,58
Río	AC- AZUL MEZCLILLA	3,29	33%	475		8,34	3,40	20%	579		7,59
Residual mpal.	BC- VERDE ESMERALDA	20,46	8%	503		8,56	21,19	1%	550		7,60

Río	CC- CAFÉ TABACO	17,22	68%	588	8,17	17,57	48%	482	7,59	
L % = Luminancia										
P % = Pureza										

TIPO DE MUESTRA	COLORANTE DISUELTO	COLOR									
		VERDADERO									
		pH ORIGINAL					pH AJUSTADO				
		L %	P %	λ	TONO	pH	L %	P %	λ	TONO	pH
Laguna	A- AZUL MARINO C/F	6,43	65%	520	8,46	6,44	35%	570	7,61		
Laguna	B- 667 VERDE ULTRAMAR S/F	42,35	25%	542	8,45	43,02	58%	468	7,59		
Laguna	C- 611 CASTAÑO CLARO C/F	87,53	8%	587	8,39	86,98	10%	578	7,58		
Laguna	BM- 667 VERDE ULTRAMAR C/F	65,29	20%	555	8,47	66,38	22%	555	7,60		
Río	AC- AZUL MEZCLILLA C/F	31,11	50%	550	8,56	31,36	30%	493	7,60		
Residual mpal.	BC- VERDE ESMERALD	44,24	3%	505	8,79	46,14	11%	507	7,59		

	A C/F										
Río	CC- CAFÉ TABACO C/F	47,53	48%	554		8,64	47,57	50%	584		7,59
L % = Luminancia P % = Pureza											

No en todas las matrices evaluadas se obtuvo el mismo color al evaluar color aparente y verdadero incluso cuando se trata de la misma matriz, ya que se muestrearon en lugares diferentes. Por lo que la coloración dependerá de los componentes que contenga el agua.

TIPO DE MUESTRA	COLORANTE DISUELTO	COLOR									
		APARENTE									
		pH ORIGINAL					pH AJUSTADO				
		L %	P %	λ	TONO	pH	L %	P %	λ	TONO	pH
AGUA RESIDUAL TRATADA	A- AZUL MARINO C/F	1,87	72%	450		7,95	1,91	70%	450		7,59
	B- VERDE ULTRAMAR S/F	28,44	35%	540		7,87	28,31	35%	543		7,62
	C- CASTAÑO CLARO C/F	59,96	30%	581		7,95	59,49	30%	582		7,62
	BM- VERDE ULTRAMAR	48,06	28%	554		7,99	48,22	27%	553		7,61

	C/F										
	AC- AZUL MEZCLILLA C/F	13,15	68%	473		8,10	13,31	78%	473		7,58
	BC- VERDE ESMERALD A C/F	25,26	8%	494		7,96	25,50	8%	493		7,58
	CC- CAFÉ TABACO C/F	31,37	71%	585		7,97	31,25	70%	585		7,58
<p>L % = Luminancia</p> <p>P % = Pureza</p>											

TIPO DE MUESTRA	COLORANTE DISUELTO	COLOR									
		VERDADERO									
		pH ORIGINAL					pH AJUSTADO				
		L %	P %	λ	TONO	pH	L %	P %	λ	TONO	pH
AGUA RESIDUA L TRATADA	A- AZUL MARINO C/F	40,12	70%	585		8,23	3,05	70%	450		7,59
	B- VERDE ULTRAMAR S/F	35,21	4%	498		8,30	38,57	52%	547		7,62
	C- CASTAÑO	14,47	65%	473		8,27	80,73	18%	581		7,60

	CLARO C/F										
	BM- VERDE ULTRAMAR C/F	60,16	24%	552		8,18	60,24	25%	555		7,58
	AC- AZUL MEZCLILLA C/F	80,81	18%	578		8,31	14,27	65%	473		7,62
	BC- VERDE ESMERALD A C/F	38,68	52%	545		8,22	35,78	3%	496		7,58
	CC- CAFÉ TABACO C/F	3,05	70%	452		8,23	39,97	70%	586		7,59

Para este tipo de agua, se observa que el color aparente se acerca más al color percibido por el ojo humano. Además en cuanto al color verdadero, da tonalidades diferentes a pH original de la muestra pero las mismas del color aparente cuando el pH fue ajustado.

7.1 CONCLUSIONES

Se observó que la concentración de DQO en los colorantes más oscuros (como el 606- Azul marino) es mayor que en los claros (611- Castaño claro).

Asimismo la DQO se comportó de manera muy variada al comparar los tres tipos de matrices estudiadas a excepción del 606- Azul marino el cual presenta cambios no tan significativos, pues registra las más altas concentraciones.

La concentración de DQO varía conforme el colorante de estudio. En este estudio se obtuvo que los colorantes de la marca “mariposa” registran mayores concentraciones de DQO que los de la marca “caballito”, lo que marca la pauta para saber la cantidad de oxígeno requerido para degradar ese compuesto colorido.

 	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 IMTA <small>INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA</small>
Página 59 de 62	México, 2014	Clave: F.C0.2.04.01

Con respecto al análisis de las absorbancias se observó que son mayores en muestras de agua de efluente final y residual tratada que en agua desionizada a las longitudes de onda comparables. Sin embargo, las longitudes de onda más altas se observan al analizar el agua desionizada.

Otro punto importante al analizar otras matrices es que las lecturas más altas de absorbancias leídas se encuentran en la región ultravioleta del espectrograma, es decir, no entran dentro de la región visible. Lo cual resulta lógico al comparar las longitudes de onda en las cuales se dan estas absorbancias.

Se observó que en las diferentes matrices de agua, no en todas se obtuvo el mismo color al evaluar color aparente y verdadero, incluso cuando se trata de la misma matriz, ya que se muestrearon en lugares diferentes. Por lo que la coloración dependerá de los componentes que contenga el agua. Por ejemplo, el agua de efluente final presentaba una concentración de Cloro de 20 mg/L. El cloro intervino en la coloración de las curvas pues redujo la intensidad del color en la mayoría de los casos descomponiéndolos en sus colores primarios.

Puesto que los colorantes se venden con fijador y sin fijador, se obtuvieron resultados en los que la DQO es mayor en aquellos que NO tienen fijador que en aquellos que lo tienen. Se llegó a esta conclusión después de analizar los resultados de uno de los colorantes que se encontró en presentación con y sin fijador.

La coloración percibida por el ojo humano en las muestras de agua, no es la misma que la obtenida espectrofotométricamente, al disolver el colorante en el agua, percibimos el color indicado en la caja, sin embargo, el color obtenido espectrofotométricamente es el definido por la longitud de onda dominante. Lo que se ve reflejado en los resultados de las absorbancias medidas, cuyos valores máximos se obtuvieron en la región ultravioleta del espectro.

En cuanto a la correlación entre estos parámetros con estos colorantes estudiados, se concluye que no hay ninguna correlación entre ellos ya que los valores de DQO corresponden a compuestos inorgánicos y no orgánicos por lo que no se puede establecer correlación entre el carbono orgánico y la DQO porque los valores de COT con cero.

 	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 IMTA <small>INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA</small>
Página 60 de 62	México, 2014	Clave: F.CO.2.04.01

Tampoco se pueden establecer una correlación entre Color espectrofotométrico contra DQO y COT porque esta determinación genera resultados de luminosidad, tonalidad, pureza que no son cuantitativos, ni tampoco con el color UV porque esta determinación nos indica si hay enlaces dobles o triples llamadas insaturaciones y sólo aplica a compuestos orgánicos y no inorgánicos.

Por último se debe de realizar más experimentos con colorantes orgánicos que nos puedan generar resultados de DQO y COT para establecer bien alguna correlación entre estos parámetros y el color tanto espectrofotométrico, color verdadero y aparente.

 SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA	 INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA
Página 61 de 62	México, 2014	Clave: F.C0.2.04.01

8. BIBLIOGRAFÍA

- APHA; AWWA; WEF. (1992). MÉTODOS NORMALIZADOS PARA EL ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES (17 ed.). Madrid: Díaz de Santos.
- Azcarate, M. P., Kloster, N. S., Ostinelli, M., & Carreira, D. (01 de Diciembre de 2011). Guía para la verificación de espectrofotómetros UV-Visible utilizados en el análisis de suelo y agua. Obtenido de Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria: http://inta.gob.ar/documentos/guia-para-la-verificacion-de-espectrofotometros-uv-visible-utilizados-en-el-analisis-de-suelo-y-agua/at_multi_download/file/Guia_espectrofot%C3%B3metros_UV.pdf
- Azcarate, M. P., Kloster, N. S., Ostinelli, M., & Carreira, D. (01 de Diciembre de 2011). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Obtenido de Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria: <http://inta.gob.ar/documentos/guia-para-la-verificacion-de-espectrofotometros-uv-visible-utilizados-en-el-analisis-de-suelo-y-agua/>
- Barceló, L. D., & López de Alda, M. J. (2009). Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. Obtenido de Universidad Zaragoza: <http://www.unizar.es/fnca/varios/panel/15.pdf>
- Becerril Bravo, J. E. (10 de Agosto de 2009). Contaminantes emergentes en el agua. Revista Digital Universitaria, 10(8), 4-xx.
- Cortazar Ramírez, A., González Ramírez, C. A., Coronel Olivares, C., Escalante Lozada, J. A., Castro Rosas, J., & Villagómez Ibarra, J. R. (2012). Biotecnología aplicada a la degradación de colorantes de la industria textil. Villahermosa, Tabasco: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Doménech, X., & Peral, J. (2006). Etapas en el proceso de tratamiento de aguas residuales urbanas. Imitando a la naturaleza. En X. Doménech, & J. Peral, Química Ambiental de Sistemas Terrestres (pág. 190). Barcelona: Reverté.
- García Hololavsky, R. (04 de Febrero de 2014). Manual de prácticas de laboratorio de ingeniería sanitaria. Obtenido de Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Chihuahua: http://fing.uach.mx/licenciaturas/IC/2012/01/26/MANUAL_LABORATORIO_DE_SANITARIA.pdf
- Gil, M. J., Soto, A. M., Usma, J. I., & Gutiérrez, O. D. (2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. Producción + Limpia, 52-60.
- Henríquez Villa, D. (Enero de 2012). Tesis para obtener el grado de magister en ciencias de la ingeniería mención recursos y medio ambiente hídrico. Presencia de contaminantes emergentes en aguas y su impacto en el ecosistema. Estudio de caso: productos farmacéuticos en la cuenca del río Biobío, Región del Biobío, Chile. Santiago de Chile.
- IMTA. (Agosto de 2014). Manual de organización del centro público de investigación Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. Obtenido de Instituto Mexicano de Tecnología del Agua: http://www.imta.gob.mx/images/pdf/Manual_de_Organizacion_DIC2014.pdf
- J. Abarca, F. (2007). Demanda Química de Oxígeno. En S. d. Naturales, Perspectivas sobre conservación de ecosistemas acuáticos en México (pág. 125). México: SEMARNAT-INE.
- Jiménez Cartagena, C. (Julio-Diciembre 2011). Contaminantes orgánicos emergentes en el ambiente: productos farmaceuticos. Revista Lasallista de Investigación, 8(2), 143-153.
- Jiménez Cisneros, B. E. (2004). La contaminación ambiental en México: causas, efectos y tecnología apropiada. México, D.F.: Limusa; Colegio de Ingenieros Ambientales de México, A.C.; Instituto de Ingeniería de la UNAM y FEMISCA.
- Londono Carvajal, A. (10 de Abril de 2014). Capítulo I. El agua. Obtenido de Universidad de Colombia: http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/sedes/manizales/4090020/files/pdf/cap_1+.pdf
- Manahan, E. S. (2007). Introducción a la química ambiental. Barcelona: Reverté.

  <p>SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES</p>	<p>MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA</p>	 <p>IMTA INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA</p>
<p>Página 62 de 62</p>	<p>México, 2014</p>	<p>Clave: F.CO.2.04.01</p>

Sacher Frank. Pharmaceuticals in groundwaters. Analytical methods and results of a monitoring program in Bden-Wüttemberg, Germany. 2001 ,Journal Chromatography A, 938, 199-210.

Torres Molinares., C., & Jiménez, J. (31 de Mayo de 2006). Procedimiento para la Prueba para la Demanda Química de Oxígeno (DQO). Obtenido de Universidad Tecnológica de Panamá: <http://www.utp.ac.pa/sites/default/files/PCUTP-CIHH-LSA-201-2006.pdf>

Trejo Vela, N. (2012). Evaluación de un bioreactor de lecho orgánico y membrana sumergida que trata agua residual textil con colorantes azo. México: Tesis de grado.