



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
(QUÍMICA ACUÁTICA)

**DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA
LA PRECONCENTRACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PARAQUAT
EN MUESTRAS DE AGUA EPICONTINENTAL**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

ALBERTO COLIN SEGUNDO

TUTOR:

DRA. BLANCA LUCÍA PRADO PANO
INSTITUTO DE GEOLOGÍA

COMITÉ TUTOR

DRA. OLIVIA ZAMORA MARTÍNEZ
INSTITUTO DE GEOLOGÍA
DR. RODOLFO ZANELLA SPECIA
CENTRO DE CIENCIAS APLICADAS Y DESARROLLO TECNOLÓGICO
DR. FERNANDO ANTONIO GONZÁLEZ FARIAS
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
DR. EDUARDO RODRÍGUEZ DE SAN MIGUEL GUERRERO
FACULTAD DE QUÍMICA

Ciudad Universitaria, Cd. Mx.

Junio 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México



**DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA
LA PRECONCENTRACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PARAQUAT
EN MUESTRAS DE AGUA EPICONTINENTAL**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

(QUÍMICA ACUÁTICA)

P R E S E N T A

COLIN SEGUNDO ALBERTO

TUTOR:

DRA. BLANCA LUCÍA PRADO PANO

COMITÉ TUTOR

DRA. OLIVIA ZAMORA MARTÍNEZ

DR. RODOLFO ZANELLA SPECIA

DR. FERNANDO ANTONIO GONZÁLEZ FARIAS

DR. EDUARDO RODRÍGUEZ DE SAN MIGUEL GUERRERO

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, al Instituto de Geología y al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología por permitirme continuar con mi desarrollo profesional y brindarme los medios necesarios para la realización de este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento del presente proyecto a través de la beca número 666582, otorgada para llevar a cabo mis estudios de maestría.

Al apoyo financiero otorgado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico a través del proyecto PAPIIT IN215512 y al proyecto CONACYT 220489.

A mi asesora la Dra. Blanca Lucia Prado Pano por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, por su apoyo incondicional y sus valiosas enseñanzas.

A la Dra. Olivia Zamora Martínez por haber dirigido la validación del método analítico instrumental y el método de preparación de muestras por extracción en fase sólida del presente trabajo, por su apoyo incondicional y grandes enseñanzas, así como por haberme conducido por el camino de la química analítica y su gran amistad.

Al Dr. Rodolfo Zanella Specia por haber dirigido la realización de los experimentos de fotocatalisis, por su apoyo incondicional y por haberme permitido desarrollarme en un área que era completamente nueva para mí, contribuyendo en mi crecimiento profesional.

A los miembros de mi jurado: Dra. Olivia Zamora Martínez, Dra. Blanca Lucia Prado Pano, Dr. Rodolfo Zanella Specia, Dr. Fernando Antonio González Farias y Dr. Eduardo Rodríguez de San Miguel Guerrero por su dedicación, atención y observaciones, mismas que contribuyeron a mejorar este trabajo.

Al Departamento de Edafología del Instituto de Geología, específicamente al Laboratorio de Edafología Ambiental por permitirme realizar la parte experimental de la tesis. Agradezco profundamente a todo el personal, en especial a la Dra. Lucy Mora Palomino por las aportaciones realizadas al proyecto; al M. en C. Javier Tadeo León, responsable del Laboratorio de Espectroscopía Atómica, por la caracterización de los fotocatalizadores; y por último a la Dra. Olivia Zamora Martínez por su apoyo en la determinación de aniones y cationes por medio de cromatografía de iones en muestras de agua de origen ambiental (agua de manantial, río, lago y residual).

A mis compañeros del CCADET, pertenecientes al grupo de trabajo del Dr. Rodolfo Zanella, M. en C. Viridiana Maturano Rojas y M. en C. Jessica Y. Monter Guzmán por el apoyo que me dieron para la realización de la síntesis de los materiales fotocatalíticos y el desarrollo de los experimentos de fotocátalisis en muestras de agua; y por último al Dr. Juan Carlos Durán Álvarez por su apoyo en la determinación del carbono orgánico total de los experimentos de fotocátalisis, así como por sus aportaciones y comentarios realizados a este trabajo.

Al personal administrativo del Posgrado de Ciencias del Mar y Limnología, en especial a la M. en C. Diana Juárez Bustos por la orientación y el apoyo brindado en los trámites realizados durante mis estudios de maestría; a Gabriela Almaraz Mejía por facilitar los apoyos económicos recibidos; y por último y no menos importantes a la Mtra. Chantal Ruiz Guerrero y Guadalupe Godoy Medina quienes realizaron eficientemente su labor para los trámites de exámenes tutorales y graduación.

A mis compañeros de laboratorio del Instituto de Geología por su apoyo y cariño, haciendo mi estancia más agradable, en especial a Viviana, Mariana, Itzel, Luisa, pero sobre todo a Mario Rodríguez por haberme apoyado en la redacción de este trabajo y su gran amistad.

A los que colaboraron durante la marcha y éxito de éste estudio, y que razonablemente no plasmé, tengo la confianza de encontrarlos en mi archivo sentimental.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Una etapa más finalizada, quedo orgulloso y satisfecho por todo lo que logré durante estos años de preparación y desarrollo en mis estudios de maestría. Al final de esta etapa, llega el momento de hacer un balance y reconocer que no tengo más que agradecer a la vida y a Dios por todo el amor que me rodea y porque tengo todo el potencial para ser y hacer lo que yo quiero.

Dedico este trabajo a mi familia materna y paterna que ha estado siempre a mi lado y que han visto mi crecimiento profesional, en especial a mi madre Mónica Segundo Soto, a mi abuela Francisca Soto Vázquez y a mi madrina Cecilia Reyes.

A mi profesor Gustavo Garduño, quien hasta la fecha me sigue educando, agradezco su apoyo incondicional y su gran amistad.

A mi prima Guadalupe Morales, quien me acompañó durante este trayecto.

A mis amigos de toda la vida, que a pesar de la distancia y de las ocupaciones laborales, están al pendiente de mis logros, en especial a Javier Silva, Andrea Chávez, Óscar Sandoval, Ángeles Arroyo, Christihan Pineda, Elsi Juárez, Paulina Padilla, Jazmín Ángeles, Miguel Trejo, Samantha Molina, Ady Fonseca, Esdras, Daniel Tinoco, Yossellin Tapia, Adrián Morales, Celia, Álvaro Ulloa, Alfredo Esteban y Erika Julián.

A mis estudiantes, que durante este trayecto me acompañaron y me ayudaron a nivelar mi estrés, y quienes después se convertirían en personas valiosas para mí, en especial a David Ramírez, Martín Rivera, Erick Verdeja, Gisela, Aldo Molina, Alejandro Morales, Lupita García y Christopher Hurtado. Les agradezco mucho que me hayan aguantado.

Agradezco infinitamente a uno de mis mejores amigos, Irvin Rodríguez, quien estuvo conmigo en los inicios de este trabajo e incluso colaboró en la realización de una parte del mismo, por su gran amistad y por no dejarme caer cuando estuve a punto de rendirme.

Y por último y no menos importantes a mis compañeros y amigos del trabajo, con los cuales comparto día a día mis logros y nuevas experiencias, en especial a Ana Adela Sánchez, Fabiola González, Margarita Mena, Patricia Lechuga, Citlalli Gama y Alicia Acosta.

Finalmente a los que me aprecian y cuyos nombres no aparecen aquí, muchas gracias.

Parte de este trabajo fue presentando bajo la modalidad de cartel con el título:

“Determinación espectrofotométrica de paraquat en muestras acuosas ambientales.”

En el XXVII Congreso Nacional de Química Analítica en el 2014.

También fue presentado bajo la modalidad de cartel con el título:

“Optimización de un método analítico para la cuantificación de paraquat en muestras de agua epicontinental.”

En el Primer Congreso Iberoamericano de Limnología en Valdivia, Chile, en el 2016.

“It is change, continuing change, inevitable change, that is the dominant factor in society today. No sensible decision can be made any longer without taking into account not only the world as it is, but the world as it will be.”

Isaac Asimov

INDICE

	Página
I. Introducción y justificación	1
II. Objetivos	3
2.1. Objetivos generales	3
2.2. Objetivos específicos	3
III. Marco teórico	4
3.1. Generalidades sobre el paraquat	4
3.1.1. Paraquat	4
3.1.2. Efectos sobre la salud humana	6
3.1.3. Efectos ambientales	6
3.1.4. Agua	6
3.1.5. Toxicidad en organismos acuáticos	7
3.1.5.1. Peces	7
3.1.5.2. Anfibios	8
3.1.5.3. Invertebrados	8
3.1.6. Toxicidad en organismos terrestre	8
3.1.7. Suelos	8
3.1.8. Movilidad en suelos	9
3.1.9. Degradación del paraquat	10
3.2. Determinación de paraquat empleando el método de espectrofotometría	11
3.3. Determinación de paraquat empleando otras técnicas instrumentales	13
3.4. Validación de métodos analíticos	14
3.4.1. Definición de validación	14

3.4.2.	¿Cuándo deben validarse los métodos?	14
3.4.3.	Parámetros de desempeño a evaluar en un método de análisis	15
3.4.3.1.	Intervalo lineal y de trabajo	15
3.4.3.2.	Límite de detección Precisión	15
3.4.3.3.	Límite de cuantificación Exactitud	15
3.4.3.4.	Veracidad	16
3.4.3.4.1.	Precisión	16
3.4.3.4.2.	Exactitud	17
3.4.3.4.3.	Veracidad y recobro	17
3.4.3.5.	Evaluación de la presencia de efecto matriz	18
3.5.	Limpieza y pre-concentración de muestras ambientales, mediante extracción en fase sólida de muestras ambientales	19
3.5.1.	Tipos de adsorbentes	21
3.5.2.	Modo de operación	23
3.5.3.	Parámetros de la extracción en fase sólida	23
3.5.3.1.	Acondicionamiento del adsorbente	24
3.5.3.2.	Carga de la muestra	24
3.5.3.2.1.	Volumen de fuga o de ruptura	24
3.5.3.3.	Limpieza o lavado del adsorbente	25
3.5.3.4.	Recuperación o elución del analito	25
3.6.	Extracción en fase sólida del paraquat	25
3.7.	Degradación por fotocatalisis	26
3.7.1.	Introducción a los diferentes tipos de catálisis	26
3.7.1.1.	Catálisis homogénea	27
3.7.1.2.	Biocatálisis	27

3.7.1.3.	Catálisis heterogénea	27
3.7.2.	Fotólisis	28
3.7.3.	Fotocatálisis heterogénea	29
3.7.3.1.	Principio de la fotocatalisis heterogénea	30
3.7.3.2.	Catalizadores	31
3.7.3.3.	Influencia de los parámetros físicos en la fotocatalisis heterogénea	31
3.7.3.3.1.	Efecto de la modificación en superficie con nanopartículas metálicas	32
3.8.	Descontaminación fotocatalítica del agua	33
3.8.1.	Contaminantes inorgánicos	33
3.8.2.	Contaminantes orgánicos	33
3.9.	Reacción fotocatalítica de paraquat	34
IV.	Desarrollo experimental	35
4.1.	Instrumentación	35
4.1.1.	Equipo y materiales	35
4.1.2.	Reactivos y disolventes	35
4.2.	Método experimental	36
4.2.1.	Desarrollo del método espectrofotométrico	36
4.2.1.1.	Características espectrofotométricas	36
4.2.2.	Validación del método instrumental	36
4.2.2.1.	Intervalo lineal y de trabajo	37
4.2.2.2.	Precisión	37
4.2.2.3.	Exactitud	37
4.2.2.4.	Límite de detección experimental	37
4.2.2.5.	Límite de cuantificación experimental	37
4.2.2.6.	Evaluación de la presencia del efecto matriz	37
4.2.2.7.	Recobros	38

4.2.2.7.1.	Características de las muestras de origen ambiental	38
4.2.2.7.2.	Preparación de las muestras de agua	38
4.2.2.7.3.	Tiempo de contacto	38
4.2.3.	Optimización del método por extracción en fase sólida	39
4.2.3.1.	Establecimiento de las condiciones óptimas para la EFS	39
4.2.3.2.	Acondicionamiento, equilibramiento y lavado	40
4.2.3.3.	Selección del eluyente	40
4.2.3.4.	Selección del flujo de carga de la muestra	41
4.2.3.4.1.	Determinación del volumen de ruptura	41
4.2.3.5.	Evaluación del protocolo de EFS optimizado en muestras ambientales	42
4.2.4.	Fotodegradación del paraquat	44
4.2.4.1.	Síntesis de los materiales fotocatalíticos	44
4.2.4.1.1.	Depósito en superficie de nanopartículas de metales nobles	44
4.2.4.1.2.	Depósito de oro y cobre	44
4.2.4.1.3.	Depósito de plata	45
4.2.4.1.4.	Tratamiento térmico	46
4.2.4.2.	Caracterización de los fotocatalizadores	46
4.2.4.2.1.	Análisis elemental por espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)	46
4.2.4.2.2.	Absorción UV-vis y determinación de la banda de energía	46
4.2.4.3.	Pruebas fotocatalíticas	47
4.2.3.3.1.	Pruebas con luz UV	47
4.2.4.4.	Determinación de la degradación y mineralización de paraquat	48
4.2.4.4.1.	Espectrofotometría UV-vis.	48

4.2.4.4.2.	Determinación de la mineralización de paraquat empleando carbono orgánico total (TOC).	48
4.2.4.4.3.	Cuantificación de paraquat por el método espectrofotométrico validado.	49
V.	Resultados y discusión	50
5.1.	Desarrollo del método espectrofotométrico y selección de la longitud de onda de trabajo	50
5.2.	Validación del método instrumental	51
5.2.1.	Intervalo lineal	51
5.2.2.	Límite de detección y cuantificación	52
5.2.3.	Precisión	53
5.2.4.	Exactitud	54
5.2.5.	Evaluación de la presencia del efecto matriz	54
5.2.6.	Recobros	55
5.3.	Optimización del método por extracción en fase sólida	58
5.3.1.	Establecimiento de las condiciones óptimas para la EFS	58
5.3.1.1.	Selección de la disolución de lavado	58
5.3.1.2.	Selección de la disolución eluyente	58
5.3.1.3.	Evaluación de la velocidad de carga	59
5.3.1.4.	Determinación del volumen de ruptura o fuga	60
5.3.2.	Evaluación del protocolo de EFS optimizado en muestras ambientales	61
5.3.3.	Determinación del factor de concentración	64
5.3.4.	Límite de detección y límite de cuantificación	68
5.4.	Fotodegradación del paraquat	68
5.4.1.	Caracterización de los fotocatalizadores	68
5.4.1.1.	Análisis elemental por espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)	68

5.4.1.2.	Absorción UV-vis y determinación del band gap	68
5.4.2.	Pruebas de actividad catalítica en la degradación de paraquat activado por luz UV	70
5.4.3.	Mineralización medida mediante carbono orgánico total (TOC)	74
5.4.4.	Degradación medida por medio del método espectrofotométrico validado	76
5.4.5.	Determinación de la constante de rapidez	78
5.4.6.	Estudio fotocatalítico del paraquat en una muestra de lixiviado de hojas provenientes de árboles de mangle.	80
VI.	Conclusiones	81
6.1.	Validación del método instrumental	81
6.2.	Optimización del método por extracción en fase sólida	81
6.3.	Fotodegradación del paraquat	82
VII.	Anexos	84
VIII.	Referencias	87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
3.1	Características fisicoquímicas del paraquat.	4
3.2	Concentración letal (CL ₅₀) de algunos organismos que son afectados por el paraquat	7
3.3	Criterios de precisión en términos de repetibilidad y reproducibilidad.	17
3.4	Criterios de aceptación de los valores de recobro obtenidos con respecto al nivel de concentración.	18
4.1	Condiciones optimizadas del cartucho de EFS	39
4.2	Eluyentes evaluados con diferente composición para la recuperación del paraquat	40
4.3	Variación del volumen en la etapa de carga	41
5.1	Parámetros estadísticos de la validación del método de cuantificación del paraquat (nivel de confianza al 95%)	52
5.2	Límites de detección y de cuantificación del método desarrollado para el análisis de paraquat.	53
5.3	Porcentaje del Coeficiente de Variabilidad de la absorbancia para dos niveles de concentración, 0.5 y 5.0 mg/L, de paraquat.	53
5.4	Determinación del grado de exactitud para la cuantificación de paraquat (nivel de confianza al 95%).	54
5.5	Resultados de las muestras de tres cuerpos de agua diferentes fortificadas a dos niveles de concentración con paraquat.	56
5.6	Resultados de las muestras de las lagunas de Montebello fortificadas a una concentración de 4.0 mg/L con paraquat.	56
5.7	Resultados de las muestras de tres cuerpos de agua diferentes fortificadas a dos niveles de concentración con paraquat expuesto hasta 30 días de contacto con la matriz.	57
5.8	Resultados de los análisis de paraquat en la etapas de carga y lavado (flujo 1 ml/min).	58

5.9	Evaluación de diferentes tipos de eluyentes para la recuperación de 200 μg de paraquat (flujo 1ml/min).	59
5.10	Efecto de la velocidad del flujo de carga, con volumen de carga 10.0 mL de una disolución de 5.0 mg/L de paraquat.	60
5.11	Porcentajes de recuperación al variar el volumen de carga empleando una cantidad de paraquat constante (50 μg).	61
5.12	Resultados de los porcentajes de recobros obtenidos sin previo tratamiento de la muestra.	62
5.13	Resultados de los porcentajes de recobros obtenidos para nueve niveles de concentración.	63
5.14	Concentraciones de iones mayores encontrados en cada matriz empleando cromatografía de iones.	64
5.15	Factor de pre-concentración experimental.	65
5.16	Resultados de los porcentajes de recobros obtenidos por medio del valor de la pendiente.	65
5.17	Análisis elemental de catalizadores mono-metálicos con una carga teórica del 0.5%.	68
5.18	Energía de banda prohibida de los catalizadores usados.	69
5.19	Constante de rapidez ajustada a una cinética de degradación de pseudo-primer orden y pseudo-segundo orden.	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
3.1	Estructura del paraquat.	5
3.2	Propuestas de la degradación de paraquat por acción de la luz y microorganismos en condiciones de laboratorio.	11
3.3	Reacción de derivatización del paraquat con ditionito de sodio en medio básico.	12
3.4	Esquema general de la extracción en fase sólida.	23
3.5	Gráfico para determinar volumen de fuga o ruptura.	24
3.6	Esquema general de un sistema catalítico.	28
3.7	Diagrama de la banda de energía de una partícula esférica de dióxido de titanio.	30
4.1	Sistema de extracción en fase sólida (EFS) empleando una bomba isocrática	39
4.2	Colector múltiple utilizado para llevar a cabo el método de extracción en fase sólida propuesto conectado a una línea de vacío.	43
4.3	Reactor fotocatalítico.	47
5.1	Espectro de absorción en el intervalo de 360 a 440 nm para una disolución de 4.0 mg/L del radical paraquat.	50
5.2	Curva de calibración obtenida para la cuantificación de paraquat en muestras acuosas ($\lambda=394$ nm) para 15 niveles de concentración y con tres réplicas de cada uno de ellos.	51
5.3	Evaluación de la presencia del efecto matriz.	55
5.4	Determinación del factor de concentración en agua desionizada (a), manantial (b), río (c) y residual (d).	66
5.5	Evaluación de los recobros del método en agua desionizada (a), manantial (b), río (c) y residual (d).	67
5.6	Espectro UV-vis de reflectancia difusa.	69

5.7	Determinación cualitativa de paraquat por espectrofometría UV-vis en un intervalo de longitud de onda de 230 a 350 nm. Curva de calibración empleando concentraciones conocidas del pesticida (a), fotólisis del paraquat (b), fotocatalizadores evaluados: TiO_2 (c), Au/TiO_2 (d), Ag/TiO_2 (e) y Cu/TiO_2 (f) empleando agua desionizada como medio de reacción.	72
5.8	Determinación cualitativa de paraquat por espectrofometría UV-vis en un intervalo de longitud de onda de 230 a 350 nm. Fotólisis del paraquat (a), fotocatalizadores evaluados: TiO_2 (b), Au/TiO_2 (c), Ag/TiO_2 (d) y Cu/TiO_2 (e) empleando agua de origen ambiental como medio de reacción.	73
5.9	Determinación cualitativa de paraquat por espectrofometría UV-vis en un intervalo de longitud de onda de 245 a 795 nm. Fotocatalizadores evaluados: TiO_2 (a), Au/TiO_2 (b), Ag/TiO_2 (c) y Cu/TiO_2 (d) empleando agua de origen ambiental sin paraquat.	74
5.10	Porcentaje de mineralización de paraquat en agua desionizada (a) y en agua de manantial (b) empleando TOC después de 300 min. de reacción.	75
5.11	Cinética de degradación del paraquat empleando agua desionizada (a) y agua de manantial (b).	75
5.12	Cinética de degradación de los componentes orgánicos presentes en el agua de manantial determinada por TOC.	76
5.13	Porcentaje de mineralización de paraquat en agua desionizada (a) y en agua de manantial (b) empleando espectrofotometría después de 300 min. de reacción.	77
5.14	Cinética de degradación del paraquat en agua desionizada (a) y en agua de manantial (b) empleando espectrofotometría.	77

I. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN

El ritmo acelerado del crecimiento poblacional, demanda un incremento en la producción de alimentos, razón por la cual la agricultura se ha intensificado y con ello el uso de pesticidas en sus diferentes formas (insecticidas, herbicidas, fungicidas, entre otros), para enfrentar el ataque de parásitos, animales y malas hierbas [1].

El uso intensivo de pesticidas ha aumentado la incidencia de la contaminación ambiental por estos compuestos. Entre los pesticidas, los herbicidas, al ser aplicados directamente en el suelo y en cuerpos de agua para el control de malas hierbas acuáticas [1, 2], resultan los más peligrosos para la contaminación de agua superficial, aguas subterráneas y sedimentos. La presencia de pesticidas en el ambiente, tiene impactos potenciales en la salud humana. De este modo, el uso intensivo de estas sustancias, junto con la presencia de los subproductos de su degradación (metabolitos), han llevado al desarrollo de programas de vigilancia y gestión por parte de las agencias estatales y federales de distintos países desarrollados, para la protección de los cuerpos de agua, tanto superficiales como subterráneos. Lo anterior requiere de un monitoreo constante de la concentración de estos herbicidas en zonas de alta irrigación [1], para lo cual se requiere el desarrollo de métodos analíticos para el tratamiento y análisis de muestras ambientales.

Es por ello que en el presente trabajo se planteó el desarrollo y validación de un método analítico para la detección, cuantificación y pre-concentración del herbicida paraquat. Una vez validado el método, se trabajó con muestras naturales provenientes de diversos proyectos de investigación del grupo en el cual se desarrolló la tesis. Lo anterior permitió, por un lado, estudiar el efecto de las matrices ambientales en el desarrollo del trabajo analítico, y por otro, estudiar lo referente a la fotólisis y fotocatalisis del compuesto, ya que también se pretende evaluar los efectos fotocatalíticos que pueden presentar materiales sintetizados con depósitos de nanopartículas monometálicas adsorbidas sobre una superficie de TiO_2 para la degradación del paraquat, dado que se tienen poca información relacionada con este tema, buscando con ello una posible alternativa novedosa para la eliminación de este pesticida que puede encontrarse en diversos cuerpos de agua..

Las muestras de agua ambientales empleadas para estos estudios fueron las siguientes: agua del Río Amacuzac, Morelos, agua de los lagos de Montebello, Chiapas y agua de manantial y residual provenientes del Valle del Mezquital, Hidalgo.

La tesis está estructurada en VIII capítulos, en el tercero se presenta el marco teórico que incluye las generalidades del paraquat, y los diferentes aspectos teóricos de la validación de métodos analíticos y el proceso de fotólisis. En el cuarto capítulo se presentan los métodos empleados. El capítulo V incluye los resultados en el siguiente orden: puesta a punto y validación del método analítico, la optimización del método por Extracción en Fase Sólida (EFS) y por último los estudios realizados sobre la fotodegradación del paraquat.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Desarrollar y validar un método analítico para la cuantificación de concentraciones trazas de paraquat en muestras de agua de origen ambiental.

2.2. Objetivos particulares

Determinar los parámetros típicos de un proceso de validación como son intervalo lineal, límites de detección y de cuantificación, precisión, exactitud y robustez necesarios para la correcta determinación de paraquat en las muestras ambientales de estudio (río, lago, manantial y residual).

Optimizar el protocolo de EFS como tratamiento de la muestra, para la pre-concentración de paraquat y la eliminación de interferencias de matriz presentes en las muestras de estudio.

Aplicar la metodología optimizada y validada para la cuantificación de paraquat en muestras de agua de río, manantial y residual cruda.

Aplicar el método de cuantificación propuesto para evaluar la degradación fotocatalítica de paraquat en muestras de agua destilada y de manantial con los materiales fotocatalíticos de TiO_2 superficialmente modificados con nanopartículas monometálicas (Au, Ag y Cu) y comparar la eficiencia de degradación con respecto al TiO_2 que se empleará como referencia.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. Generalidades sobre el paraquat

3.1.1. Paraquat

El 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo, cuyo nombre común es paraquat (fig. 3.1), fue sintetizado por Michaelis en 1932; posteriormente en 1958 se describieron sus propiedades como herbicida y no fue sino hasta 1962 que empezó a ser comercializado [3]. El paraquat se puede encontrar como un sólido cristalino, en gránulos o en solución acuosa. Su fórmula química es $C_{12}H_{14}N_2^{2+}$. Es un compuesto cuaternario de amonio y pertenece al grupo bipiridilo. Algunos de los nombres comerciales del compuesto son gramoxone, agroquat, agroxone, cropoquat, marman herbiquat, multiquat, plusquat, secaquat, uniquat, por tan solo mencionar algunos. Suele estar presente en mezclas con ciertos herbicidas como el diquat, la simazina y herbicidas de urea [5], con el fin de potencializar el efecto individual de los diferentes compuestos. En la tabla 3.1 se resumen las características fisicoquímicas del paraquat.

Tabla 3.1. Características fisicoquímicas del paraquat.

Concepto	Característica
Fórmula molecular	$C_{12}H_{14}N_2^{2+}$
Peso molar	257.2 g/mol
Estado físico	Cristales incoloros, higroscópicos, inodoros
Temperatura de descomposición	> 340 °C
Solubilidad en agua	618-620 g/L a pH entre 5.2-9.2
Solubilidad en metanol	143 g/L
Solubilidad en otros disolventes orgánicos (acetona, hexano, diclorometano, tolueno, acetato de etilo)	<0.1 g/L
Densidad	1.13 g/mL a 25 °C
Hidrólisis	Es hidrolíticamente estable bajo condiciones ácidas, hidroliza bajo condiciones alcalinas
Fotólisis	Se descompone bajo la influencia de la radiación ultravioleta.
Metabolitos en los que se descompone	Monoquat, paraquat monopiridona, 4-carboxi-1-metilpiridinio

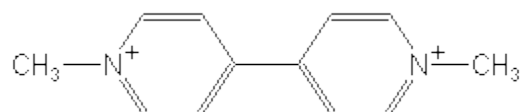


Figura 3.1. Estructura del paraquat.

Es un herbicida no selectivo de acción rápida, ampliamente usado para el control de malas hierbas en la agricultura y es uno de los más usados en la actualidad [4]. Afecta únicamente las partes verdes y no los tallos leñosos de la planta [3]. Es utilizado principalmente para cultivos de maíz, plátano, árboles frutales, plantíos de té, semillas de soya, verduras, entre otros [5]. Se usa para el control de plantas acuáticas y algas, aplicaciones para las que también se emplea el diquat. También es aplicado en los pinos para inducir el empapado de la resina, que consiste en cubrir el pino de dicha sustancia [6].

Es considerado como un herbicida altamente tóxico, comercializado en los últimos 50 años. La Organización Mundial de la Salud (2009) lo cataloga como una sustancia moderadamente tóxica por ingestión (Clase II), aunque la Red de Acción de Plaguicidas ha sugerido su reclasificación en la categoría de plaguicidas altamente tóxicos (Clase I) [5, 54]. El uso de paraquat está prohibido desde 2007 en 32 países, incluyendo los 27 de la Unión Europea [5]. Pese a que en México el paraquat está catalogado como un plaguicida de uso restringido, es decir, que sólo puede ser adquirido en las comercializadores mediante presentación de una recomendación escrita de un técnico oficial o privado que haya sido autorizado por el gobierno federal [55], su venta se realiza de manera desregulada.

El uso intensivo del paraquat ha planteado una preocupación creciente por la contaminación al ambiente y los efectos adversos a la salud.

3.1.2. Efectos sobre la salud humana

El modo de uso del paraquat consiste en rociar el herbicida sobre los campos de cultivo, por lo que si no se tiene el cuidado adecuado, la exposición puede provocar la muerte, causada por insuficiencia respiratoria que se produce a los pocos días después de la intoxicación debido a que no existe un antídoto. Otros efectos al organismo humano pueden ser daños al corazón, riñones, sistema nervioso central, pulmones, hígado, músculos, produciendo insuficiencia multiorgánica, así como daños a la piel y a los ojos. La Comisión Europea ha descrito el riesgo agudo de paraquat como [5]:

- Muy tóxico por inhalación.
- Tóxico en contacto con la piel y por ingestión.
- Riesgo de efectos graves para la salud en caso de exposición prolongada por ingestión.
- Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.

3.1.3. Efectos ambientales

El paraquat es descrito por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) como “extremadamente activo, y tóxico para las plantas y animales”, y por la Autoridad de Gestión del Riesgo Ambiental de Nueva Zelanda como “muy ecotóxico para el medio ambiente acuático”. Con “extremadamente activo” quiere decir que a concentraciones bajas el efecto del compuesto a los organismos es mayor, esto dependerá de la dosis letal (CL₅₀) que afecte a cada especie [5].

3.1.4. Agua

En el agua, el paraquat se adhiere a partículas y sedimentos, con una vida media de entre 2 y hasta 820 años en función de la luz solar, temperatura y la profundidad de los cuerpos de agua. Se ha encontrado en las aguas superficiales, agua potable y agua subterránea.

La degradación de paraquat en la fase acuosa es rápida: alrededor del 50% en 36 horas y del 100% en 4 semanas en ecosistemas de agua dulce, mientras que en los ecosistemas marinos de agua salada, la degradación es del 50 al 70% dentro de 24 horas [5, 8].

El paraquat es encontrado probablemente en aguas superficiales de zonas de baja altitud debido posiblemente a la erosión del suelo y escorrentía, que se tiene en las zonas altas donde se tienen diversos cultivos; posteriormente estas partículas de suelo son depositadas en los lechos de las masas superficiales de agua o zonas de tierras bajas [5].

Por ejemplo, en un estudio de las aguas superficiales en un humedal de España, el paraquat se encontró en 7% de las muestras de una laguna (concentración máxima 3.95 µg/L) y en 9.35% de las muestras de pantano (concentración máxima 1.45 µg/L). El paraquat provenía de campos de cultivo ubicados en la comunidad de Valencia. También ha sido encontrado en los sedimentos de las cuencas hidrográficas de la ciudad de Davao, Filipinas, a niveles de concentración entre 0.31 a 5.80 mg/L (2008) [5,14].

3.1.5. Toxicidad en organismos acuáticos

3.1.5.1. Peces

La EPA ha clasificado al paraquat como “ligeramente tóxico” para peces de agua dulce, donde la dosis letal (CL₅₀) varía entre 13 y 156 mg/L. A una concentración de 500 µg/L, que está por debajo de lo recomendado, afecta a algunas especies de carpa de agua dulce. En la tabla 3.2 se enlistan algunas especies marinas que son dañadas por acción del paraquat:

Tabla 3.2. Concentración letal 50 (CL₅₀) de algunos organismos que son afectados por el paraquat.

Nombre común	Nombre científico	CL ₅₀ (mg/L)	Ref.
Trucha arcoíris	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	8.5 – 19	5
Carpa espejo	<i>Cyprinus carpio</i>	98	5
Pez luna de agallas azules	<i>Lepomis macrochirus</i>	13	5
Pez lisa	<i>Mugil cephalus</i>	10	2
Cangrejo ermitaño	<i>Pagurus sp.</i>	10	2
Caracol	<i>Murex brandaris</i>	10	2

Los efectos del paraquat en peces incluyen comportamiento de estrés, nado errático, inquietud, pérdida de movimiento, pérdida de equilibrio, incremento en el ritmo cardiaco y parálisis, así como efectos subletales sobre el sistema inmunológico, alteraciones de las gónadas, afectación de la actividad reproductiva en machos y estrés oxidativo. Induce malformaciones teratogénicas, las cuales han sido reportadas en los embriones de *Oryzias latipes* [5].

3.1.5.2. Anfibios

A una concentración de 500 mg/L el paraquat afecta negativamente a los anfibios. En renacuajos de rana, se ha demostrado que durante la exposición del pesticida en la etapa materna causa alta mortalidad; puede ser embriotóxico y teratogénico, además de provocar retraso en el crecimiento en los renacuajos así como en el desarrollo fisiológico de los mismos [5].

3.1.5.3. Invertebrados

En concentraciones comprendidas entre 0.9 y 5.0 mg/L el paraquat afecta a las larvas de crustáceos. Es considerado moderadamente tóxico para la pulga de agua (*Daphnia*). En los camarones de agua dulce provoca reducción en la alimentación, peso corporal y consumo de oxígeno. Tiene un efecto teratogénico en las larvas de ascidias, que implica una malformación del sistema nervioso y la disminución de dopamina. Afecta negativamente a las especies sensibles de algas de agua dulce y los macrófitos [5].

3.1.6. Toxicidad en organismos terrestre

En aves, disminuye el peso corporal en polluelos, por lo tanto provoca una disminución en el crecimiento, reducción en la deposición de huevos y aumenta el número de huevos anormales. Los signos de intoxicación de paraquat son: diarrea, falta de coordinación, desequilibrio, caída de las alas, lentitud, debilidad, convulsiones terminales, ampollas y agrietamientos de la piel, lagrimeo y disminución de la envergadura.

La aplicación directa del paraquat con un surfactante causa la mortalidad del 55% de abejas dentro de los dos días de la exposición y del 99% de mortalidad al cabo de tres días.

El paraquat no es acumulado de forma significativa por las lombrices o los invertebrados del suelo, pero los efectos tóxicos tardíos incluyen la muerte de las aves y mamíferos que se alimentan de ellos.

Es tóxico para hongos y bacterias del suelo causando una reducción en algunas poblaciones [5].

3.1.7. Suelos

El paraquat se une fuertemente a las partículas del suelo y tiende a permanecer unido por un largo tiempo en un estado inactivo, aunque también puede desorberse y ser biológicamente activo. El herbicida se adhiere a los componentes del suelo con carga negativa, debido a su naturaleza catiónica. Se une fácilmente a la arcilla, penetrando a las regiones interreticulares de las mismas interfiriendo

así con la recuperación cuantitativa del paraquat en el suelo, y también a la materia orgánica [5,9].

En estudios de campo han encontrado una vida media de 7 a 87 años en el Reino Unido y de 10 a 100 años en Estados Unidos de Norteamérica. En estudios desarrollados en Tailandia se reporta que sólo el 25% del paraquat se mantuvo después de tres meses. Esto se debe a las diferencias climáticas y al tipo de suelo que se tiene en cada una de estas regiones, por ejemplo, en Tailandia la degradación es más rápida atribuida al aumento de las temperaturas y la radiación solar, mientras que en el Reino Unido y Estados Unidos de Norteamérica se tienen climas más fríos y con poca radiación solar [5, 9].

3.1.8. Movilidad en suelos

El suelo es un material que resulta de la interacción de las rocas y el material orgánico superficial, el cual es modificado por la acción del agua de lluvia, la radiación solar y el viento. En este sentido, la materia sólida del suelo está representada por minerales y materia orgánica con diferente grado de descomposición, que se arreglan para dar lugar a un espacio poroso, que puede estar ocupado por agua y/o aire. Este arreglo tridimensional causa que el suelo sea dinámico, permitiendo el paso del agua y dando lugar al proceso conocido como infiltración. El agua que llega a la superficie del suelo se infiltra, viaja a través de los poros del suelo recorriendo lo que se conoce como zona no saturada (en los poros hay agua y aire), hasta llegar al acuífero o zona saturada (en los poros solo hay agua). En su viaje por el suelo, el agua entra en contacto con la fracción sólida del suelo, la cual actúa como adsorbente de los contaminantes, mientras que los microorganismos del suelo interactúan con los contaminantes y pueden degradarlos. De este modo, el suelo actúa como reservorio de contaminantes, reduciendo o eliminando por completo, los contaminantes contenidos en el agua que se infiltra.

La porosidad y el contenido de humedad del suelo, afectan la movilidad del paraquat. La profundidad de la lixiviación de los herbicidas depende directamente de la solubilidad del compuesto en agua y se ha encontrado que es inversamente proporcional a la capacidad de adsorción del suelo. En el caso del paraquat, debido a su alta retención, se sugiere que el herbicida es poco móvil. Por otro lado, la actividad que presenta la fauna del suelo, como los gusanos, es un posible mecanismo mediante el cual el paraquat es transportado a profundidades inferiores en el perfil del mismo. También, el paraquat puede ser desplazado por diversos cationes, por lo tanto, la aplicación de fertilizantes en el suelo puede aumentar la movilidad de paraquat [9].

3.1.9. Degradación del paraquat

Se ha sugerido que, dependiendo de las condiciones ambientales y de la composición del suelo, la degradación microbiana del paraquat puede producirse entre uno y 364 días [9].

En suelos con alto contenido orgánico la adsorción decrementa, debido a los efectos de adsorción competitiva presentes entre la materia orgánica alóctona y el herbicida por los sitios de adsorción disponibles del suelo, por lo que el herbicida se mantiene activo durante más tiempo. La fuerte adherencia al suelo limita la disponibilidad de paraquat a plantas u otros organismos, por lo tanto, se biodegrada lentamente. De acuerdo a la EPA (2009) es resistente a la degradación microbiana en condiciones aerobias y anaerobias, sin embargo, otros autores informan que el paraquat puede ser significativamente degradado por bacterias, hongos, actinomicetos y levaduras, utilizándolo como fuente de nitrógeno. La degradación más rápida, es atribuida a las altas temperaturas y radiación solar intensa causando fotodegradación [5, 9].

Otro factor que influye sobre la degradación del paraquat es el contenido de materia orgánica en el suelo. Cuando los niveles de material orgánico u otros sustratos son elevados, se facilita la degradación de mencionados compuestos por los microorganismos, debido a que éstos contienen enzimas específicas que realizan este trabajo. Hasta que se ha degradado casi todo el contenido orgánico del suelo, los microorganismos empiezan a producir enzimas para sustratos específicos, como el paraquat, que comienzan la degradación de este herbicida [5, 9].

Los microorganismos capaces de degradar bipyridilos se han aislado en condiciones de laboratorio. En el caso del paraquat, se ha encontrado que el microorganismo existente en el suelo que es capaz de degradar al paraquat en porcentajes del 82 al 84% es una levadura conocida como *Lypomyces starkeyi*, utilizándolo como una fuente de nitrógeno. El principal producto de la descomposición microbiológica es el CO₂ (fig. 3.2) [8].

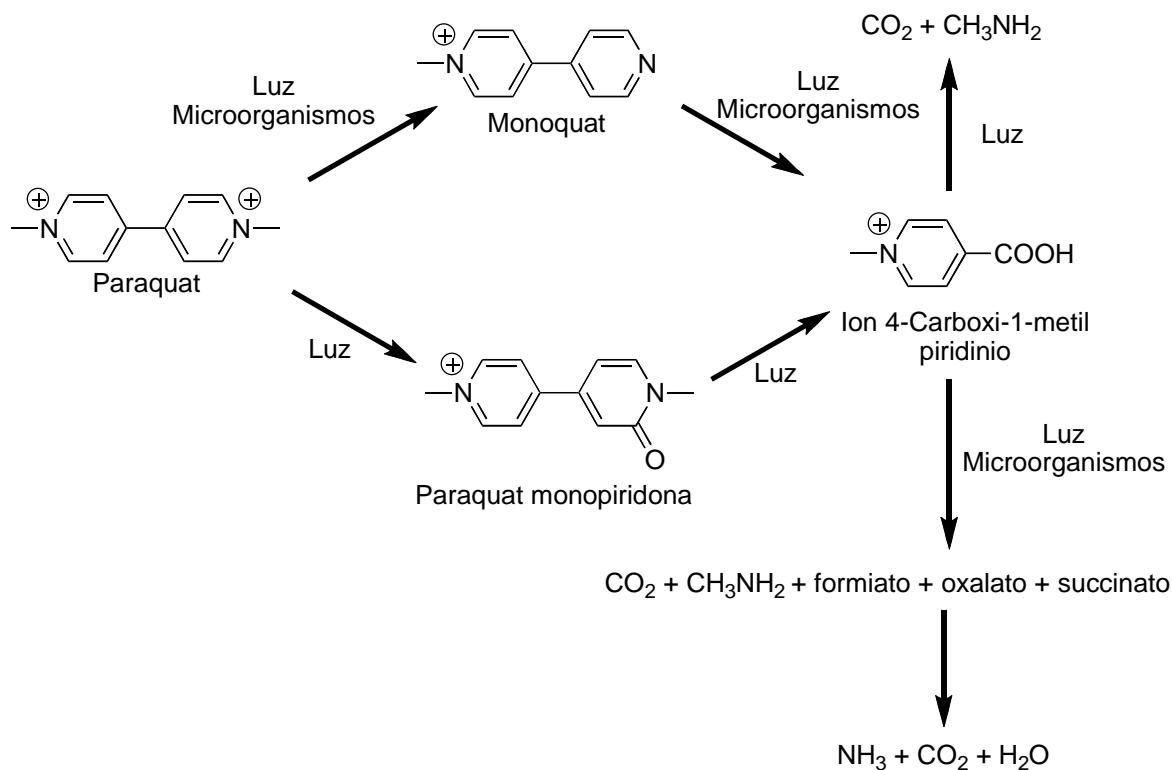


Figura 3.2. Propuestas de la degradación de paraquat por acción de la luz y microorganismos en condiciones de laboratorio [8].

En general, la tasa de degradación de los herbicidas en el suelo se ve reforzada por el aumento de la temperatura, el aumento del contenido de humedad y la proximidad a la superficie. Por otro lado, se propone que las arcillas presentes en el suelo ejercen un efecto protector sobre el paraquat reduciendo su disponibilidad pero que aumenta la persistencia del compuesto.

3.2. Determinación de paraquat empleando espectrofotetría visible

Al ser el paraquat un compuesto incoloro es imposible realizar su determinación por medio de espectrofotetría de manera directa. Sin embargo, debido a su naturaleza química es posible hacerlo reaccionar con una especie para producir un derivado colorido que pueda ser determinado en el visible, en donde la cantidad de luz absorbida por éste sea proporcional a la concentración. A continuación se describen tres métodos que tienen como finalidad producir una especie química colorida, derivada del paraquat, que permiten realizar la cuantificación de este pesticida a un valor de longitud de onda característico:

- Empleando ácido ascórbico en medio básico, en presencia de EDTA al 5% como agente enmascarante de los iones que puedan precipitar, se forma un compuesto de color azul en solución, cuya cuantificación es posible a 600 nm de longitud de onda. La desventaja de este método es que requiere el uso de agentes complejantes, como el EDTA, para enmascarar los iones metálicos contenidos en la matriz, y se requiere un intervalo de temperatura definido y el intervalo lineal y de trabajo reportado es de 1.2 a 9.8 mg/L. [10].
- Utilizando tetrayodomercuriato de potasio en medio neutro se forma una solución coloidal de color amarillo-naranja por lo que se adiciona una sustancia que estabilice a esta especie (acetona, etanol, almidón). La longitud de onda de trabajo se encuentra entre 400 y 420 nm. El análisis puede ser realizado hasta máximo una hora después de iniciada la reacción. Los inconvenientes de este método son que a elevadas concentraciones de paraquat se tiene la presencia de un precipitado naranja-amarillo, la cual es una reacción muy cuantitativa por lo que no se descarta que también se pueda monitorear por gravimetría; el uso de compuestos de mercurio, los cuales suelen ser caros y tóxicos, y el intervalo lineal reportado es de hasta 3 mg/L [11].
- Otra reacción muy característica es la formación de una especie radical de color azul con ditionito de sodio ($\text{Na}_2\text{O}_4\text{S}_2$) en disolución básica (fig. 3.3). Dicha especie puede ser monitoreada en el visible y cuantificada por espectrofotometría en niveles de concentración del orden de las partes por millón. Esta reacción es cuantitativa, pero la especie que se forma es poco estable, por lo que se debe realizar la reacción antes de medir en el espectrofotómetro. La agitación vigorosa a la solución de paraquat con ditionito de sodio provoca la disminución rápida del color generado por la presencia del radical azul, debido a que éste se oxida más rápido por el oxígeno que se pueda encontrar disuelto en el medio o que existe en la atmósfera [12]. Este método, comparado con los anteriores, no requiere de agentes complejantes ni de condiciones específicas de temperatura para que se lleve a cabo la reacción, así como los reactivos a emplear para la derivatización del pesticida no son tóxicos y son de fácil acceso; además de que el intervalo lineal y de trabajo es mayor.

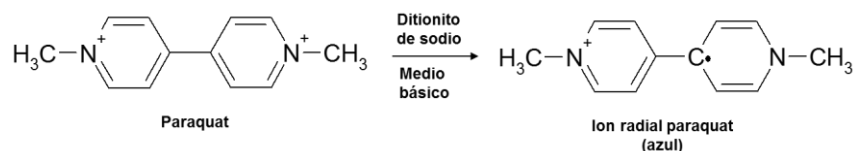


Figura 3.3. Reacción de derivatización del paraquat con ditionito de sodio en medio básico.

3.3. Determinación de paraquat empleando otras técnicas instrumentales

Otras técnicas desarrolladas para la determinación y cuantificación de paraquat han sido propuestas por diferentes equipos de trabajos. A continuación se describen algunas de ellas:

- Polarografía de pulsos. Para desarrollar este método, se requiere que el medio tenga un pH de 2. El intervalo lineal reportado es entre 0.1 y 15 mg/L. El límite de detección calculado es de 0.04 mg/L [50].
- Electroforesis capilar con detector de UV. Las ventajas que tiene esta técnica es que permite obtener buenas resoluciones y los tiempos de análisis son considerablemente menores comparado con la cromatografía de líquidos. Sin embargo, los límites de detección obtenidos son generalmente más altos que los alcanzados con la HPLC [51].
- Inmunoensayos específicos tipo RIA o ELISA. Estos métodos son sencillos, rápidos y relativamente económicos. Permiten realizar un gran número de determinaciones; los límites de detección alcanzados son entre 0.1 y 9 µg/L, aunque se han encontrado interferencias debidas a la matriz, dificultando la correcta interpretación de los resultados [51].
- Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC). En primera instancia se puede ocupar una fase estacionaria de carácter iónico, utilizando como fase móvil una mezcla de hidróxido de tetrametilamonio, sulfato de amonio y metanol empleando un detector de UV. El límite de detección alcanzado es de 0.5 mg/L. También se puede llevar a cabo la cuantificación del paraquat empleando una columna de fase inversa (C₁₈), donde se requiere la formación de pares iónicos; por tal motivo es necesario añadir reactivos tales como heptasulfonato de sodio, octasulfonato de sodio u ortofosfato de sodio a la fase móvil. El detector que puede ser empleado es el de UV o arreglo de diodos. El límite de detección alcanzado es de 0.68 µg/L. Una gran desventaja que tiene el uso de HPLC, como método instrumental de análisis, radica en la necesidad de lavar la columna con una disolución adecuada, dado que el paraquat se retiene fuertemente en la fase estacionaria generando un mayor deterioro de la misma [3, 52].

Por lo expuesto anteriormente y dado que no se cuenta con otros instrumentos en el laboratorio, se propuso como método instrumental de análisis la espectrofotometría para la cuantificación del herbicida.

3.4. Validación de métodos analíticos

La validación de un método es un requisito importante en la práctica del análisis químico. Diferentes organismos europeos y americanos, relacionados con las buenas prácticas de laboratorio, recomiendan que los datos analíticos sean sometidos a algún criterio de aceptación con el objetivo de garantizar que estos datos son los que habría que esperar. Para que un resultado analítico concuerde con el propósito requerido, debe ser lo suficientemente confiable para que cualquier decisión basada en éste pueda tomarse con confianza. Como consecuencia, los métodos analíticos deben ser sometidos a un proceso de validación.

3.4.1. Definición de validación.

- Confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos del método para una utilización o aplicación específica prevista [16].
- Confirmación mediante examen y suministro de evidencia objetiva de que se cumplen requisitos particulares para un uso específico previsto [15].

3.4.2. ¿Cuándo deben validarse los métodos?

Un método debe validarse cuando sea necesario verificar que sus parámetros de desempeño son adecuados para el uso en un problema analítico específico. Por ejemplo:

- Si se pretende acreditación o certificación.
- Un nuevo método es desarrollado para un problema específico.
- Un método ya establecido revisado para incorporar mejoras o extenderlo a un nuevo problema.
- Cuando el control de calidad indica que un método ya establecido está cambiando con el tiempo.
- Un método establecido usado en un laboratorio diferente o con diferentes analistas o con diferentes instrumentos.
- Para demostrar la equivalencia entre dos métodos, por ejemplo, entre método nuevo y uno de referencia.

El alcance de la validación o revalidación dependerá de la naturaleza de los cambios hechos al aplicar un método a diferentes laboratorios, instrumentación, operadores y circunstancias en las cuales el método va a ser utilizado. Siempre es apropiado algún grado de validación, aun cuando se usan métodos aparentemente bien caracterizados, ya sean de referencia o publicados [15, 16].

3.4.3. Parámetros de desempeño a evaluar en un método de análisis

El laboratorio tiene que decidir cuáles de los parámetros de desempeño del método necesitan caracterizarse con el fin de validarlo. La caracterización del desempeño del método es un proceso costoso pero puede restringirse inevitablemente por consideraciones de tiempo y costo. Las exigencias de validación de estos métodos, a efectos del cumplimiento de normas, incluyen estudios de exactitud, precisión, linealidad, selectividad, sensibilidad, intervalo lineal y de trabajo, límite de detección, límite de cuantificación y robustez [15].

3.4.3.1. Intervalo lineal y de trabajo

Define la habilidad del método para obtener resultados de la prueba proporcionales a la concentración del analito. La representación gráfica de este intervalo debe exhibir una buena correlación de los puntos experimentales a la recta de regresión para que el método analítico en cuestión sea aceptable [15, 16].

Dentro de este intervalo lineal, se puede encontrar el intervalo de trabajo, que consiste en el intervalo de las concentraciones analíticas o los valores de las propiedades sobre las cuales el método va a ser aplicado [16].

3.4.3.2. Límite de detección

Es la concentración mínima de un analito en la matriz de una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo condiciones analíticas específicas.

Se define al límite de detección (LOD por sus siglas en inglés) como la concentración de analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco, x_B , más tres veces la desviación estándar del blanco s_B :

$$LOD = x_B + 3s_B \quad (Ec. 3.1)$$

donde x_B es la concentración promedio determinada experimentalmente calculada a partir de la ecuación de regresión. La desviación estándar (s) es la asociada a las mediciones que se calcula con la ecuación 3.4 [16].

3.4.3.3. Límite de cuantificación

El límite de cuantificación (LOQ por sus siglas en inglés) es la concentración mínima que puede medirse con una precisión aceptable. Esta concentración puede ser igual o mayor que el punto de menor concentración de la curva de calibración. Se define como:

$$LOQ = x_B + 10s_B \quad (Ec. 3.2)$$

donde x_B y s se calculan de la misma manera que en el límite de detección [15, 16].

3.4.3.4. Veracidad

Se tienen tres características de desempeño relacionadas, las cuales son la veracidad, la precisión y la incertidumbre, que describen la calidad de los resultados obtenidos de un método. Sin embargo, con frecuencia se utilizan diferentes conceptos, tales como tipos de error (errores aleatorios, sistemáticos y groseros), exactitud (veracidad y precisión) e incertidumbre [60].

3.4.3.4.1. Precisión

Es la proximidad de concordancia entre los resultados de prueba independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas. Depende sólo de la distribución de los errores aleatorios y no se relaciona con el valor verdadero.

Para evaluar este parámetro de desempeño se realiza mediante el cálculo del porcentaje del coeficiente de variabilidad (%CV) cuya fórmula es la siguiente:

$$\%CV = \frac{s}{X} \times 100 \quad (\text{Ec. 3.3})$$

en donde X es la media aritmética de un conjunto de mediciones para una misma concentración, y s es la desviación estándar asociada a esas mediciones. La desviación estándar (s) se calcula como:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - X)^2}{n - 1}} \quad (\text{Ec. 3.4})$$

en donde X_i es el valor de una medición y n el número de mediciones realizadas [15].

Se establece que los criterios de aceptación para este parámetro, en términos de repetibilidad y reproducibilidad, que aseveran que un método de análisis es o no preciso, se presenta en la tabla 3.3.

Tabla 3.3. Criterios de precisión en términos de repetibilidad y reproducibilidad [17].

Concentración del analito	Repetibilidad (r)	Reproducibilidad (R)
< 1 ppb	CV≤35%	CV≤53%
1 a 10 ppb	CV≤30%	CV≤45%
10 a 100 ppb	CV≤20%	CV≤32%
0.1 a 100 ppm	CV≤15%	CV≤23%
100 a 1000 ppm	CV≤10%	CV≤16%

3.4.3.4.2. Exactitud

La exactitud expresa la proximidad de un único resultado a un valor de referencia. Es el grado de concordancia entre el resultado de una medición y un valor verdadero (o real) de lo medido. Este parámetro se evalúa mediante el porcentaje de error:

$$\%error = \frac{Concentración_{calculada} - Concentración_{real}}{Concentración_{real}} \times 100 \quad (Ec. 3.5)$$

La concentración real es la concentración teórica no determinada por el método y la concentración calculada, es la que se obtiene experimentalmente por medio de la ecuación de regresión [16, 60].

3.4.3.4.3. Veracidad y recobro

La veracidad es la proximidad de concordancia entre el valor promedio obtenido de una serie extensa de resultados de prueba y un valor de referencia aceptado. La medida de la veracidad se expresa por lo general en términos de sesgo.

Se puede evaluar de tres formas:

- Uso de materiales de referencia.
- Uso de métodos de referencia.
- Realización de experimentos de recobro.

El recobro consiste en la adición de una concentración conocida de analito a una muestra de prueba (muestra fortificada) previa al análisis que es determinada

efectivamente por el método; el porcentaje de recuperación entre la muestra fortificada y sin fortificar se calcula como:

$$\%R = \frac{CF - CU}{CA} \times 100 \quad (\text{Ec. 3.6})$$

donde CF es la concentración de analito medida en la muestra fortificada; CU es la concentración de analito medida en la muestra sin fortificar; CA es la concentración del analito adicionado, es decir, la concentración teórica no determinada por el método en la muestra fortificada [15, 60].

Los criterios de aceptación para este parámetro se presentan en la tabla 3.4.

Tabla 3.4. Criterios de aceptación de los valores de recobro obtenidos con respecto al nivel de concentración [18].

Concentración del analito	%Recobro
< 1 ppb	40-120%
1 a 10 ppb	60-115%
10 a 100 ppb	80-110%
0.1 a 1 ppm	80-110%
1 a 10 ppm	80-110%
10 a 100 ppm	90-107%
100 a 1000 ppm	95-105%

3.4.3.5. Evaluación de la presencia de efecto matriz

La matriz se define como la suma de todos los componentes que contiene cierta muestra, aparte del analito. Esta matriz puede contar con interferencias que traen como resultado sesgo en la medición analítica, provocada por diferencias significativas entre los estándares y la muestra tratada, o por una diferencia en la especiación entre el analito existente en la muestra problema y el analito en los estándares.

Un problema importante que surge al tener efecto matriz es que éste puede afectar el análisis de recobros del analito o la calibración del método propuesto.

Dependiendo de la técnica instrumental que se use para el análisis, será importante eliminar dicho efecto, ya que pueden afectar al analito mismo por

medio de reacciones de derivatización o degradación antes de que se analice el análisis.

Para eliminar este efecto, se emplea el análisis de recobros o el método de calibración interna, es decir, la adición de estándares, que consiste en la elaboración de una curva de calibración que incluya seis puntos, a lo largo del intervalo lineal, empleando la matriz como si fuera una disolución estándar y comparando la concentración obtenida por medio del análisis con la concentración adicionada teóricamente [19].

3.5. Limpieza y pre-concentración de muestras ambientales, mediante extracción en fase sólida de muestras ambientales

La preparación de la muestra, ya sea del tipo ambiental, biomédico o farmacéutico, requiere mucho tiempo para ponerla a punto para el análisis y de esto depende que se tenga una mayor precisión y exactitud para la cuantificación del analito de interés. La limpieza de la muestra puede tomar aproximadamente el 80% del tiempo de análisis total, e incluye la dilución, precipitación, filtración y procesos de centrifugación. La pre-concentración de los analitos es importante (especialmente en el análisis de trazas), puesto que permite tanto su almacenamiento, con lo que se asegura que no se degrade, como su transporte; incluso esto permite la realización de un análisis adecuado del mismo. Se aplica con el fin de separar los analitos de los componentes de la matriz que interfieren con el análisis [20, 24].

Hay muchas técnicas de preparación que se pueden utilizar individualmente o de forma secuencial de acuerdo con la complejidad de la muestra, la naturaleza de la matriz, los analitos y las técnicas instrumentales disponibles. La extracción líquido-líquido ha sido, sin duda, una de las más empleadas. A continuación se enlista algunas de las ventajas y desventajas de este método [20]:

Ventajas

- Separación de analitos sensibles al calor sin necesidad de realizar una destilación a vacío o presión reducida.
- Extracción selectiva de los analitos al seleccionar un buen disolvente.
- Extracción de analitos líquidos, como aceites y grasas.
- Fácil eliminación del disolvente a emplear para una buena purificación del analito.

Desventajas

- El tiempo necesario para tratar la muestra.
- Volúmenes de muestra relativamente grandes.
- Uso de grandes volúmenes de disolvente orgánicos.
- La necesidad de disolventes ultrapuros.
- La formación de emulsiones.
- Generación de grandes cantidades de residuos.

La extracción en fase sólida (EFS) fue introducida en la década de 1970 y reduce las desventajas de la extracción líquido-líquido. La EFS se logra mediante la interacción de tres componentes: el adsorbente, el analito y el disolvente. El principio de este método es similar a la extracción líquido-líquido, que implica una partición de compuestos entre dos fases; los analitos al ser extraídos se reparten entre un sólido y un líquido (en lugar de entre dos líquidos inmiscibles) y estos analitos deben tener una mayor afinidad por la fase sólida que por la matriz de la muestra (retención o etapa de adsorción). Los compuestos retenidos en la fase sólida se pueden eliminar en una etapa posterior mediante la elución con un disolvente que tenga mayor afinidad por los analitos (elución o etapa de desorción). Los adsorbentes utilizados en EFS son porosos y los analitos siguen la ruta de difusión a través de los poros hasta que alcanzan la superficie y reaccionan por un mecanismo específico. El mejor mecanismo y los procedimientos de extracción en fase sólida se definen por las características del analito en la muestra [20, 24].

Algunas de las ventajas de la extracción en fase sólida en comparación con la extracción líquido-líquido son [22]:

- Reducción de la exposición y consumo de disolventes orgánicos.
- Reducción de costos.
- Se evita la formación de emulsiones.
- Pre-concentración de los analitos.
- La posibilidad de fraccionamiento y muestreo en campo.
- Almacenamiento seguro hasta que se analicen los analitos.
- La posibilidad de automatización y en línea con los sistemas cromatográficos.

A continuación se enlistan algunos pesticidas que se han monitoreado en diferentes matrices empleando la EFS como método de pre-concentración:

Pesticida	Tipo de matriz	Método de cuantificación	Límite de detección	Ref.
Atrazina	Brócoli, manzanas, col, fresas	HPLC-UV	0.004 a 0.007 mg/Kg	27
Paraquat	Orina y sangre	Espectrofotometría	0.02 mg/L	25
Paraquat Diquat Difenzoquat	Agua de la llave (250 mL)	HPLC-MS	1.8 µg/L 0.1 µg/L 0.05 µg/L	25
Paraquat Diquat Difenzoquat	Agua (50 mL)	HPLC-UV	50 ng/L	25
Paraquat Diquat	Aceite (1 g)	HPLC-UV	0.4 µg/g 0.2 µg/g	25
Cloromequat Mepiquat	Granos (10 g)	HPLC-MS-MS	6 µg/Kg 2 µg/Kg	25

3.5.1. Tipos de adsorbentes

El primer paso para desarrollar el método de EFS es la selección de adsorbente, el cual se determina con base a las características del analito, en particular de sus propiedades fisicoquímicas como la polaridad, el pKa y la solubilidad, así como la naturaleza de la matriz [4].

Para la selección de la cantidad o masa de adsorbente a utilizar, es importante tener en cuenta el volumen de muestra, la concentración de analito y qué tanto se necesita pre-concentrar el analito para alcanzar la sensibilidad deseada [21, 23].

A continuación se resumen los tipos de adsorbentes empleados en EFS [21, 23]:

Tipo de adsorción	Tipo de adsorbente	Interacción. Mecanismo de retención	Criterio de selección
Fase normal Adsorbente polar- eluyente no polar	Gel de sílice, alúmina, silicato de magnesio (florisil), CN y tierra de diatomeas.	Interacciones dipolo-dipolo, enlaces de hidrógeno, interacciones π - π e interacciones dipolo-dipolo inducido	Compuestos de alta polaridad que se encuentran en matrices no polares.
Fase reversa Adsorbente no polar- eluyente polar	C8, C18, fenilo y fases poliméricas mixtas.	Interacciones hidrófobas (fuerzas de Van der Waals o de dispersión).	Extracción de baja a moderada polaridad o analitos hidrófobos a partir de matrices acuosas o amortiguadas.
Intercambio iónico	Intercambiadores débiles (RCO_2^- , RNH_3^+) o intercambiadores fuerte (SO_3^- , NR_4^+)	Atracción electrostática entre los grupos funcionales del adsorbente y el analito.	Compuestos de naturaleza iónica (cationes o aniones)

También se pueden usar otro tipo de adsorbentes basados en polímeros, los cuales tienen la ventaja de que se pueden emplear a cualquier pH sin la necesidad de modificar dicha variable en la muestra a analizar; debido a que son redes poliméricas macroporosas, éstas ofrecen una capacidad de carga superior a los adsorbentes convencionales de sílice. Los adsorbentes poliméricos más utilizados son el poliestireno-divinilbenceno (DVB-PS)[24].

3.5.2. Modo de operación

Los formatos en los que se puede trabajar la EFS son [23, 24]:

- Microcolumnas. Los caudales se encuentran limitados por el diámetro interno del dispositivo, comúnmente se tienen flujos de 1 a 10 mL/min.
- Cartuchos y cuerpo de jeringa. Consta de una jeringa de vidrio o de polipropileno que tiene dos fritas de 20 μm de tamaño de poro, en la parte inferior y superior de la jeringa, donde se encuentra confinado el adsorbente. Las fritas son generalmente de polietileno, acero inoxidable o teflón. Las jeringas varían en tamaño de 1 a 6 mL, con capacidad de adsorbente de 100 mg hasta 1 g.
- Discos. El adsorbente está embebido en microfibras de politetrafluoroetileno o fibra de vidrio; son de 47 mm de diámetro diseñados para uso con sistemas de filtración.
- Precolumnas. Fabricadas de acero inoxidable para resistir las altas presiones. Sus dimensiones van de 2 a 15 mm de longitud y de 1 a 4.6 mm de diámetro interno. Generalmente dicho sistema está conectado en línea con un cromatógrafo de líquidos.

3.5.3. Parámetros de la extracción en fase sólida (EFS)

Una vez que el modo de EFS ha sido seleccionado, así como el adsorbente adecuado, de acuerdo a la meta deseada de la extracción y las propiedades físico-químicas del analito y de la naturaleza de la matriz, se realizan las siguientes etapas que conforman un experimento típico de EFS: a. acondicionamiento, b. carga, c. lavado, d. elución y e. regeneración. Cabe mencionar que para obtener un protocolo de EFS adecuado es necesario optimizar cada una de estas etapas (figura 3.4) [20, 21, 22].

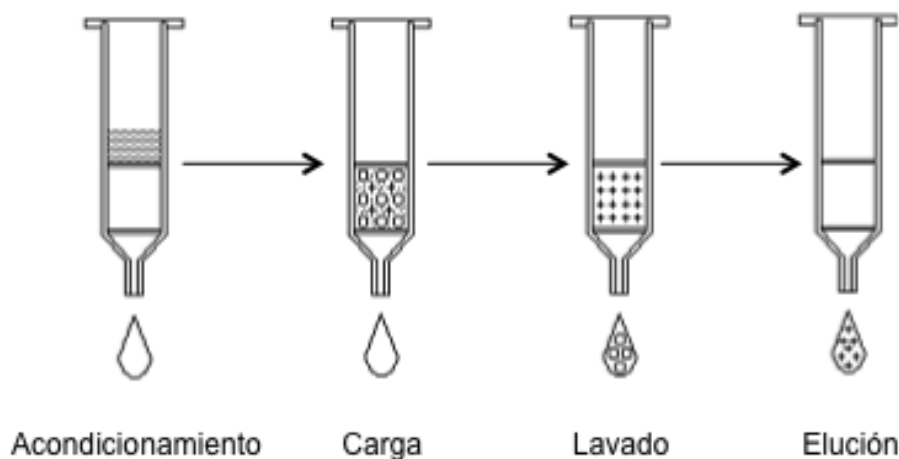


Figura 3.4. Esquema general de la extracción en fase sólida.

3.5.3.1. Acondicionamiento del adsorbente

En este paso se hace pasar un disolvente apropiado, generalmente orgánico, que acondiciona la superficie del sólido (con el fin de solvatar grupos funcionales del adsorbente y eliminar impurezas), permitiendo el hinchamiento de la resina y con esto un mayor número de sitios disponibles para que realice su función de retención. Posteriormente se introduce un disolvente de características similares a la matriz de la muestra para eliminar el disolvente utilizado en el acondicionamiento.

3.5.3.2. Carga de la muestra

Durante esta etapa se pasa a través del cartucho la muestra líquida con ayuda de la fuerza de gravedad, de un sistema de vacío o con una bomba de flujo peristáltico. Tiene como objetivo retener el/los analitos de interés (etapa de adsorción o retención) sin que éste o éstos se salgan del cartucho, es muy común que otros componentes indeseables de la matriz también se retengan durante esta etapa.

3.5.3.2.1. Volumen de fuga o de ruptura

El volumen de fuga ha recibido mucha atención para la optimización de los métodos de extracción, porque representa el máximo volumen de muestra que puede ser percolado a través del cartucho con un recobro teórico del 100% (cantidad de analito recuperada en la etapa de elución). La fuga ocurre cuando el analito de interés no es suficientemente retenido por el adsorbente o cuando la capacidad del adsorbente ha sido sobrecargada (saturada). En análisis ambiental donde la concentración del analito es baja, la fuga es causada principalmente por retención insuficiente. Este se puede determinar por medio de una curva de ruptura (fig. 3.5). La no adecuada determinación del volumen de fuga provocará errores críticos sobre la cuantificación del analito de interés, por lo que es de suma importancia su caracterización [22, 26].

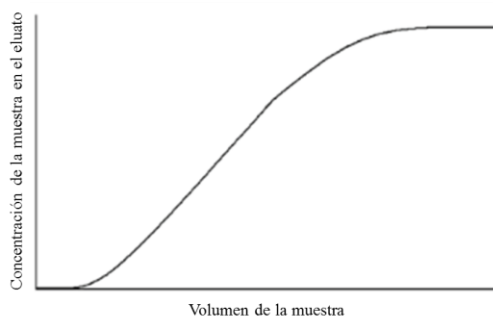


Figura 3.5. Gráfico para determinar volumen de fuga o ruptura.

3.5.3.3. Limpieza o lavado del adsorbente

Ya que es muy común que durante la etapa de la carga de la muestra se queden retenidas especies indeseables en el cartucho de SPE, es necesario pasar a través del cartucho un disolvente que tenga la capacidad de eluirlos del cartucho sin la remoción del analito o analitos de interés.

3.5.3.4. Recuperación o elución del analito

En esta etapa se eluyen los analitos de interés del adsorbente utilizando un disolvente orgánico apropiado o una disolución acuosa, cuyo volumen sea menor que el volumen inicial utilizado durante la etapa de carga de la muestra, que permita realizar la concentración del analito antes de su respectiva determinación.

3.6. Extracción en fase sólida del paraquat

Debido a que el paraquat es de naturaleza catiónica (fig. 3.1, tabla 3.1), para obtener una pre-concentración de este analito se pueden emplear resinas de intercambio iónico, que tienen dentro de su composición ácido sulfónico o grupos funcionales de ácidos carboxílicos unidos a sílice o polímeros utilizados para la extracción catiónica fuerte y débil, respectivamente.

La resina de intercambio catiónico más ampliamente utilizada es Dowex 50-X8 (forma Na^+), que es un intercambiador de ácido fuerte con un poliestireno-divinilbenceno, con el que se han obtenido resultados aceptables para la pre-concentración y recuperación del paraquat.

Para obtener resultados exitosos es necesario considerar el pH y la fuerza iónica del medio. El pH de la muestra debe ser mayor que 3.5, debido a que el compuesto de interés puede hidrolizarse por debajo de este pH. Esto no representa un problema, ya que el pH de las muestras naturales se encuentra, generalmente, entre 5 y 8. Por otro lado, la fuerza iónica desempeña un papel importante, debido a que afecta la retención de paraquat, ya que otros cationes presentes en la muestra pueden también retenerse disminuyendo la eficiencia de la retención del paraquat.

En cuanto a los eluyentes a elegir para realizar la desorción del analito generalmente se utilizan disolventes o soluciones salinas de ácido, para que el coeficiente de reparto en un sistema de fase sólida / disolvente o disolución dada favorezca la elución (por ejemplo $\text{NH}_4^+ > \text{K}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Na}^+$), teniéndose una diferencia en la eficiencia de la extracción. Algunas fuentes indican el uso de una disolución de cloruro de amonio como eluyente [24, 25].

3.7. Degradación fotocatalítica

En la actualidad, el cuidado y la protección de los cuerpos de agua dulce se ha convertido en una tarea primordial de muchos países y organismos multinacionales como la Organización de Naciones Unidas (ONU), por ser una problemática que está directamente relacionada con el desarrollo y la salud humana [28].

La industria química genera contaminantes de muy diversa índole, lo que ha conducido a la implementación de diferentes métodos para la remoción de contaminantes presentes en aguas residuales, sin que se logre en la mayoría de los casos, una solución adecuada del problema debido a que los contaminantes suelen ser recalcitrantes y no biodegradables, dejando intacta la estructura química de algunos de ellos o generando intermediarios que resulten ser más tóxicos que los contaminantes mismos. En consecuencia, se hace necesaria la búsqueda de métodos efectivos para la completa remoción con compuestos químicos que permitan que las aguas contaminadas puedan restaurarse a una condición de reuso [28].

Una alternativa para esta problemática son las Tecnologías Avanzadas de Oxidación (TAOs) que se proponen para el tratamiento de aguas contaminadas con sustancias antropogénicas difícilmente biodegradables. Estas tecnologías involucran la generación y uso de especies transitorias, principalmente el radical hidroxilo, el anión superóxido y el electrón solvatado, con un alto potencial de oxidación, los cuales atacan a los contaminantes en el agua transformándolos finalmente a especies inocuas o más oxidadas y por ende más susceptibles de ser tratadas utilizando métodos biológicos convencionales. Dentro de los TAOs se destaca la Fotocatálisis Heterogénea (FH) con TiO_2 , por ser una tecnología capaz de oxidar gran cantidad de compuestos refractarios, tener bajo costo de insumo químico y baja toxicidad, lo que permite tratar mezclas complejas de contaminantes [28].

3.7.1. Introducción a los diferentes tipos de catálisis

Un catalizador acelera una reacción química; esto ocurre mediante la formación de enlaces de las moléculas reaccionantes con el catalizador, dando como resultado un producto, que se separa del catalizador, el cual, queda inalterado tal que está disponible para la siguiente reacción. Se puede describir la reacción catalítica como un evento cíclico en el que el catalizador participa y se recupera en su forma original al final del ciclo (fig. 3.6) [29].

En una reacción espontánea, la reacción catalítica empieza por la unión de los reactivos con el catalizador, por lo que la formación de este complejo es exotérmica, provocando que la energía de activación disminuya y que los reactivos reaccionen unidos al catalizador. Finalmente, el producto formado se separa del catalizador en un etapa endotérmica [29].

Los catalizadores pueden estar constituidos de formas diferentes, que pueden ser desde átomos y moléculas simples, hasta grandes estructuras como las zeolitas o las enzimas; además de que se pueden emplear en diversos entornos: líquidos, gases o en la superficie de los sólidos [29].

La catálisis se puede dividir en tres tipos: catálisis homogénea, catálisis heterogénea y biocatálisis [29].

3.7.1.1. Catálisis homogénea

En la catálisis homogénea, los reactivos y el catalizador se encuentran en la misma fase, es decir, todas las moléculas se pueden encontrar en forma gaseosa o más comúnmente en fase líquida [29]. Se puede tener mayor información sobre el mecanismo de reacción y por consecuencia se puede dominar mejor el proceso catalítico correspondiente. Uno de los inconvenientes que presenta este tipo de catálisis es la dificultad de separar el catalizador del medio reaccionante, lo que presenta un mayor costo que el de los procesos heterogéneos convencionales.

3.7.1.2. Biocatálisis

Las enzimas son los catalizadores naturales. Una enzima es una proteína de elevado peso molecular, que posee un sitio activo específico, que orienta a las moléculas (sustratos) de forma óptima para que ocurra la reacción. Las enzimas son catalizadores altamente específicos y eficientes [29].

3.7.1.3. Catálisis heterogénea

En la catálisis heterogénea, se emplean sólidos que catalizan las reacciones ya sea en medio gaseoso o medio acuoso. Los sólidos utilizados son comúnmente impenetrables, a menos que sean porosos, llevándose a cabo la reacción catalítica en la superficie de dicho material. A menudo estos materiales son muy caros y el tamaño de partícula es del orden de unos cuantos nanómetros, por lo que se encuentran apoyados en una superficie inerte porosa [29].

El proceso general de esta catálisis se puede dividir en cinco pasos independientes [30]:

1. Transferencia de los reactivos de la fase del fluido a la superficie.
2. Adsorción de al menos uno de los reactivos.
3. Reacción en la fase adsorbida.
4. Desorción del producto formado.
5. Remoción de los productos de la región interfacial.

Un paso fundamental de la catálisis heterogénea es la adsorción del reactivo sobre la superficie del catalizador. Es por ello que muchas veces es importante que el catalizador disponga de una extensa área específica donde los reactivos puedan adsorberse, por lo que normalmente se emplean sólidos porosos que proporcionan extensas áreas superficiales (interna + externa) por unidad de masa de sólido (fig. 3.6) [53].

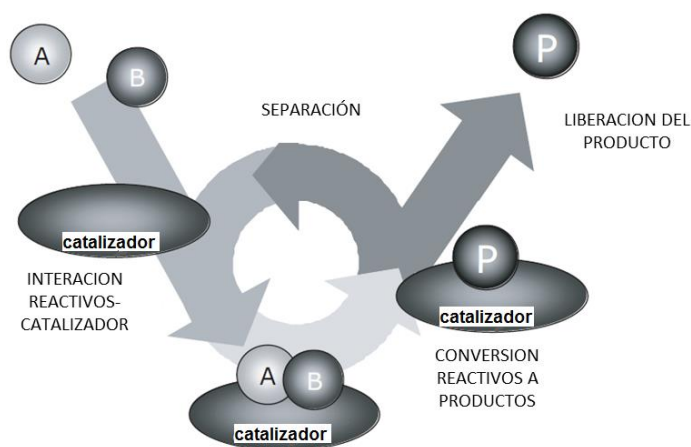


Figura 3.6. Esquema general de un sistema catalítico.

3.7.2. Fotólisis

La fotólisis está referida como el proceso de irradiar una molécula con luz visible o ultravioleta para originar una transición electrónica en la misma, la cual, es originada por la absorción de un cuanto de energía. El proceso continúa por la excitación de un electrón desde su estado basal a otro de más energía, siempre y cuando la energía de irradiación sea suficiente para llevar el electrón de un orbital a otro. La reacción de fotólisis consiste en la ruptura de uno o varios enlaces de la molécula catalizada mediante energía lumínica [31, 32].

Para iniciar la reacción fotoquímica se requiere que la molécula orgánica absorba un fotón para pasar a un estado electrónicamente excitado. Para ello, se requiere que la molécula absorba luz en longitudes de onda en la región del espectro UV-vis (entre 200 y 800 nm), debido a que en 800 nm se obtiene la mínima energía

para llevar a cabo la excitación electrónica. En las moléculas orgánicas, la absorción de la luz en estas longitudes de onda, se debe a la presencia de grupos cromóforos. La cantidad de radiación UV que una molécula puede absorber está directamente relacionada con su estructura molecular y casi todas las moléculas orgánicas que absorben luz con longitudes de onda correspondiente al UV-vis, son moléculas que presentan enlaces dobles en su estructura [33, 34].

La fotólisis puede llevarse a cabo de dos maneras diferentes [35]:

- Fotólisis directa. La molécula debe absorber energía suficiente para que se genere la ruptura de sus enlaces químicos.
- Fotólisis indirecta. La molécula no absorbe luz, sin embargo, en el mismo sistema se encuentra otra molécula, sólida o gaseosa, que si absorbe luz y transfiere la energía absorbida para llevar a cabo la fotólisis. Uno de los casos más comunes de la fotólisis indirecta en un sistema acuoso, es la formación de radicales libres.

3.7.3. Fotocatálisis heterogénea

La fotocatalisis heterogénea es una disciplina que incluye una gran variedad de reacciones: oxidaciones suaves o totales, deshidrogenación, transferencia de hidrógeno, intercambio isotópico de oxígeno e hidrógeno, depósito de metales, descontaminación de agua, remoción de contaminantes gaseosos, acción bactericida, entre otros. Puede realizarse en diferentes medios: en fase gaseosa, en fases líquidas orgánicas o en disoluciones acuosas [30].

La única diferencia que se tiene con respecto a la catálisis heterogénea convencional, es el modo de activación del catalizador, ya que la activación térmica es reemplazada por una activación fotónica. El modo de activación no tiene relación con los pasos 1, 2, 4 y 5, descritos anteriormente, aunque si existen la fotoadsorción y la fotodesorción de algunos reactivos, principalmente el oxígeno. El paso 3 contiene todos los procesos fotoelectrónicos y puede descomponerse de la siguiente manera [30]:

3. Reacción en la fase absorbida.

3a. Absorción de los fotones por el sólido pero no por los reactivos.

3b. Creación de pares de electrón-hueco que se disocian en fotoelectrones y fotohuecos positivos (vacancias electrónicas).

3c. Reacciones de transferencia de electrones tales como ionización, neutralización de cargas, formación de radicales libres, entre otras.

3.7.3.1. Principio de la fotocatalisis heterogénea

Cuando un catalizador semiconductor (SC) de tipo calcogenuro (óxidos o sulfuros) es iluminado con fotones cuya energía es igual o superior a la de la energía de banda prohibida ($E_G = h\nu$), ocurre una absorción de estos fotones y una creación dentro del conjunto de pares electrón-hueco, que se disocian en fotoelectrones libres en la banda de conducción y en fotohuecos en la banda de valencia [30].

Simultáneamente, en presencia de una fase fluida, ocurre una adsorción espontánea y, dependiendo del potencial redox (o nivel de energía) de cada adsorbato ($A_{(ads)}$), se verifica una transferencia de electrones (e^-) hacia las moléculas aceptoras, mientras que en un fotohuevo positivo (h^+) es transferido a una molécula donadora ($D_{(ads)}$) (fig. 3.7). El proceso fotocatalítico se puede expresar con las siguientes ecuaciones [30]:

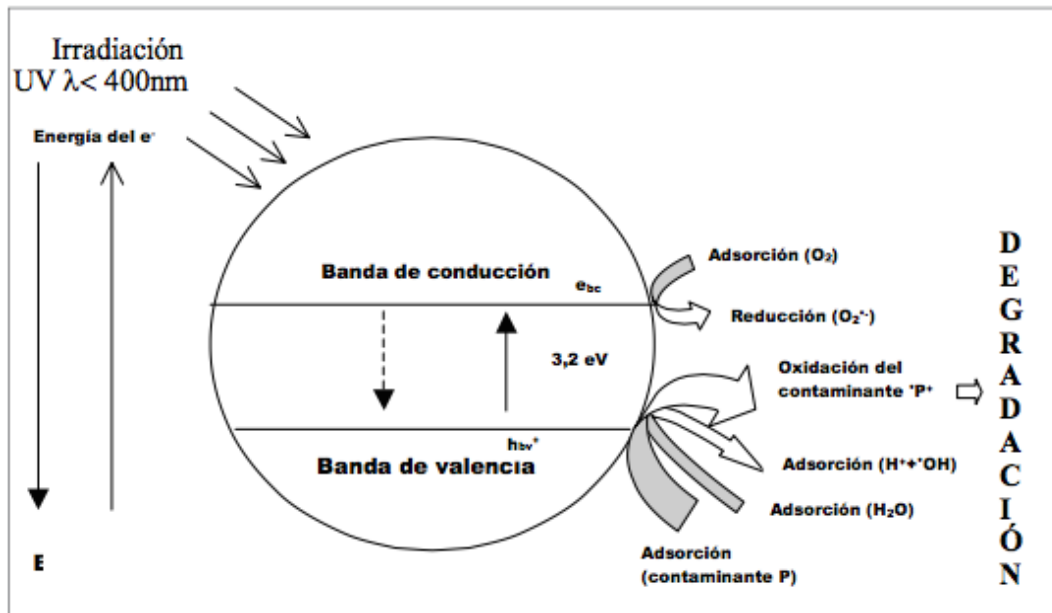
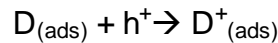
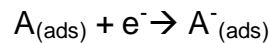
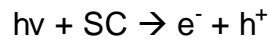
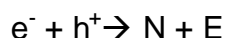


Figura 3.7. Diagrama de la banda de energía de una partícula esférica de dióxido de titanio [30].

Cada ion formado reacciona para producir los intermediarios y productos finales. Como consecuencia de las reacciones anteriores, la excitación fotónica del catalizador aparece como el primer paso de la activación de todo el sistema de catálisis. De allí que el fotón eficiente debe considerarse como un reactivo y el flujo

de fotones como una fase fluida especial. La energía del fotón debe adecuarse a las propiedades de absorción del catalizador y no a la de los reactivos. La activación del proceso pasa por la excitación del sólido pero no por la de los reactivos: no hay proceso fotoquímico en la fase adsorbida sino un verdadero régimen fotocatalítico heterogéneo [30].

La actividad fotocatalítica puede verse reducida por la recombinación del par electrón-hueco para formar un centro neutro (N) con la liberación de una cantidad de energía (E), igual a la del fotón absorbido, normalmente en forma de calor [30].



3.7.3.2. Catalizadores

Los calcogenuros más comúnmente empleados como catalizadores son los siguientes: TiO_2 , ZnO , CeO_2 , ZrO_2 , SnO_2 , Sb_2O_4 , CdS , ZnS , entre otros. En general, se ha observado que los mejores desempeños fotocatalíticos con máximos rendimientos se obtienen siempre con dióxido de titanio. Además, la anatasa es la forma alotrópica más activa entre las diferentes formas disponibles, ya sea natural o artificial (rutilo y brookita) [30].

3.7.3.3. Influencia de los parámetros físicos en la fotocatalisis heterogénea

Dentro de los parámetros físicos que influyen en mayor medida sobre la fotocatalisis heterogénea se encuentran la masa del catalizador, la longitud de onda de trabajo, la temperatura del medio de reacción y el efecto de las nanopartículas metálicas sobre el semiconductor. A continuación se describen con mayor detalle cada uno de ellos.

- Masa del catalizador. La masa óptima de catalizador a emplear debe elegirse de tal manera que no se tenga un exceso del mismo que pueda provocar el “efecto sombra”, es decir, que se filtre la luz irradiada debida a las partículas de exceso y no se ilumine por completo la superficie del catalizador. Se sugiere utilizar entre 0.2 y 2.5 mg/L del catalizador en fotoreactores batch tipo slurry (sólidos en suspensión) [30].
- Longitud de onda. Las variaciones de la velocidad de reacción en función de la longitud de onda siguen el espectro de absorción del catalizador, con un umbral correspondiente a la energía de banda prohibida (E_G). Para el TiO_2 , con $E_G = 3.02$ eV, es necesario una longitud de onda (λ) igual a 370 nm, es decir, longitudes de onda que corresponden al UV cercano [30].
- Temperatura. Debido a la activación fotónica, no es necesario calentar el sistema fotocatalítico, ya que puede funcionar a temperatura ambiente [30].
- Efecto de las nanopartículas metálicas sobre el semiconductor. Las nanopartículas metálicas realizan la separación del electrón-hueco,

actuando así para separar el electrón y promover la reacción, amplían la absorción ligera en la longitud de onda y realizan la excitación superficial del electrón por las resonancias del plasmón excitadas por la luz visible, y modifican las características superficiales del fotocatalizador [44].

3.7.3.3.1. Efecto de la modificación en superficie con nanopartículas metálicas resumir

El depósito de metales de transición, tales como Pt, Rh, Au, Cu y Ag, en la superficie de TiO_2 , usualmente mejora la actividad catalítica, al actuar estos metales como co-catalizadores. El contacto del metal con el semiconductor mejora de manera indirecta el proceso interfacial de transferencia de carga. Esto debido a que las nanopartículas metálicas depositadas en la superficie del catalizador modifican el nivel de Fermi del semiconductor [46].

El nivel de Fermi de un sólido es el resultado del principio de exclusión de Pauli, el cual indica que dos electrones no pueden existir en estados energéticos idénticos. Cuando un sólido es llevado a la temperatura de cero absoluto, los electrones se encuentran en los niveles más bajos de energía disponibles, constituyendo el mar de Fermi. El nivel más alto del mar de Fermi es llamado energía de Fermi o nivel de Fermi; en los metales y semiconductores el nivel de Fermi se encuentra entre la banda de conducción y la de valencia. En el cero absoluto, ningún electrón puede ocupar niveles de energía más allá del nivel de Fermi, mientras que a temperaturas mayores del cero absoluto el nivel de Fermi permite determinar la probabilidad de que un electrón se encuentre en un determinado estado de energía [49].

La actividad fotocatalítica en los semiconductores modificados en superficie se ve mejorada debido a que los electrones, después de haber sido foto-excitados, migran al metal donde quedan atrapados, inhibiendo la recombinación del par hueco-electrón. El fotohueco formado en la banda de valencia usualmente queda libre para migrar a la superficie del catalizador, permitiendo que la degradación oxidativa del compuesto orgánico se lleve a cabo. Lo anterior se debe a que el cambio en el nivel de Fermi disminuye la diferencia de potencial entre el nivel de Fermi y la banda de conducción del TiO_2 , lo cual facilita la acumulación de electrones en las nanopartículas del metal y eleva el nivel de Fermi muy cerca de la banda de conducción del semiconductor. Ello implica que tanto el nivel de Fermi del metal como el del semiconductor llegan a un nuevo estado de equilibrio, al mismo tiempo que los huecos formados por foto-excitación de electrones migran a la superficie del TiO_2 reaccionando con las moléculas orgánicas presentes en la fase acuosa. A este fenómeno se le conoce como barrera de Schottky. La formación de esta barrera ocasiona que el par metal-semiconductor funcione como

una trampa de electrones que incrementa la eficiencia del fotocatalizador en el espectro de luz visible [36, 46, 47, 48].

3.8. Descontaminación fotocatalítica del agua

3.8.1. Contaminantes inorgánicos

Es posible convertir diferentes aniones tóxicos en compuestos inofensivos o menos dañinos mediante un proceso de oxidación fotocatalítica utilizando TiO_2 como fotocatalizador. Por ejemplo, el nitrito se oxida a nitrato, el sulfuro, sulfito y tiosulfato se convierten en sulfato, mientras el cianuro se convierte en isotiocianato, nitrógeno o nitrato. En general, el elemento central (S, N, P, C, etc.) pasa a su estado de oxidación máximo [30].

3.8.2. Contaminantes orgánicos

Es importante establecer correlaciones entre la estructura molecular de los contaminantes y su capacidad de degradación fotocatalítica, así como conocer los diferentes intermediarios para tener una idea de la degradación y para determinar si se generan compuestos tóxicos y estables [30].

En el caso de los compuestos aromáticos, la desaromatización es rápida, aun en los casos en los que se desactiva a los sustituyentes del anillo aromático. Esto fue observado para los siguientes sustituyentes: Cl, NO_2 , CONH_2 , CO_2H y OCH_3 . Si una cadena alifática está ligada al anillo aromático, la ruptura del enlace es sencilla, como se observa en la descomposición fotocatalítica del herbicida 2,4-D.

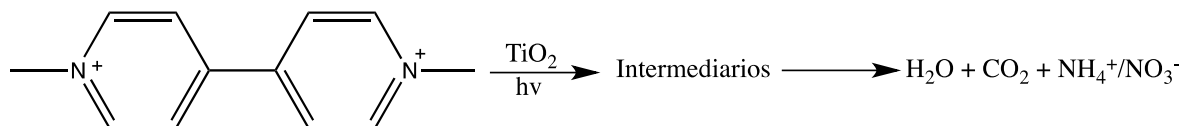
La oxidación de los átomos de carbono en CO_2 es relativamente sencilla. Sin embargo, en general, es marcadamente más lenta que la desaromatización de la molécula. Hasta ahora, la ausencia de una mineralización total se ha observado sólo en el caso de los herbicidas s-triazinas, debido a la gran estabilidad del anillo aromático que resiste la mayoría de los métodos de oxidación. Las moléculas cloradas liberan fácilmente iones Cl^- a la solución; las moléculas que contienen nitrógeno se mineralizan convirtiéndose en NH_4^+ y principalmente NO_3^- . Ambos iones son relativamente estables y su proporción depende principalmente del grado de oxidación inicial del nitrógeno y del tiempo de irradiación. Los contaminantes que contienen azufre se mineralizan en iones SO_4^{2-} y los plaguicidas organofosforados producen iones PO_4^{3-} , los cuales se pueden adsorber a la superficie del TiO_2 inhibiendo parcialmente la velocidad de la reacción. [30].

3.9. Reacción fotocatalítica de paraquat

Se ha demostrado que los diferentes plaguicidas pueden ser degradados mediante procesos microbiológicos y fotoquímicos. Algunos estudios indican que el paraquat se degrada a los intermediarios monoquat, monopiridona, ácido picolínico y ácido succínico [37, 38, 45]. Por otro lado, los procesos microbiológicos de degradación del paraquat son muy largos y requieren tiempos extensos de incubación [37].

Algunos autores han estudiado la degradación fotocatalítica del paraquat empleando TiO_2 , a una concentración de pesticida de 40 mg/L en presencia de oxígeno [37, 38].

En un experimento con fotólisis directa empleando luz UV, se encontró la degradación del 60% del paraquat en menos de tres horas de reacción. Para monitorear la presencia de paraquat en dichos experimentos, se realizó un barrido de longitud de onda entre 210 y 340 nm, debido a que el paraquat muestra una señal fuerte en UV a 257 nm [37]. Se logró demostrar la presencia de los iones nitrato y amonio empleando cromatografía de iones y electrodos selectivos [38]. Un esquema general de degradación del paraquat es la siguiente:



La concentración del catalizador (TiO_2) que se ha empleado en estudios anteriores se encuentra comprendida entre 0.08 g/L y 0.4 g/L. También se ha monitoreado el contenido del carbono orgánico total (TOC) en estos experimentos. Se ha sugerido que mientras más disminuya la concentración del fotocatalizador, cuando el número de sitios activos es inferior a lo óptimo, el sustrato podría competir con sus intermediarios de degradación, observándose una disminución en la tasa de degradación, debido a que estos intermediarios se adsorben sobre la superficie del catalizador [38].

Por otro lado, se han reportado algunos experimentos donde se ha dopado el TiO_2 con vanadio (conocido como V- TiO_2), que a su vez ha sido dopado con fulereno (llamado C60/V- TiO_2), se demostró que el segundo compuesto tuvo mayor poder fotocatalítico que el V- TiO_2 y el TiO_2 por sí mismo, siendo capaz de degradar en un 70%, una disolución de paraquat de 50 mg/L en cuatro horas. También se encontró que la degradación es más eficiente para concentraciones altas de paraquat, ya que a concentraciones bajas, la reacción es más lenta [39].

IV. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1. Instrumentación

4.1.1. Equipo y materiales

- Espectrofotómetro marca Thermo Scientific Evolution, modelo 201.
- Purificador y desionizador de agua Milli-Q marca Millipore®, modelo 185.
- Bomba isocrática serie I, marca Scientific Systems, Inc.
- Balanza analítica con capacidad de 210 g y precisión de 1 mg, marca OHAUS®, modelo Explorer.
- Para la determinación de los cationes y aniones presentes en las muestras se utilizó un cromatógrafo de líquidos de alta resolución constituido de dos bombas binarias de la marca Waters modelo 1525, un automuestreador marca Waters modelo 717 plus y un detector de conductividad de la marca Waters modelo 432 como método de análisis.
- ICP-OES, marca Perkin Elmer, modelo óptima 8300.
- Espectrofotómetro UV-vis-NIR, marca Agilent, modelo Cary 5000.
- Equipo TOC-LC/SH/CPH, marca Shimadzu.
- Lámpara de UV marca Pen-Ray de 15 W.
- Cartucho marca Oasis® MCX 6 cc, marca Waters
- Reactor batch de vidrio con doble pared de 250 mL.
- Filtros de nylon para jeringa de tamaño de poro de 0.45 µm marca Millipore®.

4.1.2. Reactivos y disolventes

- Cloruro de amonio (NH₄Cl), estándar analítico JT Baker.
- Hidróxido de sodio (NaOH), estándar analítico Sigma Aldrich.
- Paraquat, PESTANAL grado analítico Sigma Aldrich.
- Ditionito de sodio (Na₂O₄S₂), grado técnico (85%) Sigma Aldrich.
- Agua ultrapura de resistividad 18.2 MΩ•cm a 25°C.
- Ácido clorhídrico, grado reactivo, Sigma Aldrich.
- Acetonitrilo CHROMASOLV® Plus, grado CLAR (≥99.9%), Sigma Aldrich.
- Metanol CHROMASOLV® Plus, grado CLAR (≥99.9%), Sigma Aldrich.
- HAuCl₄·3H₂O al 99%, Sigma Aldrich.
- AgNO₃, grado reactivo, Sigma Aldrich.
- Cu(NO₃)₂·2.5H₂O al 99%, Sigma Aldrich.
- Urea al 99%, Sigma Aldrich.
- TiO₂ comercial Evonik P25, Sigma Aldrich

4.2. Método experimental

4.2.1. Desarrollo del método espectrofotométrico

Para la determinación del paraquat en muestras de agua, se empleó como referencia el método desarrollado por la EPA, en el cual se cuantifica este compuesto en suelos empleando espectrofotometría como método de análisis [55]. Se realizó una reacción de óxido-reducción del paraquat con ditionito de sodio en medio básico, la cual produce un radical de color azul, cuyo máximo de absorción se encuentra a una longitud de onda de 394 nm. La reacción que ocurre entre el paraquat y el ditionito se presenta en la figura 3.3.

A continuación se describen las soluciones empleadas para el desarrollo del método analítico propuesto:

- Cloruro de amonio (NH_4Cl) al 2.5% m/v.
- Hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 mol/L.
- Ditionito de sodio ($\text{Na}_2\text{O}_4\text{S}_2$) al 0.8 % m/v en NaOH 0.1 mol/L. Esta disolución fue preparada en el momento en el que se iba a utilizar, evitando agitación violenta, debido a que este compuesto es inestable.
- Solución madre de aproximadamente 1000 mg/L de paraquat. Para la elaboración de esta disolución se empleó NH_4Cl al 2.5% m/v como disolvente. La solución se almacenó en un frasco ámbar y se refrigeró para evitar la degradación del analito.
- Todas las disoluciones estándares empleadas para construir las curvas de calibración, así como los estándares de verificación, fueron preparados mediante la dilución de la solución madre de aproximadamente 1000 mg/L antes mencionado en el momento de su análisis.

4.2.1.1. Características espectrofotométricas de análisis

Con el fin de establecer la longitud de onda adecuada para monitorear el paraquat, a través de la reacción de derivatización con ditionito de sodio, se realizó un barrido de longitud de onda entre 360 y 440 nm de una disolución del analito de concentración conocida (4.0 mg/L).

4.2.2. Validación del método instrumental

Una vez seleccionadas las condiciones del medio de reacción de derivatización, así como las características espectrofotométricas de análisis, se procedió con la obtención de los parámetros típicos de una validación analítica, empleando aguas desionizada y reactivos, los cuales son: intervalo lineal y de trabajo, exactitud, precisión, límites de detección y de cuantificación.

4.2.2.1. Intervalo lineal y de trabajo

Con este fin se prepararon soluciones de estándares de concentración de paraquat comprendidos entre 0.01 y 14 mg/L en NH₄Cl al 2.5% m/v a partir de la solución madre de ~1000 mg/L. Cada curva de calibración fue preparada por triplicado y para su correcta evaluación fue necesario contar con al menos siete niveles de concentración.

4.2.2.2. Precisión

Para ello se seleccionaron dos niveles de concentración (0.5 y 5.0 mg/L). Cada nivel de concentración fue preparado por triplicado de manera independiente. El análisis de datos se realizó mediante el cálculo del porcentaje del coeficiente de variabilidad (%CV) (Ec. 3.3).

4.2.2.3. Exactitud

Este parámetro instrumental fue calculado a partir de la cuantificación de tres soluciones independientes de paraquat para dos niveles de concentración (0.8 y 4.0 mg/L) empleando agua desionizada y reactivos. Con los valores de absorbancia determinados y los parámetros de regresión calculados de las curvas de calibración, se determinó la concentración de cada estándar y se comparó con el valor conocido. La exactitud se evaluó mediante el porcentaje de error (Ec. 3.5).

4.2.2.4. Límite de detección experimental

Se realizó la determinación de la absorbancia de siete soluciones de una concentración muy baja del analito (0.04 mg/L). Con los valores de absorbancia determinados se calcularon la media y su desviación estándar. El límite de detección se reporta de acuerdo a lo establecido por Miller y Miller (Ec. 3.1) [13]. Posteriormente, con la ecuación de la curva de calibración (Ec. 5.1) se obtuvo el límite de detección en unidades de concentración.

4.2.2.5. Límite de cuantificación experimental

Se realizó el mismo procedimiento experimental que el reportado para el límite de detección. El límite de cuantificación se reporta de acuerdo a lo establecido por Miller y Miller (Ec. 3.2) [13]. Con la ecuación de la curva de calibración (Ec. 5.1) se obtuvo el límite de cuantificación en unidades de concentración.

4.2.2.6. Evaluación de la presencia del efecto matriz

Con este fin se compararon curvas de calibración independientes, donde se prepararon cinco niveles de concentración conocida que se encontraban en el intervalo lineal de trabajo. Una curva fue preparada con reactivos y agua desionizada y la segunda se utilizó como disolvente una muestra de agua de lago, proveniente de Montebello, y reactivos.

4.2.2.7. Recobros

4.2.2.7.1. Características de las muestras de origen ambiental

El sistema de análisis espectrofotométrico desarrollado fue utilizado para la determinación de paraquat en 12 muestras acuosas ambientales: una muestra de agua de manantial y una muestra de agua residual, provenientes del Valle del Mezquital, Hidalgo, y 10 muestras provenientes de las lagunas de Montebello, Chiapas.

4.2.2.7.2. Preparación de las muestras de agua

Las muestras de agua fueron sometidas a un proceso de filtración al vacío con membranas de tamaño de poro de 0.45 μm . Una vez filtradas fueron conservadas en frascos de vidrio de color ámbar y en refrigeración a 4 °C. En una primera etapa, cada una de las muestras fue sometida al procedimiento para la generación del radical paraquat, anteriormente descrito, y analizadas por espectrofotometría con la finalidad de verificar la presencia del pesticida. Posteriormente, cada muestra fue fortificada con paraquat en dos niveles de concentración definidos (0.4 y 4.0 mg/L) para las muestras de agua manantial y residual, provenientes del Valle del Mezquital, y una muestra de lago, proveniente de las lagunas de Montebello. Los fortificados fueron leídos como muestras y por medio de curvas de calibración externas fue posible determinar su concentración. Adicionalmente se estudiaron nueve muestras de las lagunas de Montebello, las cuales fueron fortificadas a un solo nivel de concentración (4.0 mg/L), esto debido a que se consideró que dichas muestras provienen del mismo cuerpo de agua. Cabe mencionar que cada fortificado se preparó por triplicado, amortiguando la fuerza iónica con cloruro de amonio al 2.5% m/v, y el porcentaje de recobro fue calculado mediante la ecuación 3.6.

4.2.2.7.4. Tiempo de contacto

Se realizaron análisis de recobros en función del tiempo en que el pesticida interactuaba con la matriz, con el fin de analizar si la matriz podía contribuir a la degradación del pesticida, o si los componentes disueltos en la misma eran capaces de reaccionar con el paraquat, disminuyendo su concentración. Para esto se eligieron los siguientes tiempos: 0, 2, 5, 10, 19 y 30 días, en los que se analizó la muestra fortificada a dos niveles de concentración (0.4 y 4.0 mg/L), empleando tres matrices diferentes de agua de origen ambiental (manantial, río, lago). El fortificado se preparó solo una vez, conservándose la solución en frascos ámbar a temperatura ambiente y el análisis de cada fortificado se realizó por triplicado. El porcentaje de recobro fue calculado mediante la ecuación 3.6.

4.2.3. Optimización del método por extracción en fase sólida (EFS)

4.2.3.1. Establecimiento de las condiciones óptimas

Una vez validado el método instrumental para la cuantificación del paraquat, se optimizó la extracción del pesticida empleando cartuchos de EFS como método de preparación de muestra, utilizando una bomba de flujo constante (fig. 4.1). Los parámetros optimizados del cartucho de extracción se muestran a continuación (tabla 4.1):

Tabla 4.1. Condiciones optimizadas del cartucho de EFS.

Cartucho	Parámetros optimizados
Oasis® MCX 6 cc, marca Waters (intercambio catiónico)	Acondicionamiento
	Disolución de lavado
	Eluyente
	Volumen de ruptura
	Velocidad de flujo

Para llevar a cabo este procedimiento, se cargaron 10.0 mL de paraquat a una concentración de 20 mg/L.



Figura 4.1. Sistema de extracción en fase sólida (EFS) empleando una bomba isocrática.

4.2.3.2. Acondicionamiento, equilibramiento y lavado

En principio se emplearon las condiciones establecidas por el fabricante para desarrollar el proceso de EFS. Sin embargo, al ser un material genérico no selectivo, es preponderante optimizar las condiciones con el fin de maximizar la eficiencia del cartucho de extracción. Las condiciones optimizadas empleando una velocidad de flujo de 1 mL/min fueron las siguientes:

- Acondicionamiento: 3 mL de metanol grado cromatográfico.
- Equilibramiento: 3 mL de agua desionizada.
- Lavado: 5 mL de ácido clorhídrico 0.1 mol/L.

4.2.3.3. Selección del eluyente

Para elegir el mejor eluyente (tabla 4.2), se consideraron las investigaciones realizadas por Pico y colaboradores [6], donde se tomó al cloruro de amonio como principal constituyente de la mezcla a emplear. El eluato fue recolectado en fracciones de volumen conocido empleando un flujo de 1 mL/min y analizado por el método espectrofotométrico propuesto en el presente trabajo usando 1.0 mL de muestra y adicionando 4.0 mL de cloruro de amonio al 2.5% m/v y 2.0 mL de ditionito de sodio al 0.8% m/v. Para estos estudios, se empleó un blanco reactivo de cada eluyente utilizado debido a que no se cuenta con el método validado para cada uno de ellos.

Tabla 4.2. Eluyentes evaluados con diferente composición para la recuperación del paraquat.

Eluyente	Composición
NH ₄ Cl	5% m/v
	20% m/v
	25% m/v
	Solución saturada
NH ₄ Cl (5% m/v):Metanol	1:1
NH ₄ Cl (5% m/v):Acetonitrilo	60:40
NH ₄ Cl (25% m/v): Acetonitrilo	90:10

4.2.3.4. Selección del flujo de carga de la muestra

Con el fin de determinar el flujo al cual se debe cargar la muestra en el sistema de EFS, se fijó un volumen de carga de 10.0 mL a una concentración de 5.0 mg/L empleando los siguientes flujos: 1 mL/min, 2 mL/min, 3 mL/min y 4 mL/min. Para la elución del analito se recolectaron fracciones de volumen conocido de cloruro de amonio concentrado y se analizaron por el método descrito en el apartado 4.2.3.3.

4.2.3.4.1. Determinación del volumen de ruptura o fuga

Se evaluó el volumen en el cual el pesticida se fugaba del sistema, para lo cual, durante el paso de carga de la disolución problema, en cada experimento, se mantuvo una cantidad constante y conocida de paraquat (50 µg) en diferentes volúmenes de agua desionizada (tabla 4.3).

En todos los ensayos, el acondicionamiento, equilibramiento, lavado, flujo de carga de la muestra, elución y regeneración del cartucho fue realizado como a continuación se describe:

- Acondicionamiento: 3 mL de metanol grado cromatográfico.
- Equilibramiento: 3 mL de agua desionizada.
- Lavado: 5 mL de ácido clorhídrico 0.1 mol/L.
- Flujo de carga de la muestra: 4 mL/min.
- Elución: 10.0 mL de cloruro de amonio saturado.
- Regeneración: 50 mL de agua desionizada.

Cabe señalar que todos los pasos, excepto el flujo de la carga de la muestra, se realizaron empleando un flujo de 1 mL/min.

Tabla 4.3. Variación del volumen en la etapa de carga.

Volumen de disolución de paraquat (mL)	Concentración del paraquat (µg/mL)	Cantidad de paraquat cargada (µg)
10	5.0	50
25	2.0	
50	1.0	
100	0.5	
250	0.2	
500	0.1	

Se calculó el porcentaje de rendimiento o de recuperación para cada punto a optimizar empleando la siguiente ecuación:

$$\%R = \frac{\text{masa del pesticida eluido}}{\text{masa del pesticida cargada}} \times 100 \quad (\text{Ec. 4.1})$$

4.2.3.5. Evaluación del protocolo de EFS optimizado en muestras ambientales

Una vez determinadas las condiciones óptimas de extracción en condiciones libres de matriz es imperativo evaluar la eficiencia del protocolo de extracción en muestras de agua de origen ambiental.

Es por ello que se necesitó evaluar el protocolo de extracción de forma comparativa, es decir, sin tratamiento de muestra y con tratamiento de muestra previo al análisis. De esta forma se puede evaluar el efecto de interferencias en la matriz en una muestra ambiental.

En una primera etapa, se decidió realizar los ensayos sin utilizar el protocolo de tratamiento de muestra, por lo que se realizaron experimentos de recobro sobre muestras de agua ambientales, una muestra proveniente del río Amacuzac, Morelos, una muestra de agua de manantial y una muestra de agua residual, estas últimas dos provenientes del Valle del Mezquital, Hidalgo. Las muestras fueron fortificadas con paraquat para cinco niveles de concentración comprendidos entre 0.08 y 0.50 mg/L. Los fortificados fueron determinados por medio de curvas de calibración externas con la metodología validada. Cada fortificado se preparó por triplicado y el porcentaje de recobro fue calculado mediante la ecuación 3.6.

Posteriormente, y con el fin de comparar los recobros obtenidos sin el tratamiento de muestra, se decidió desarrollar el mismo procedimiento para muestras ambientales utilizando el protocolo de extracción en fase sólida optimizado en este trabajo.

Previo al tratamiento de la muestra por EFS, las muestras de agua fueron filtradas a través de un sistema de vacío empleando una membrana de tamaño de poro de 0.45 µm. Una vez filtradas, fueron conservadas en frascos de vidrio de color ámbar y en refrigeración a 4 °C.

Después, en el sistema de EFS se pre-concentraron 500.0 mL de muestra sin fortificar para verificar la presencia del pesticida. Finalmente 500.0 mL de cada muestra fue fortificada con paraquat en cinco y nueve niveles de concentración, en muestras de río, manantial y agua residual respectivamente. Dichos niveles están definidos entre 0.01 y 1.5 mg/L, las cuales fueron sometidas al protocolo de EFS. Los eluatos fueron leídos como muestras y por medio de curvas de calibración externas fue posible determinar su concentración. Se tomó 1.0 mL de eluato y se

diluyó con 4.0 mL de agua desionizada y 2.0 mL de ditionito de sodio al 0.8% m/v. Cada fortificado se preparó por duplicado y el porcentaje de recobro fue calculado mediante la ecuación 3.6.

De forma análoga se determinó la concentración de los iones mayoritarios, aniones y cationes, presentes en el agua de origen ambiental empleando un cromatógrafo de líquidos descrito en la sección 4.1.1 con el fin de evaluar el efecto de los interferentes con el uso y sin el uso del protocolo de EFS.

Todos los ensayos fueron realizados en un colector múltiple (fig. 4.2) conectado a una línea de vacío sin control del flujo, donde las etapas de acondicionamiento, equilibramiento, lavado, elución y regeneración del cartucho fueron realizados como se describen a continuación:

- Acondicionamiento: 3 mL de metanol grado cromatográfico.
- Equilibramiento: 3 mL de agua desionizada.
- Lavado: 5 y 10 mL de ácido clorhídrico 0.1 mol/L.
- Elución: 10.0 mL de cloruro de amonio saturado.
- Regeneración: 50 mL de agua desionizada y en el caso de agua residual se emplearon 5 mL de metanol y 100 mL de agua desionizada.

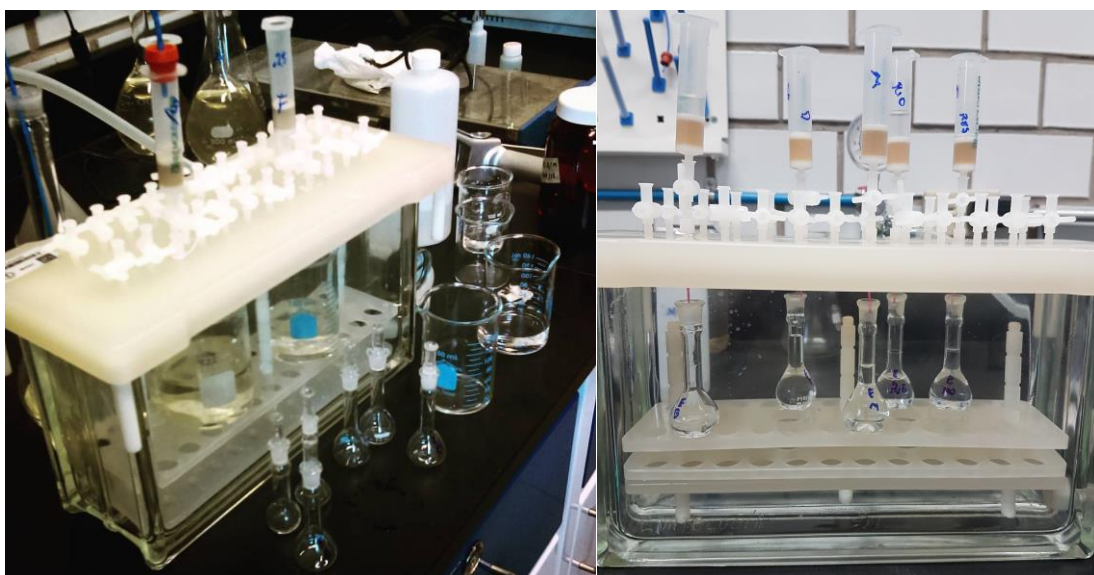


Figura 4.2. Colector múltiple utilizado para llevar a cabo el método de extracción en fase sólida propuesto sin control del flujo.

4.2.4. Fotodegradación del paraquat

4.2.4.1. Síntesis de los materiales fotocatalíticos

4.2.4.1.1. Depósito en superficie de nanopartículas de metales nobles

En este estudio se empleó TiO_2 modificado en la superficie con nanopartículas de Au, Ag y Cu. Para la síntesis de estos materiales se utilizó el método de depósito-precipitación [40], usando los respectivos precursores metálicos de las nanopartículas. Los reactivos empleados fueron $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, AgNO_3 , $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ y urea.

Las reacciones se realizaron en un reactor de doble pared conectado a un recirculador para mantener constante la temperatura de reacción en $80\text{ }^\circ\text{C}$. La carga de los metales agregados al TiO_2 fue de 0.5% en peso. Para los diferentes metales, se empleó una concentración óptima del precursor metálico de 4.2×10^{-3} mol/L. La masa de TiO_2 requerida para carga de los diferentes metales fue de 1 g.

4.2.4.1.2. Depósito de oro y cobre

El depósito, tanto de Au como de Cu, se realizó utilizando el método de depósito-precipitación con urea [41]. Inicialmente, se calcularon las cantidades de precursor metálico y agente precipitante (urea) necesarios para alcanzar la carga nominal establecida.

Las fórmulas empleadas para calcular los reactivos necesarios para la síntesis de Au/TiO_2 y Cu/TiO_2 al 0.5% en peso, se muestran a continuación:

$$\text{masa de metal necesaria} = \frac{\text{Masa } \text{TiO}_2 \times 0.5}{100} \quad \text{Ec. 4.2.}$$

$$\begin{aligned} &\text{masa del precursor metálico requerida} \\ &= \frac{\text{masa de metal necesaria} \times \text{P.M. del precursor metálico}}{\text{P.M. del metal (Au o Cu)}} \quad \text{Ec. 4.3.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &\text{masa de urea} \\ &= \frac{\text{masa del precursor metálico requerida} \times \text{relación } \frac{\text{urea}}{\text{metal}} \times \text{P.M. de urea}}{\text{P.M. del precursor metálico}} \quad \text{Ec. 4.4.} \end{aligned}$$

$$\text{Volumen de } \text{H}_2\text{O} = \frac{\text{masa del precursor metálico requerida} \times 1000 \text{ mL/L}}{\text{P.M. del precursor metálico} \times \text{Concentración óptima}} \quad \text{Ec. 4.5.}$$

A continuación se describen los pasos necesarios para la síntesis y depósito:

1. Se estableció la temperatura en el reactor a 80 °C con ayuda del recirculador de agua.
2. En un volumen específico de agua tridestilada, se disolvió la masa calculada del precursor metálico ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ o $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$) y se adicionó al reactor.
3. Se agregó la masa calculada de urea (Ec. 4.4) para obtener una relación molar metal/urea 1:100 en el caso de Au y 1:50 en el caso de Cu.
4. Finalmente, se adicionó al reactor la masa requerida de TiO_2 y la suspensión se mantuvo en agitación vigorosa durante 16 horas a 80 °C.
5. El material sólido obtenido al final de la reacción se recuperó por centrifugación a 10,500 rpm durante 5 minutos.
6. El sólido se lavó tres veces con agua tridestilada, a fin de eliminar el exceso de aniones en la superficie del material, monitoreándose el pH entre cada lavado y se recuperó éste en cada lavado por centrifugación.
7. Finalizando los lavados, el sólido se secó a 80 °C en condiciones de vacío (0.08 MPa) en un horno por 2 horas.
8. El sólido resultante se almacenó en frascos ámbar en una cámara al vacío y en oscuridad.

4.2.4.1.3. Depósitos de plata

El depósito de Ag sobre TiO_2 se realizó por el método de depósito-precipitación con NaOH, debido a que el depósito-precipitación con urea no es factible para este metal [42].

Las fórmulas empleadas para calcular los reactivos necesarios para la síntesis de Ag/ TiO_2 al 0.5% en peso, se muestran a continuación:

$$\text{Masa de AgNO}_3 \text{ requerida} = \frac{\text{masa de metal necesaria} \times \text{P.M. de AgNO}_3}{\text{P.M. de Ag}} \quad \text{Ec. 4.6.}$$

La masa de metal necesaria y el volumen de H_2O requerida se calculan según las ecuaciones Ec. 4.2 y Ec.4.5 respectivamente.

Los pasos seguidos para la síntesis y depósito de nanopartículas se describen a continuación:

1. En un volumen específico de agua tridestilada se disolvió la masa calculada del precursor metálico (AgNO_3) y se agregó al reactor.
2. Se adicionó el TiO_2 a la solución y se mantuvo en agitación vigorosa.
3. El pH de la suspensión se estabilizó en 9.0 mediante la adición de NaOH 0.05 mol/L, midiéndose tres veces en intervalo de 5 minutos para asegurar su estabilidad.
4. La suspensión se mantuvo en agitación durante 4 horas a 80 °C.

5. El sólido resultante se lavó y secó empleando las mismas condiciones descritas para los depósitos de Au y Cu.

4.2.4.1.4. Tratamiento térmico de los materiales

Al finalizar, el depósito sólido seco se colocó en un plato poroso de porcelana, dentro de un reactor tubular de vidrio en forma de U. El reactor se colocó dentro de un horno y se calentó, usando una rampa de 2 °C/min, hasta los 500°C manteniéndose a esta temperatura por dos horas. El sistema se dejó enfriar a temperatura ambiente y el sólido resultante se guardó en una cámara oscura al vacío. El tratamiento térmico de los tres materiales se realizó en una atmósfera reductora de H₂ con un flujo de 1 mL/mg de catalizador.

4.2.4.2. Caracterización de los fotocatalizadores

4.2.4.2.1. Análisis elemental por espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)

La determinación del contenido de metal en cada uno de los catalizadores sintetizados se llevó a cabo en un equipo de plasma de acoplamiento inductivo ligado a un espectrofotómetro de emisión óptico referido como ICP-OES (por sus siglas en inglés), que se encuentra en el Laboratorio de Espectroscopía Atómica del Instituto de Geología de la UNAM.

4.2.4.2.2. Absorción UV-vis y determinación de la banda de energía

Para cada uno de los catalizadores sintetizados se determinaron los espectros de absorción UV-vis usando un espectrofotómetro de la marca Agilent. Las mediciones se realizaron en el modo de reflectancia difusa para un intervalo de longitudes de onda de 200 a los 800 nm. Con los datos obtenidos para cada uno de los catalizadores se determinó la banda prohibida, la cual fue calculada mediante el modelo de Kubelka-Munk [43], representado por la siguiente ecuación:

$$\alpha h\nu = A(h\nu - E_g)^{1/n} \quad \text{Ec. 4.7.}$$

donde α es el coeficiente de extinción, n es la transición entre bandas, A es el coeficiente de absorción, h es la constante de Planck, ν es la frecuencia de la luz y E_g es la energía de banda prohibida en eV.

4.2.4.3. Pruebas fotocatalíticas

La actividad fotocatalítica de los materiales sintetizados, se evaluó mediante la determinación de la cinética de degradación del paraquat, empleando el método espectrofotométrico desarrollado y el porcentaje de mineralización, mediante el análisis del carbono orgánico disuelto remanente en la suspensión.

4.2.4.3.1. Pruebas con luz UV

El sistema de reacción consistió en un reactor tipo batch con una capacidad de 250 mL, manteniéndose la temperatura de reacción a 25 °C por medio de un recirculador de agua. Para suministrar la luz UV al sistema, se empleó una lámpara de UV de 15 W, con longitud de onda de emisión primaria de 254 nm. Adicionalmente, se suministró un flujo constante de aire (100 mL/min), el cual garantizó la saturación de oxígeno en el sistema de reacción (fig. 4.3).



Figura 4.3. Reactor fotocatalítico.

Para cada una de las pruebas se preparó una solución de 50 mg/L de paraquat en agua destilada y en agua de manantial proveniente del Valle del Mezquital, previamente filtrada. Se emplearon los tres materiales sintetizados anteriormente, así como TiO_2 comercial. Cabe señalar que las soluciones de paraquat empleadas para estos estudios, fueron preparadas en ausencia de cloruro de amonio.

Para cada ensayo se colocaron en el reactor 250 mL de solución del paraquat de 50 mg/L y la masa apropiada de catalizador. La suspensión se dejó en agitación en ausencia de luz durante 60 minutos con el objetivo de alcanzar el equilibrio de adsorción entre el paraquat y el catalizador. Al finalizar el periodo de agitación, el sistema fue irradiado con luz UV. A lo largo del ensayo se tomaron muestras de 10 mL de la solución inicial, así como después de haberse alcanzado el equilibrio de adsorción (tiempo 0) y tras 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240 y 360 minutos de irradiación. Todas las muestras tomadas fueron filtradas usando una membrana de nylon Nalgene, con un tamaño de poro de 0.2 μm .

Para cada tipo de agua se realizaron pruebas de fotólisis con el fin de evaluar la degradación por efecto exclusivo de la irradiación UV. En estas pruebas se siguió el procedimiento descrito anteriormente sin adición del catalizador.

Para la síntesis de los materiales fotocatalíticos se empleó como referencia el trabajo realizado por Avella y colaboradores [36].

4.2.4.4. Determinación de la degradación y mineralización de paraquat

4.2.4.4.1. Espectrofotometría UV-vis

La concentración cualitativa remanente de paraquat en las muestras tomadas a lo largo de los ensayos previamente descritos, se determinó con ayuda de un espectrofotómetro de la marca Agilent.

El análisis cualitativo se realizó en el modo scan del equipo, midiendo longitudes de onda desde los 200 hasta los 800 nm. La longitud de onda donde el paraquat presenta un máximo de absorción es a 257 nm.

4.2.4.4.2. Determinación de la mineralización de paraquat empleando carbono orgánico total

El porcentaje de mineralización alcanzado en las pruebas fotocatalíticas, es decir, el porcentaje de moléculas de paraquat que fueron oxidadas a CO₂, se determinó mediante un análisis de carbono orgánico total (TOC por sus siglas en inglés) en las muestras a lo largo de la reacción. La medición se llevó a cabo en un equipo de análisis de carbono y nitrógeno en muestras líquidas. En el equipo, las muestras se sometieron a combustión dentro de un reactor de cerámica a 700 °C en presencia de un catalizador de Pt. El CO₂ generado a partir de la combustión se cuantificó en un detector de infrarrojo integrado en el equipo.

Específicamente, para este análisis se vertieron 6 mL de muestra en viales de vidrio limpios, los cuales se colocaron en un automuestreador. Una jeringa de alta precisión integrada al equipo se usó para enjuagar las líneas del equipo y suministrar el volumen de muestra a la cámara de combustión. El carbono total se cuantificó mediante la combustión directa de la alícuota, mientras que el carbono inorgánico se determinó mediante la reacción de la alícuota con HCl 0.1 mol/L, el carbono orgánico total (TOC) se determinó mediante la diferencia entre carbono total y el carbono inorgánico presente en la muestra, como se expresa en la ecuación:

$$\text{TOC} = \text{TC} - \text{IC} \quad \text{Ec. 4.8.}$$

Donde TOC es carbono orgánico total (mg/L), TC es carbono total (mg/L) y IC es carbono inorgánico (mg/L).

La tasa de mineralización se determinó mediante la ecuación:

$$\%Mineralización = \frac{TOC_{inicial} - TOC_{final}}{TOC_{inicial}} \times 100 \quad Ec. 4.9.$$

La tasa de mineralización se puede determinar de esta manera debido a que se entiende como carbono orgánico a las moléculas formadas por átomos de C, H y O; mientras que las moléculas como CO₂, CO, Na₂CO₃, entre otras, se pueden considerar como carbono inorgánico, por lo que al degradar la molécula de paraquat a CO₂, esta última pasaría (el porcentaje que quedó disuelto en la solución) a formar parte del carbono inorgánico disuelto en la muestra; disminuyendo la concentración de carbono orgánico total a medida que la molécula es mineralizada.

4.2.4.4.3. Cuantificación de paraquat por el método espectrofotométrico validado

Adicionalmente, la concentración de paraquat en el agua se determinó por medio del método espectrofotométrico validado, con el fin de determinar la concentración remanente que quedaba del pesticida a lo largo del proceso fotocatalítico.

También se calculó el porcentaje de mineralización del paraquat, según la ecuación 4.9, empleando la concentración del paraquat, en mg/L, determinada con dicho método.

A partir de los resultados obtenidos en los análisis de las muestras por espectrofotometría y TOC, se calculó la constante cinética de degradación para cada uno de los fotocatalizadores estudiados. Las constantes se obtuvieron al ajustar los datos de degradación con los modelos cinéticos de pseudo-primer orden y pseudo-segundo orden. La ecuación que describe el modelo de pseudo-primer orden es:

$$C_t = C_0 e^{-kt} \quad Ec. 4.10.$$

La ecuación que describe al modelo de pseudo-segundo orden es:

$$\frac{1}{C_t} = \frac{1}{C_0} + kt \quad Ec. 4.11.$$

donde C₀ representa la concentración inicial del compuesto. C_t se refiere a la concentración del compuesto en el tiempo *t*, *k* es la constante aparente de degradación fotocatalítica y la variable *t* representa el tiempo.

Se eligieron estos dos modelos cinéticos debido a que se considera que el agua, al estar en gran exceso, su concentración permanece constante con el tiempo, siendo la concentración del paraquat la única que influye en la rapidez de reacción [61].

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Desarrollo del método espectrofotométrico y selección de la longitud de onda de trabajo

Empleando las soluciones propuestas por la EPA para la derivatización de paraquat utilizando ditionionito en medio básico, fue posible realizar la adecuada detección del herbicida en solución. Se requirió cloruro de amonio al 2.5% m/v con la finalidad de imponer una fuerza iónica adecuada para que el radical paraquilo fuera estable por lo menos 30 minutos, tiempo en que se pueden leer las muestras en el espectrofotómetro. La EPA propone emplear una solución de ditionionito de sodio en medio básico al 0.2% m/v para el desarrollo de dicha especie radicalaria, sin embargo en este trabajo, se empleó una concentración de 0.8% m/v de esta solución, garantizando de esta manera que el ditionito de sodio se encontrara en exceso al ser utilizado en muestras ambientales de agua, ya que no es un reactivo específico y puede oxidar cualquier molécula orgánica que se encuentre disuelta en la matriz. Debido a la fácil degradación de este último compuesto en disolución acuosa, es importante que se encuentre en medio básico. Por otro lado, se observó que la reacción de derivatización del paraquat con ditionito de sodio, debe llevarse a cabo en un pH ligeramente básico, ya que a un pH ácido no se genera el radical paraquilo.

En la figura 5.1 se presenta el espectro de absorción del paraquat derivatizado, donde se observa que a una longitud de onda (λ) de 394 nm, se presenta el valor más alto de absorbancia, por lo que se seleccionó esta longitud para el monitoreo del analito.

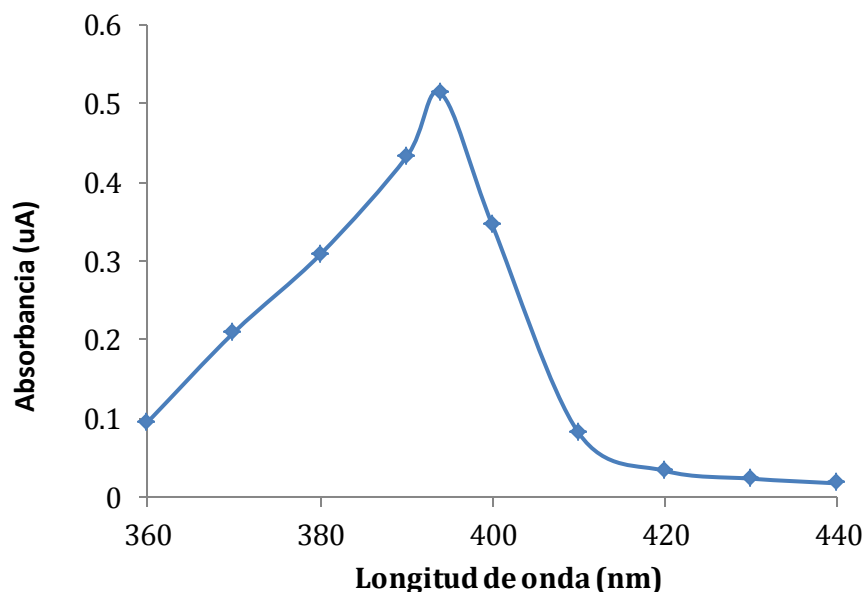


Figura 5.1. Espectro de absorción en el intervalo de 360 a 440 nm para una disolución de 4.0 mg/L del radical paraquat.

5.2. Validación del método instrumental

5.2.1. Intervalo lineal

En la figura 5.2 se presenta la curva de calibración obtenida para el paraquat. Este intervalo fue definido por medio del porcentaje del coeficiente de variabilidad (%CV) obtenido para cada punto, donde se observó que a concentraciones por debajo de 0.08 mg/L el %CV superaba el 5%.

De la ecuación lineal de la curva de calibración del paraquat es posible determinar la ecuación que relaciona la absorbancia con la concentración, la cual es:

$$\text{Absorbancia} = 0.1432 \text{ Conc. (mg/L)} + 0.0141 \quad (\text{Ec. 5.1.})$$

Se obtiene la ecuación para calcular la concentración del paraquat:

$$\text{Conc. (mg/L)} = \frac{\text{Absorbancia} - 0.0141}{0.1432} \quad (\text{Ec. 5.2.})$$

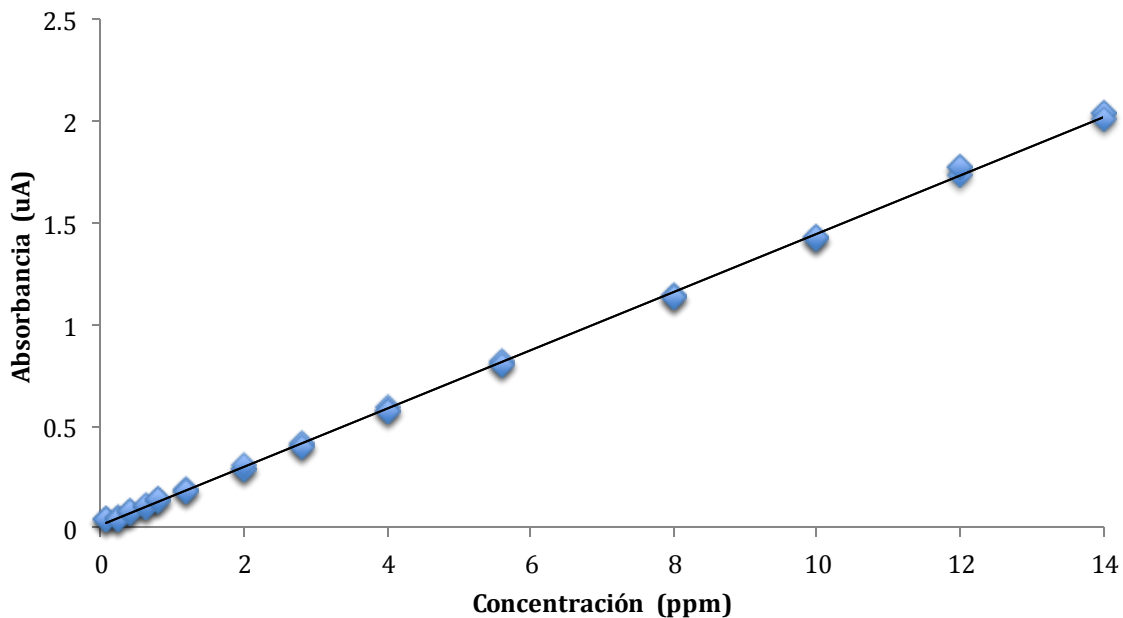


Figura 5.2. Curva de calibración obtenida para la cuantificación de paraquat en muestras acuosas ($\lambda=394$ nm) para 15 niveles de concentración y con tres réplicas de cada uno de ellos.

En la siguiente tabla se presentan los parámetros típicos de regresión, como son: la pendiente (m) y la ordenada al origen (b) reportados con intervalos de confianza, así como los factores de determinación y correlación, el intervalo lineal y el número de datos utilizados.

Tabla 5.1. Parámetros estadísticos de la validación del método de cuantificación del paraquat (nivel de confianza al 95%).

Parámetro	Valor
Intervalo lineal	0.08 – 14 mg/L
n	42
Pendiente (m)	0.1432 ± 0.0068
Ordenada al origen (b)	0.0141 ± 0.0011
Factor de determinación (r ²)	0.9995
Factor de correlación (r)	0.9997
Ecuación de regresión	y = 0.1432x + 0.0141 (Ec. 5.3.)

En este caso, el valor de la pendiente ($m > 0$), indica que el detector discrimina entre disoluciones cuya concentración de paraquat se encuentre entre 0.08 y 14.0 mg/L (Ver Anexo I). Como criterio de aceptación del intervalo lineal, se debe verificar que el coeficiente de correlación (r), obtenido de los datos de la recta de regresión, sea mayor de 0.999. Considerando esto es posible decir que para este compuesto existe una respuesta lineal del detector en el intervalo de concentración establecido, lo que significa que la absorbancia del ion radicalario paraquat, como resultado de la reacción de derivatización del paraquat con ditionito de sodio, es directamente proporcional a la concentración del analito en cuestión en el intervalo reportado. Se explica la existencia de un valor de ordenada al origen diferente de 0 a que se tiene error sistemático dentro del desarrollo experimental (Anexo I).

5.2.2. Límites de detección y cuantificación

Para ajustar el equipo a un valor de 0.0 uA antes de realizar las mediciones de absorbancia, se utilizó un blanco reactivo (solución de cloruro de amonio al 2.5% m/V más ditionito de sodio al 0.8% m/V). La determinación de los valores de límite de detección y cuantificación se realizó llevando a cabo la medición de 7 disoluciones de concentración conocida (0.04 mg/L) de paraquat, de manera independiente. Esta concentración fue seleccionada debido a que presentó porcentajes de coeficiente de variabilidad ligeramente superiores al 5%. En la tabla 5.2 se muestran los valores de límite de detección (LOD por sus siglas en ingles) y límite de cuantificación (LOQ por sus siglas en ingles) que fueron

calculados según lo descrito por Miller y Miller [13] y por medio de la ecuación de regresión (Ec. 5.3), se obtuvieron en unidades de concentración.

Tabla 5.2. Límites de detección y de cuantificación del método desarrollado para el análisis de paraquat.

Parámetro	Valor (ppm)
LOD	0.01
LOQ	0.08

5.2.3. Precisión

La precisión del sistema de cuantificación propuesto se evaluó en términos de repetibilidad para dos niveles de concentración (0.5 y 5.0 mg/L), a través del cálculo del porcentaje del coeficiente de variabilidad (%CV). En la tabla 5.3 se presentan los valores de %CV para cada nivel de concentración. En ambos casos los valores de %CV son menores al 5%, esto indica un grado de precisión aceptable, en términos de repetibilidad, para la cuantificación de este compuesto.

Tabla 5.3. Porcentajes del Coeficiente de Variabilidad de la absorbancia para dos niveles de concentración, 0.5 y 5.0 mg/L, de paraquat.

Concentración (mg/L)	%CV global
0.5	2.5
5.0	2.7

Cabe mencionar que la CCAYAC, en el documento: Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos [17], establece los criterios presentados en la tabla 3.3 para aseverar si un método de análisis es o no preciso.

Considerando los valores de concentración de las disoluciones evaluadas y consultando dicha tabla, se puede decir que el método propuesto es preciso para la cuantificación de paraquat, el %CV es menor al 15%.

5.2.4. Exactitud

La exactitud del método desarrollado se estableció a partir de disoluciones de paraquat en dos niveles de concentración (0.80 y 4.0 mg/L). Para cada nivel se determinó la concentración por medio de la ecuación de regresión (Ec. 5.3) y mediante el cálculo del porcentaje de error (Ec. 3.5) fue evaluada la exactitud. En la tabla 5.4 se pueden observar los resultados.

Tabla 5.4. Determinación del grado de exactitud para la cuantificación de paraquat (nivel de confianza al 95%).

Concentración _{real} (mg/L)	Concentración _{determinada} (mg/L)	%Exactitud
0.8	0.85	93.2
4.0	4.11	97.2

Como puede observarse, en los dos niveles de concentración, los valores de exactitud son muy cercanos al 100% y dado que la exactitud es el grado de concordancia entre el valor obtenido y el valor real de una muestra determinada, se puede decir que el método es exacto en la matriz de los estándares. Cabe mencionar que la exactitud para la concentración de 0.8 ppm es menor con respecto a la de 4.0 ppm, debido a que a medida que disminuye la concentración el grado de error en su cuantificación aumenta.

5.2.5. Evaluación de la presencia del efecto matriz

Para evaluar las posibles interferencias que se pudieran tener al cuantificar el paraquat empleando agua de origen ambiental, se graficaron los valores de las absorbancias obtenidas por las curvas de calibración (la preparada únicamente con reactivos y la preparada en igualdad de condiciones con ésta usando agua ambiental) imponiéndose, en ambos casos, la fuerza iónica con NH₄Cl a una concentración de 2.5% m/v. Los resultados indican (fig. 5.3), que no existen especies que interfieran en la determinación colorimétrica del paraquat, ya que el valor de la pendiente del gráfico es prácticamente igual a 1 y la ordenada al origen es casi cero (ver Anexo I).

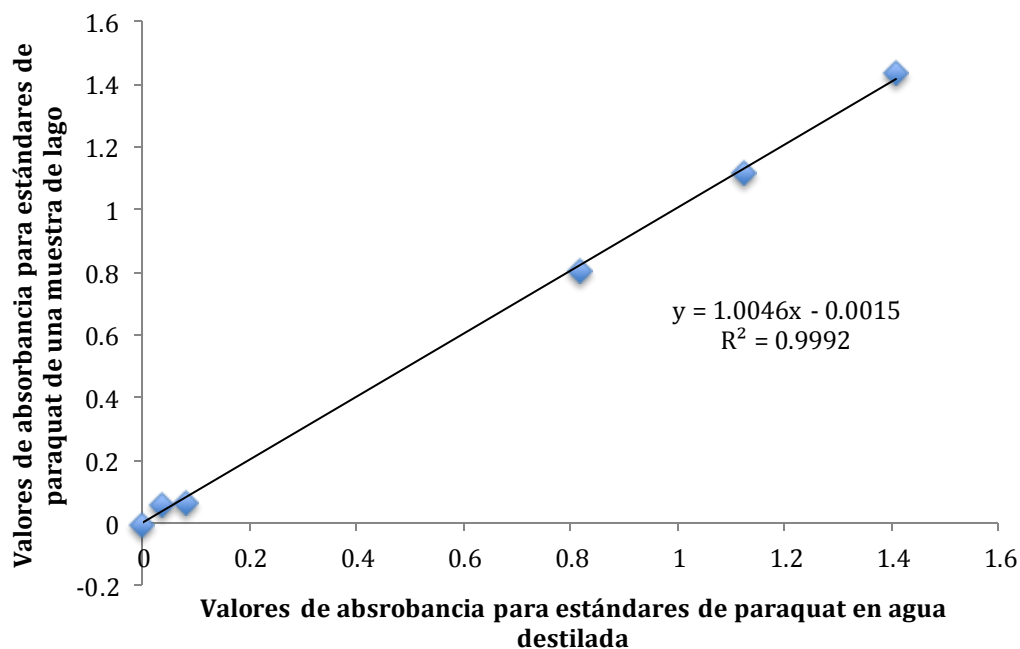


Figura 5.3. Evaluación de la presencia del efecto matriz.

5.2.6. Recobros

Los resultados obtenidos para los dos niveles de concentración seleccionados para llevar a cabo el fortificado de las muestras (tabla 5.5), en el caso de las que provienen de lago, manantial y agua residual, para las soluciones de paraquat en concentración de 4.0 mg/L, indican buenos valores de recobro, los cuales se encuentran en el intervalo comprendido entre 96 y 101%, que satisface completamente los requerimientos establecidos para estos niveles de concentración que se muestran en la tabla 3.4. Por otro lado, las muestras de Montebello, para un nivel de concentración (tabla 5.6), también muestran valores de recobro aceptables comprendidos entre el 92 y 105%.

Cabe señalar que las soluciones de paraquat de 0.4 mg/L de las muestras de manantial y agua residual no cumplen con los requerimientos establecidos en la tabla 3.4, por lo que se tienen interferentes en la matriz que dificultan la cuantificación de este pesticida a este nivel de concentración.

Tabla 5.5. Resultados de las muestras de tres cuerpos de agua diferentes fortificadas a dos niveles de concentración con paraquat.

Muestra	C_{real} (mg/L)	C_{determinada} (mg/L)	%Recobro
Lago	0.4	0.41	98.6
	4.0	4.04	100.1
Manantial	0.4	0.35	112.2
	4.0	3.74	96.2
Agua residual	0.4	0.56	122.9
	4.0	4.12	100.9

Tabla 5.6. Resultados de las muestras de las lagunas de Montebello fortificadas a una concentración de 4.0 mg/L con paraquat.

Muestra	C_{determinada} (mg/L)	%Recobro
S08	4.10	102.4
S02	4.06	101.5
BT01	4.06	101.5
S06	4.22	105.6
BT03	3.99	99.9
S09	4.18	104.6
Y01	3.84	95.9
V02	3.93	98.3
B07	3.69	92.2

En cuanto a los recobros presentados para dos niveles de concentración empleando agua de lago, manantial y río, después de cierto tiempo de contacto entre el pesticida y la matriz, muestran buenos resultados de recobros para el nivel de concentración de 4.0 mg/L, los cuales se encuentran en el intervalo comprendido entre el 95 y 104% (tabla 5.7), incluso después de 30 días de contacto, satisfaciendo los requerimientos establecidos por Taverniers y colaboradores (tabla 3.4) [18]. Por otro lado, el nivel de concentración de 0.4 mg/L en algunos casos no cumple lo establecido por Taverniers, ya que nuevamente los componentes de la matriz dificultan la cuantificación del analito; sin embargo, se puede concluir que los componentes de la matriz disueltos en el agua no reaccionan cuantitativamente con el pesticida, ya que los porcentajes de recobro para ambos niveles de concentración son similares con respecto al tiempo.

Tabla 5.7. Resultados de las muestras de tres cuerpos de agua diferentes fortificadas a dos niveles de concentración con paraquat expuesto hasta 30 días de contacto con la matriz.

Muestra	C _{real}	0 días		2 días		5 días		10 días		19 días		30 días	
		C _{det.}	%Rec.	C _{det.}	%Rec.	C _{det.}	%Rec.	C _{det.}	%Rec.	C _{det.}	%Rec.	C _{det.}	%Rec.
Lago	0.4	0.35	86.6	0.47	118.7	0.35	120.9	0.45	112.2	0.45	113.1	0.45	126.0
	4.0	4.16	104.6	4.14	103.4	4.16	103.9	4.04	100.9	4.00	100.1	4.04	100.7
Manantial	0.4	0.39	97.1	0.45	111.6	0.39	103.5	0.32	80.9	0.34	84.9	0.32	82.5
	4.0	4.13	103.2	3.96	99.1	4.13	100.2	3.91	97.8	3.82	95.7	3.91	95.4
Río	0.4	0.41	102.8	0.43	108.5	0.41	107.5	0.43	107.5	0.42	104.7	0.43	111.5
	4.0	4.16	103.9	4.07	101.7	4.16	102.0	4.05	101.3	3.95	98.9	4.05	99.8

C_{real} y C_{det.} en mg/L

5.3. Optimización del método por extracción en fase sólida

La extracción en fase sólida es una técnica de preparación de muestra que ha mostrado ser eficiente para la determinación de paraquat en muestras ambientales, ya que permite la utilización de volúmenes grandes de muestra, una ligera pre-concentración del analito de interés, aumentar el intervalo de trabajo lineal del método instrumental y el efecto más importante, la eliminación en gran medida de los interferentes de la matriz, lo cual se corrobora con los porcentajes de recobro.

5.3.1. Establecimiento de las condiciones óptimas para la EFS

5.3.1.1. Selección de la disolución de lavado

En la tabla 5.8 se presentan los resultados obtenidos cuando las disoluciones generadas de las etapas de carga (10.0 mL) y lavado (5 mL), fueron analizadas con la metodología para la cuantificación de paraquat propuesta en este trabajo, con el objetivo de verificar que el cartucho de EFS, es capaz de retener todo el analito durante la carga, y que éste no se pierda al realizar el lavado del cartucho, por lo que los resultados obtenidos en cuanto a las cantidades de paraquat determinadas en estas dos etapas, en ambos casos reportadas como menor al límite de detección (<LD), son excelentes. Esto indica que todo el paraquat que se percola a través del cartucho durante la etapa de carga es retenido de manera cuantitativa y no existen pérdidas durante el lavado.

Tabla 5.8. Resultados de los análisis de paraquat en la etapas de carga y lavado (flujo 1 mL/min).

Condición	Volumen (mL)	Cantidad de paraquat determinada (µg)
Carga (200 µg)	10	< LD
Lavado (HCl 0.1 mol/L)	5	< LD

< LD. Menor al límite de detección

Los valores de porcentaje de recuperación se calcularon empleando la siguiente ecuación: $\%R = (\text{masa de paraquat eluida} / \text{masa de paraquat cargada}) \times 100$.

5.3.1.2. Selección de la disolución eluyente

Es necesario que el eluyente seleccionado cumpla con las características necesarias que permitan obtener una buena cuantitatividad de extracción, así como ser compatible con el método instrumental y de preferencia que pueda eluir al analito con el menor volumen posible.

En la tabla 5.9 se presentan los porcentajes de recuperación obtenidos al evaluar distintas soluciones como eluyentes, siendo este paso de suma importancia, ya que el eluyente ideal permitirá la elución cuantitativa (completa) del analito de trabajo que quedó retenido durante la etapa de carga. Se puede observar que hay tres soluciones que presentan los mayores porcentajes de recuperación: el NH₄Cl al 25%, la mezcla de NH₄Cl 25%/acetonitrilo 90:10 y la solución de cloruro de amonio saturada; en los tres casos los valores de recuperación son prácticamente iguales y mayores al 95%, sin embargo, debido a la naturaleza de las muestras de estudio, sobre todo para el caso del agua residual, se decidió utilizar como eluyente óptimo un volumen de 10.0 mL de la solución de NH₄Cl saturada para garantizar la elución cuantitativa del analito en todos los casos.

Tabla 5.9. Evaluación de diferentes tipos de eluyentes para la recuperación de 200 µg de paraquat (flujo 1ml/min).

Eluyente	Volumen (mL)	Cantidad de paraquat determinada (µg)	Porcentaje de recuperación
a. NH₄Cl 5%	30	168.36	84.18
b. NH₄Cl 5%/Metanol 1:1	15	123.28	61.64
c. NH₄Cl 5%/Acetonitrilo 60:40	15	119.53	59.765
d. NH₄Cl 20%	10	169.01	84.505
e. NH₄Cl 25%	10	190.81	95.405
f. NH₄Cl 25%/Acetonitrilo 90:10	10	185.58	92.79
g. NH₄Cl saturada	10	192.13	96.065

5.3.1.3. Evaluación de la velocidad de carga

Con las etapas de carga, lavado y elución optimizadas en cuanto al volumen de la disolución empleada y su composición, se procedió con la evaluación de la velocidad del flujo utilizado durante la etapa de la carga, ya que si ésta es muy alta, el analito no tendrá el suficiente tiempo para interactuar con los sitios de sorción, por lo que no se quedará retenido durante la carga.

Los resultados de los ensayos al modificar el flujo de la carga de la muestra (tabla 5.10), demostraron que el analito se retiene en la resina de manera independiente al flujo, debido a que se presentaron porcentajes de recuperación muy similares y en todos los casos superiores al 95%, sin la pérdida del analito durante la etapa de carga ya que en todos los experimentos no se detectó paraquat en las soluciones de carga una vez que éstas habían sido percoladas por el cartucho (efluentes). Por lo que, con la finalidad de disminuir el tiempo en la preparación de la muestra, sobre todo durante la etapa de la carga, se decidió trabajar con la velocidad de flujo más alta que es la de 4 mL/min.

Tabla 5.10. Efecto de la velocidad del flujo de carga, con volumen de carga 10.0 mL de una solución de 5.0 mg/L de paraquat.

Flujo de carga (mL/min)	Porcentaje de recuperación
1	105.99%
2	107.83%
3	95.14%
4	104.65%

5.3.1.4. Determinación del volumen de ruptura o fuga

Debido a que se requiere conocer el volumen a partir del cual el analito se comienza a salir del cartucho durante la etapa de carga, y ya que este no debe de excederse cuando se hace la pre-concentración de la muestra, se procedió a realizar ensayos donde se varió el volumen de la carga manteniendo constante la cantidad de paraquat (μg) disuelta en un volumen conocido de solución. La evaluación de volúmenes desde 10.0 hasta 500.0 mL, permitió verificar el comportamiento de la retención del paraquat en el cartucho de EFS ya que al analizar los efluentes producidos en cada una de las cargas realizadas, no se detectó la presencia de paraquat. Lo cual fue confirmado al analizar los efluentes de las correspondientes etapas de elución, ya que en todos los casos los porcentajes de recuperación fueron adecuados (>86%). Sin embargo es claro que al incrementarse el volumen de carga los valores de recuperación durante la etapa de elución van disminuyendo ligeramente (tabla 5.11). Empero, debido a que el objetivo de esta parte es la mayor pre-concentración del analito, se decidió fijar en 500.0 mL el volumen máximo de carga en los cartuchos, porque se logra una concentración de la muestra de 50x (500.0 mL carga/10.0 mL elución).

Tabla 5.11. Porcentajes de recuperación al variar el volumen de carga empleando una cantidad de paraquat constante (50 µg).

Volumen de la solución de paraquat (mL)	Concentración de la solución de paraquat (µg/mL)	Cantidad de paraquat cargada (µg)	Cantidad de paraquat determinada (µg)	Porcentaje de recuperación
10	5.0	50	57.32	114.65%
25	2.0		46.22	92.43%
50	1.0		48.43	96.85%
100	0.5		46.52	93.03%
250	0.2		43.30	86.60%
500	0.1		43.52	87.04%

5.3.2. Evaluación del protocolo de EFS optimizado en muestras ambientales

Dado que las condiciones del protocolo de EFS optimizado son: un volumen de carga de 500.0 mL, 5 mL de una disolución de HCl 0.1 mol/L como lavado y 10.0 mL de la solución saturada de amonio para la etapa de elución, se decidió fortificar en cinco niveles de concentración cada muestra de estudio (manantial, río y residual) y someterlas al protocolo de EFS establecido en este trabajo. Cabe mencionar que al igual que los experimentos anteriores todos los efluentes fueron analizados con la metodología validada del paraquat. Los resultados obtenidos no mostraron la presencia del analito en ninguno de los efluentes provenientes de las etapas de carga y lavado, mientras que si se observó la presencia de paraquat en todos los efluentes provenientes de la etapa de elución (tabla 5.13); sin realizar un tratamiento previo a la muestra, los recobros obtenidos, en algunos casos, no son aceptables para los niveles de concentración seleccionados, ya que sobrepasan el intervalo de aceptación, el cual está comprendido entre 80 y 110% (tabla 3.4). Esto es más evidente en los niveles de concentración más bajos que son 0.08 y 0.12 mg/L para las tres muestras de agua, donde posiblemente se tiene una mayor influencia por parte de los componentes de la matriz (tabla 5.12).

Tabla 5.12 Resultado del porcentaje de recobros obtenidos sin previo tratamiento de la muestra.

Muestra	Manantial		Río		Residual	
	C _{determinada} (mg/L)	%Recobro	C _{determinada} (mg/L)	%Recobro	C _{determinada} (mg/L)	%Recobro
0.08	0.11	140.2%	0.11	134.2%	0.09	110.4%
0.12	0.16	133.2%	0.15	127.3%	0.14	113.3%
0.25	0.27	108.8%	0.27	106.9%	0.24	96.4%
0.35	0.37	107.0%	0.39	111.8%	0.33	93.4%
0.50	0.55	109.8%	0.54	108.8%	0.48	96.4%

Es sabido que el método instrumental empleado para la cuantificación de paraquat no es selectivo y es dependiente de la fuerza iónica; por ello se utilizó EFS como método de pre-concentración y eliminación de interferentes provenientes de la matriz para aumentar el rango lineal de trabajo del método instrumental con un porcentaje de recobro aceptable.

Los resultados de los recobros obtenidos de dichas muestras se encuentran reportados en la tabla 5.13. Se observa que para niveles de concentración por arriba de 0.02 ppm los porcentajes de recobro son aceptables, ya que se encuentran entre el 90 y 105% para las cuatro matrices estudiadas. Es sabido que conforme se disminuye la concentración en una muestra, el error sistemático aumenta, lo cual es evidente al comparar los recobros obtenidos entre las muestra de mayor concentración con las de menor concentración en una misma matriz.

Por otro lado, se logró cuantificar el pesticida empleando EFS, en concentraciones por debajo del intervalo lineal y del límite de detección del método instrumental (<0.08 mg/L), sin embargo debido a las limitantes del método espectrofotométrico, no fue posible pre-concentrar soluciones de paraquat en muestras ambientales en concentraciones por debajo de 0.01 mg/L debido a que la solución saturada de NH₄Cl empleada como eluyente, interfiere en la cuantificación del analito en el eluato.

Cabe señalar que no fue posible realizar más repeticiones en las tres matrices ambientales estudiadas (manantial, río y residual), y tampoco determinar los recobros para cuatro niveles de concentración en el agua de río, debido a que el

tamaño de la muestra que se requiere es grande y no se contó con el volumen adecuado de cada matriz.

Tabla 5.13. Resultados de los porcentajes de recobros obtenidos para nueve niveles de concentración de paraquat.

Muestra	Desionizada	Manantial	Río	Residual
C_{cargada} (mg/L)	%Recobro	%Recobro	%Recobro	%Recobro
0.01	-80.2%	170.4%	141.3%	135.3%
0.02	97.6%	92.7%	n. r.	90.2%
0.05	93.7%	95.6%	n. r.	99.5%
0.10	98.5%	98.5%	n. r.	104.9%
0.15	100.8%	97.6%	n. r.	103.4%
0.25	91.0%	105.2%	107.1%	100.4%
0.75	100.5%	102.9%	106.3%	99.8%
1.0	100.6%	102.5%	103.7%	102.5%
1.5	99.5%	98.7%	98.5%	99.1%

n. r. No realizado

Comparando los porcentajes de recobro obtenidos, empleando un tratamiento previo a la muestra (tabla 5.13) con los resultados donde no se aplicó dicho tratamiento (tabla 5.12), se observa una clara mejoría. Con esto se comprueba que el tratamiento previo al análisis de la muestra funciona para eliminar los interferentes de la matriz, en específico de compuestos disueltos en agua que no interactúan con la resina del sistema de EFS, así como los cationes que se pudieran retener dicho sistema (tabla 5.14).

Tabla 5.14. Concentraciones de iones mayoritarios encontrados en cada matriz empleando cromatografía de iones.

Muestra	Concentración de iones mayoritarios (mg/L)								
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	NH ₄ ⁺	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻
Manantial	202.0	30.6	84.3	28.8	< LD	170.4	259.6	44.7	240.5
Río	25.32	6.05	331.41	65.68	< LD	252.39	17.65	< LD	960.87
Residual	108.45	25.50	38.29	17.28	16.55	323.14	115.42	< LD	79.86

< LD. Menor al límite de detección

Para la concentración más baja que se estudió (0.01 mg/L) el porcentaje de recobro obtenido, para tres muestras de agua, superó el 135% e incluso se encontró un valor negativo para la muestra de agua desionizada. Esto se debe a que el método de tratamiento de muestra con respecto al método instrumental tiene una limitante.

Como se especificó en el apartado IV, el método de análisis instrumental para la cuantificación del paraquat depende de la fuerza iónica, la cual se impuso con una solución de cloruro de amonio al 2.5% m/v. Con base en lo anterior una vez extraído el analito del cartucho solo es posible analizar 1 mL del eluato, ya que se observó que al aumentar el volumen de eluato en el análisis, la fuerza iónica incrementa, por lo que la cuantificación de paraquat se dificulta.

5.3.3. Determinación del factor de pre-concentración

En la figura 5.4 se representan los gráficos correspondientes a la correlación que guardan la concentración de carga teórica esperada, que contempla la concentración que se percola a través del cartucho (preparada físicamente en el laboratorio), la cual está siendo afectada por el factor máximo de pre-concentración esperado, el cual se había definido anteriormente como 50x, en función de la concentración de paraquat obtenida del efluente proveniente de la etapa de elución, para las cuatro matrices de estudio (agua desionizada, manantial, río y residual).

La pendiente calculada de la recta indica el factor de pre-concentración logrado con el método de EFS y se confirma como 50x para todos los casos con un buen factor de determinación (r^2), el cual es superior a 0.99 para el intervalo de concentraciones trabajado (tabla 5.15).

Tabla 5.15. Factor de pre-concentración experimental.

Muestra	Factor de pre-concentración teórico	Factor de concentración experimental (m)	Factor de correlación (r^2)
Desionizada	50x	50.074	0.999
Manantial		49.974	0.998
Río		49.449	0.997
Residual		49.895	0.996

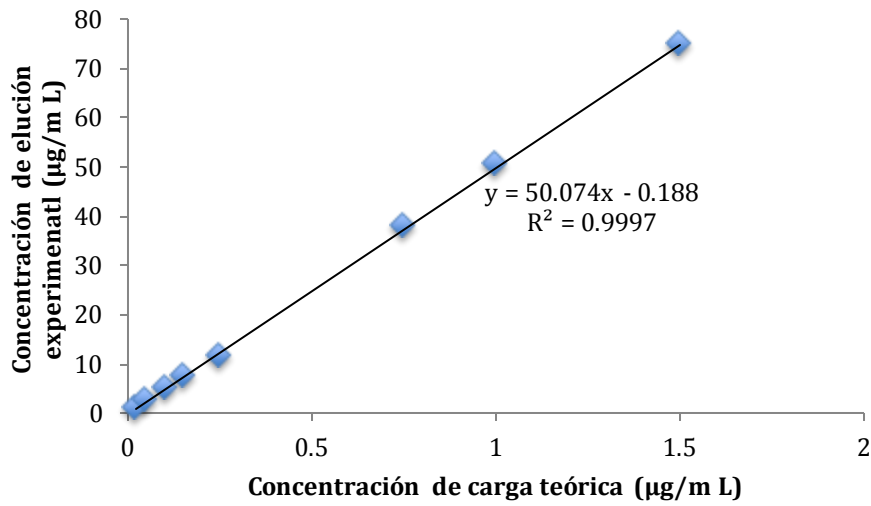
Posteriormente a partir de cada uno de los puntos evaluados, de las 4 matrices estudiadas, se calculó la concentración de elución experimental, que está dada por el producto entre la concentración cargada y el factor de concentración experimental. En la figura 5.5 se muestran las curvas que correlacionan la concentración de elución teórica y la concentración de elución experimental. Se observa un comportamiento lineal entre las variables donde la pendiente indica, al multiplicarla por 100, el porcentaje de recobro del analito en cada matriz (tabla 5.16).

En conclusión, dado que el incremento en la cantidad recuperada es proporcional a la cantidad adicionada, se puede decir que el porcentaje de recobro es constante a través del intervalo de concentraciones evaluadas y que su valor se deduce de la pendiente de los gráficos construidos. Con esto se comprueba que se ha eliminado el efecto de la matriz al aplicar el protocolo de EFS en muestras de agua ambiental.

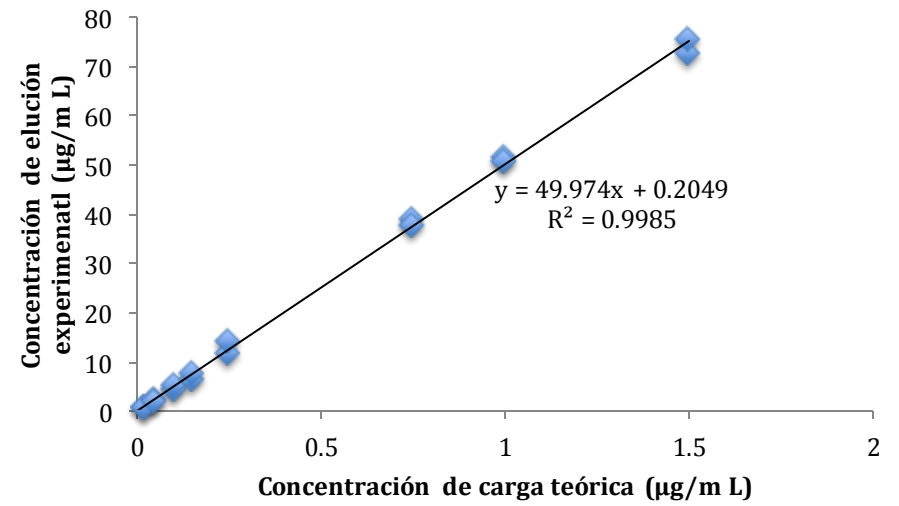
Tabla 5.16. Resultados de los porcentajes de recobros obtenidos por medio del valor de la pendiente.

Muestra	Factor de determinación (r^2)	Pendiente (m)	%Recobro = m x 100
Desionizada	0.999	1	100
Manantial	0.998	1	100
Río	0.997	0.999	99.9
Residual	0.996	1	100

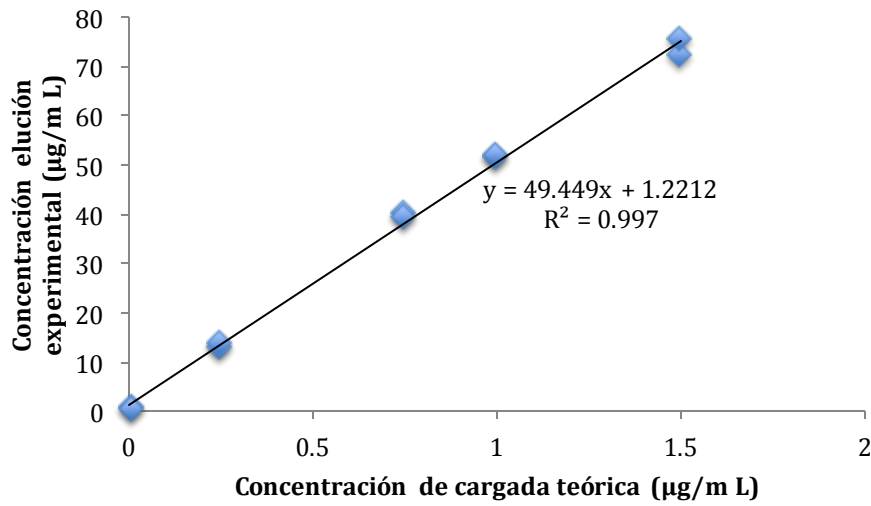
Esto también se ve reflejado en el porcentaje de recobro obtenido para cada ensayo en la tabla 5.13.



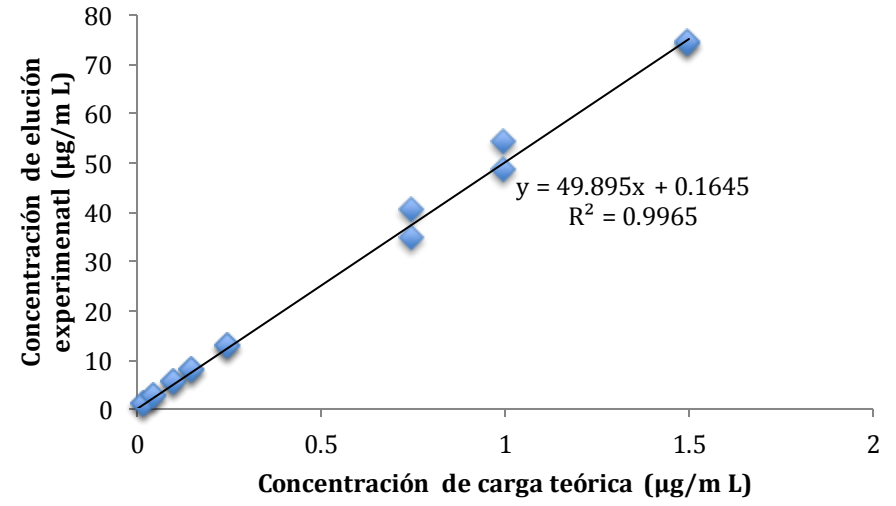
(a)



(b)

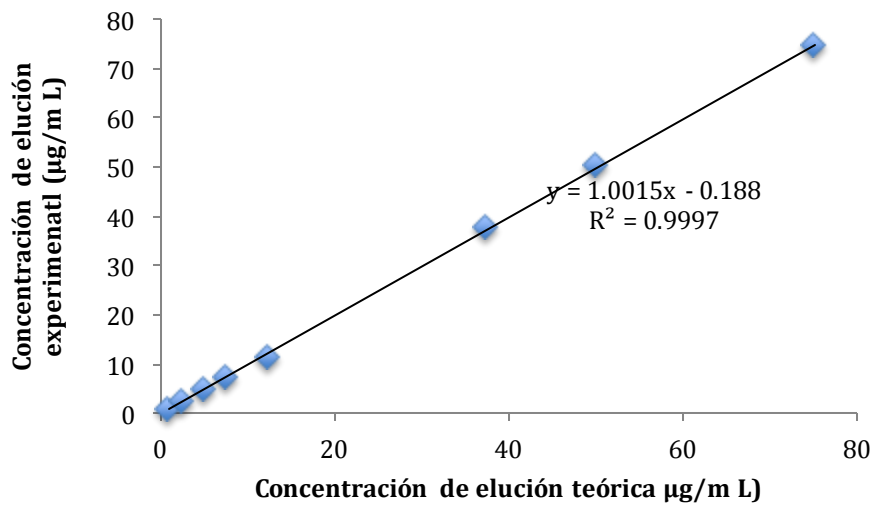


(c)

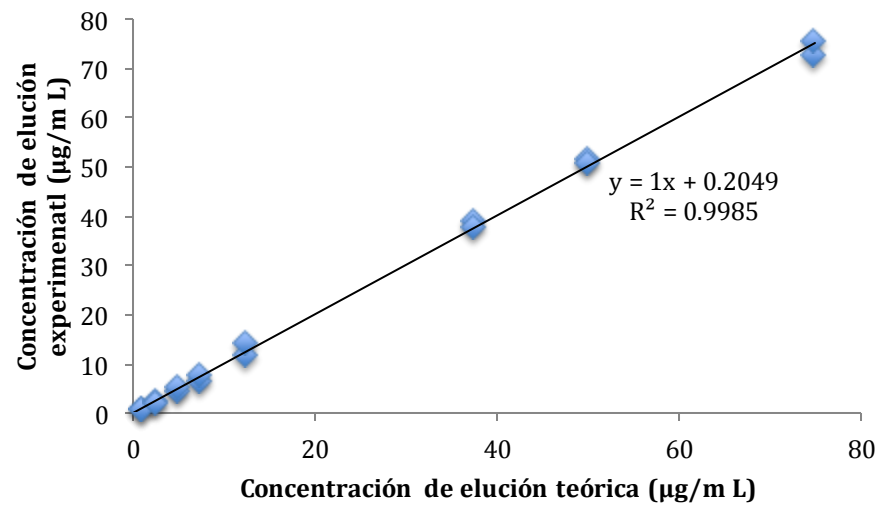


(d)

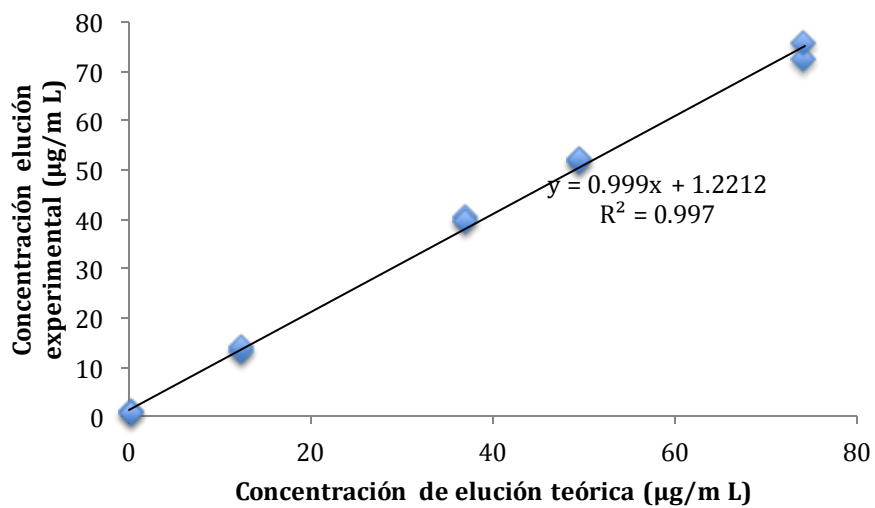
Figura 5.4. Determinación del factor de concentración en agua desionizada (a), manantial (b), río (c) y residual (d).



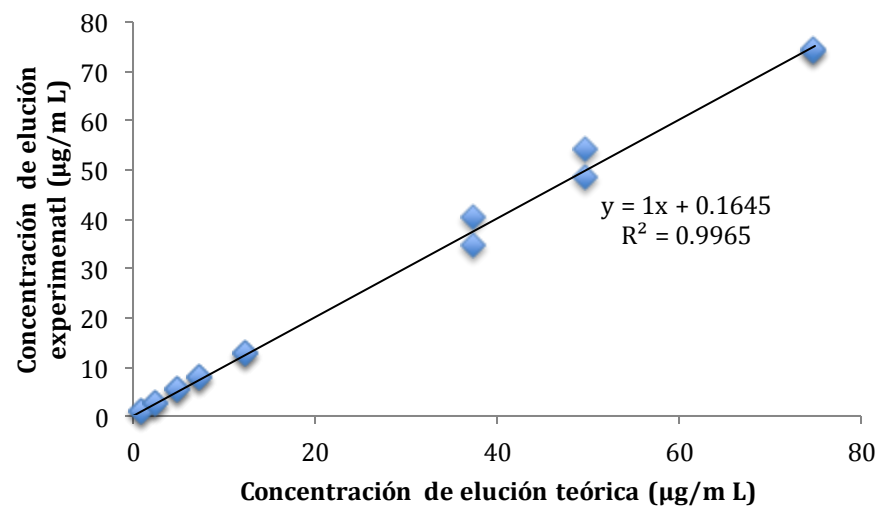
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 5.5. Evaluación de los recobros del método en agua desionizada (a), manantial (b), río (c) y residual (d).

Cabe mencionar que para la muestra de río no se evaluaron cuatro niveles de concentración, pero se puede asumir que tiene comportamiento similar a las otras tres muestras de agua.

5.3.4. Límite de detección y de cuantificación

Dado que el tamaño de la muestra a tratar por el método de EFS es de 500.0 mL, no se pudo determinar el límite de detección y el límite de cuantificación de forma experimental, sin embargo, se sugiere que el límite de cuantificación es de 0.02 mg/L, debido a que se obtienen valores de recobro aceptables para tres de las cuatro matrices evaluadas; mientras que el límite de detección podría ser cercano a 0.01 mg/L, ya que se puede detectar el pesticida pero con porcentajes de recobros no aceptables (tabla 5.13).

Cabe mencionar que para los experimentos de EFS se emplearon seis cartuchos, los cuales fueron reutilizados en promedio 30 veces cada uno.

5.4. Fotodegradación del paraquat

5.4.1. Caracterización de los fotocatalizadores

5.4.1.1. Análisis elemental por espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)

Los catalizadores se sometieron a esta caracterización con la finalidad de conocer la carga másica de metal real obtenida después de haber sido sometidos a tratamiento térmico. Los resultados del análisis elemental de los catalizadores mono-metálicos se muestran en la tabla 5.17.

Tabla 5.17. Análisis elemental de catalizadores mono-metálicos con una carga teórica del 0.5%.

Catalizador	Carga experimental (%)
Au/TiO₂	0.68
Ag/TiO₂	0.30
Cu/TiO₂	0.62

5.4.1.2. Absorción UV-vis y determinación del banda de energía

Se obtuvieron los espectros UV-vis de reflectancia difusa para cada uno de los catalizadores (fig. 5.6), con el fin de determinar el efecto que tiene el depósito de nanopartículas metálicas en la superficie del TiO₂ sobre la energía de banda

prohibida, comparado con la energía de banda prohibida del TiO_2 sin observarse modificaciones. A partir de los espectros y mediante el modelo de Kubelka-Munk se determinó la energía de banda prohibida. En la tabla 5.18 se muestran los resultados.

Tabla 5.18. Energía de banda prohibida de los catalizadores usados.

Catalizador	Banda de energía (eV)
Au/TiO_2	3.1
Ag/TiO_2	3.2
Cu/TiO_2	3.1
TiO_2	3.4

De acuerdo a lo presentado en la tabla 5.18, se observa que para los tres catalizadores existe una disminución discreta en la energía de banda prohibida respecto al TiO_2 empleado como referencia, lo que significa que el depósito de nanopartículas metálicas favorece la disminución de la diferencia de potencial entre el nivel de Fermi y la banda de conducción del depósito [46].

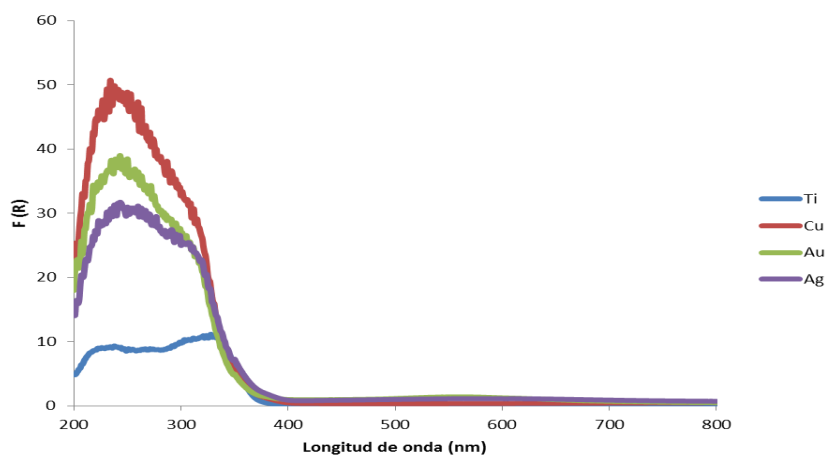


Figura 5.6. Espectro UV-vis de reflectancia difusa.

5.4.2. Pruebas de actividad catalítica en la degradación de paraquat activado por luz UV

Se realizaron pruebas de actividad fotocatalítica para la remoción de paraquat bajo irradiación con luz UV, empleando para ello los diferentes catalizadores sintetizados. Las matrices probadas en estos experimentos fueron agua desionizada y agua de manantial proveniente del Valle del Mezquital. La carga de metal empleada en cada fotocatalizador fue de 0.5% en peso. Se realizó un seguimiento cualitativo de la concentración del paraquat por medio de espectrometría UV-vis, por lo que fue necesario realizar una curva de calibración con soluciones de paraquat de concentración conocida para poder estimar la concentración del pesticida en cada alícuota que se tomó cada cierto tiempo durante el desarrollo del experimento fotocatalítico (fig. 5.7a). Se cuantificó el compuesto empleando el método analítico validado en este trabajo y por último se determinó la mineralización del compuesto mediante un equipo de medición de carbono orgánico total (TOC). Adicionalmente, se realizaron los mismos experimentos empleando el agua de origen ambiental sin adición de paraquat.

En la figura 5.7 se puede observar que en el agua desionizada, los tres fotocatalizadores sintetizados y el TiO_2 , reducen significativamente la concentración del paraquat, comparada con la fotólisis que no logra degradar de manera eficiente el compuesto, por lo que se comprueba que el paraquat no es fácilmente fotodegradable.

Por otro lado los catalizadores modificados presentan una mejora significativa en la cinética de degradación del paraquat, con respecto al TiO_2 y la fotólisis. Esto puede deberse a varios factores, tales como la barrera de Schottky y la disminución de la diferencia de potencial entre el nivel de Fermi y la banda de conducción, lo que facilita la acumulación de electrones en las nanopartículas metálicas, impidiendo la recombinación del par hueco-electrón, por lo que los catalizadores con depósito superficial tienen una mayor eficiencia fotocatalítica [44].

Esto también se observa al emplear el agua de origen ambiental como medio (fig. 5.8), aunque la actividad fotocatalítica se redujo de manera perceptible para los fotocatalizadores de TiO_2 y Cu/TiO_2 . Algunos autores sugieren que el rendimiento de estos fotocatalizadores se ve influenciado por los iones bicarbonato, así como por el contenido de sales y materia orgánica disuelta [59]

Comparado las dos matrices de agua estudiadas, en el caso del fotocatalizador de Au/TiO_2 aumentó su actividad fotocatalítica en el agua de origen ambiental, mientras que el fotocatalizador de Cu/TiO_2 disminuyó su actividad en dicha matriz, comparado con el agua desionizada donde el efecto fotocatalítico de estos dos

compuestos es contrario, es decir, el Au/TiO₂ presenta una actividad fotocatalítica menor que el Cu/TiO₂. Por último, el fotocatalizador de Ag/TiO₂ no tuvo diferencias significativas en la degradación del paraquat, tanto en agua desionizada como en agua de manantial, degradando al pesticida casi por completo después de 300 minutos de reacción. Esto es debido a las diferencias de electronegatividades de los tres metales, en donde el Cu y la Ag tienen una menor electronegatividad que el Au, lo que facilita la degradación del O₂ a un superóxido que el Au no puede realizar de manera eficiente, lo cual se ve reflejado en los experimentos realizados al comparar el Au/TiO₂ y el Ag/TiO₂ [44].

En la figura 5.9 se observa la degradación de la materia orgánica presente en el agua de origen ambiental, donde los posibles productos de la degradación no absorben en toda la región del UV-vis, por lo que se puede considerar que no se tiene un efecto de matriz considerable para la determinación cualitativa del paraquat, cuando éste se encuentra disuelto en el medio.

Cabe mencionar que la degradación fotocatalítica del paraquat fue estimada de manera cualitativa y en los gráficos que se encuentran en las figuras 5.7 y 5.8 solo se observa la disminución de la señal del paraquat conforme transcurre el tiempo sin dar información sobre la concentración remanente del pesticida en el medio, la cual fue determinado en experimentos posteriores.

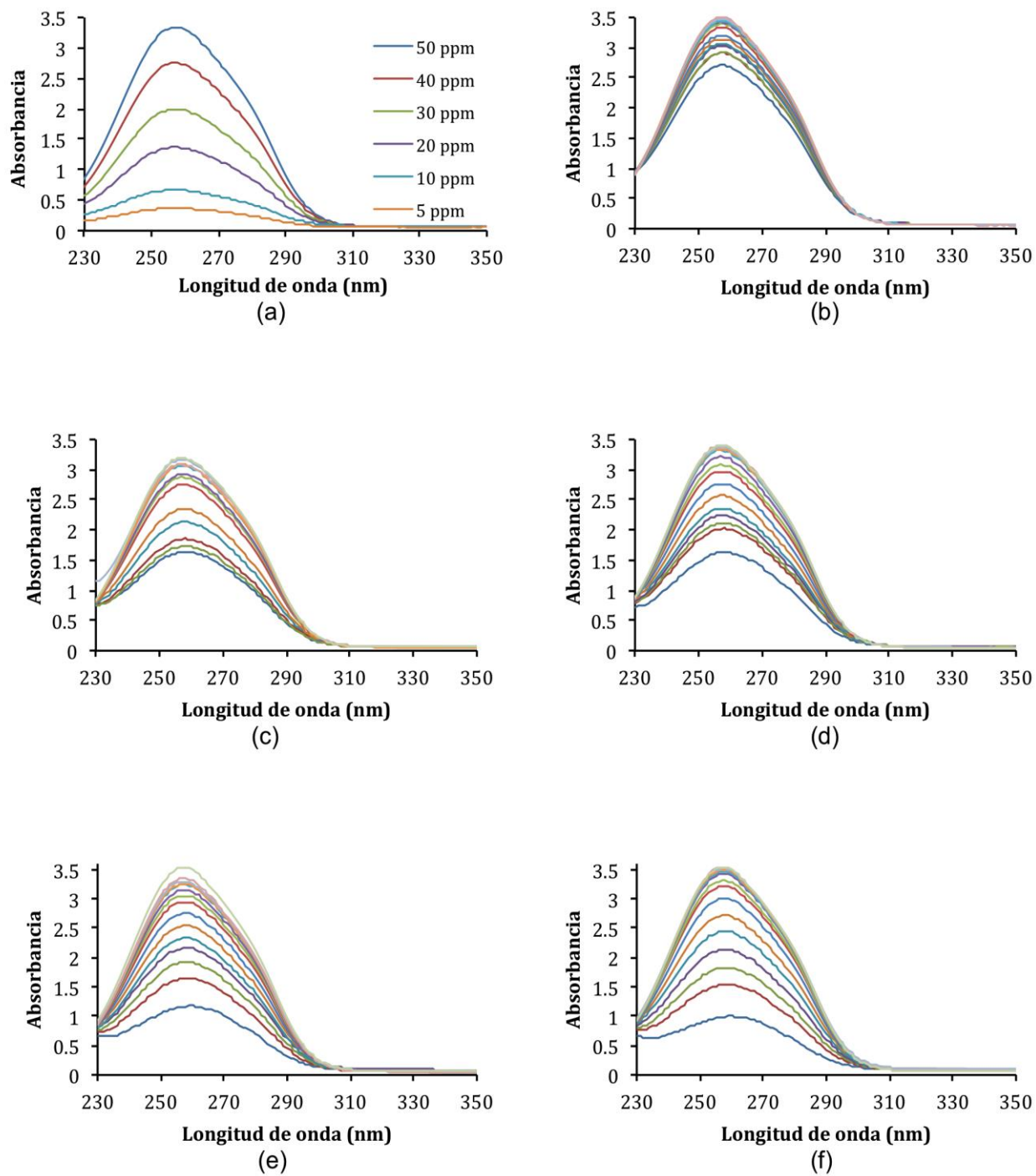


Figura 5.7. Determinación cualitativa de paraquat por espectrofometría UV-vis en un intervalo de longitud de onda de 230 a 350 nm. Curva de calibración empleando concentraciones conocidas del pesticida (a), fotólisis del paraquat (b), fotocatalizadores evaluados: TiO₂ (c), Au/TiO₂ (d), Ag/TiO₂ (e) y Cu/TiO₂ (f) empleando agua desionizada como medio de reacción.

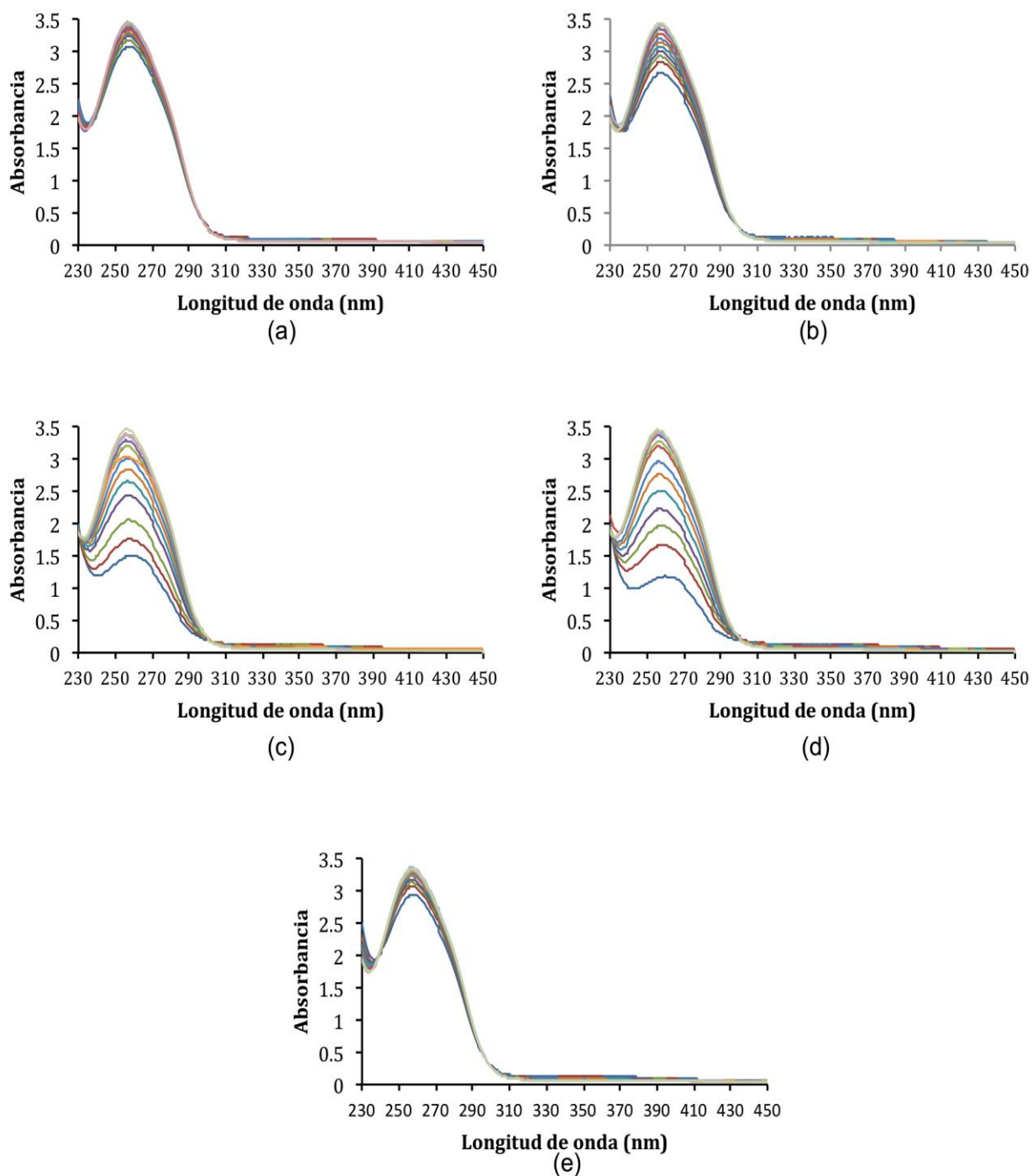


Figura 5.8. Determinación cualitativa de paraquat por espectrofotetría UV-vis en un intervalo de longitud de onda de 230 a 350 nm. Fotólisis del paraquat (a), fotocatalizadores evaluados: TiO_2 (b), Au/TiO_2 (c), Ag/TiO_2 (d) y Cu/TiO_2 (e) empleando agua de origen ambiental como medio de reacción.

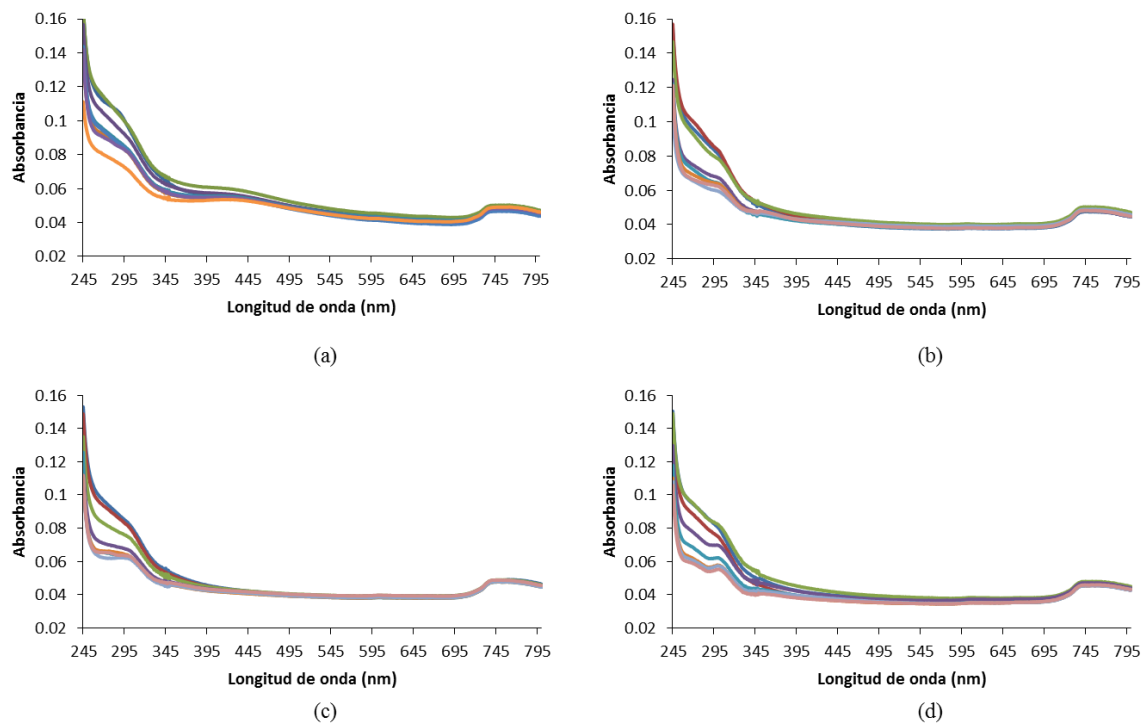


Figura 5.9. Determinación cualitativa de paraquat por espectrofotetría UV-vis en un intervalo de longitud de onda de 245 a 795 nm. Fotocatalizadores evaluados: TiO_2 (a), Au/TiO_2 (b), Ag/TiO_2 (c) y Cu/TiO_2 (d) empleando agua de origen ambiental sin paraquat.

5.4.3. Mineralización medida mediante carbono orgánico total (TOC)

En la figura 5.10 se presentan los gráficos comparativos correspondientes al porcentaje de mineralización después de 300 minutos de irradiación con luz UV empleando agua desionizada y agua de manantial como medio de reacción. Se observa que, en el caso del agua desionizada, para los catalizadores de Ag/TiO_2 y Cu/TiO_2 mejora la mineralización del paraquat en comparación con la fotólisis y el TiO_2 , aunque el fotocatalizador de Au/TiO_2 tiene un efecto catalítico menos importante que los otros tres fotocatalizadores antes mencionados.

En el caso del agua de manantial, los tres fotocatalizadores sintetizados presentan una mejoría notable sobre la mineralización del paraquat alcanzando alrededor del 40%, comparado con la fotólisis y el TiO_2 que presentan porcentajes de mineralización menores al 30%.

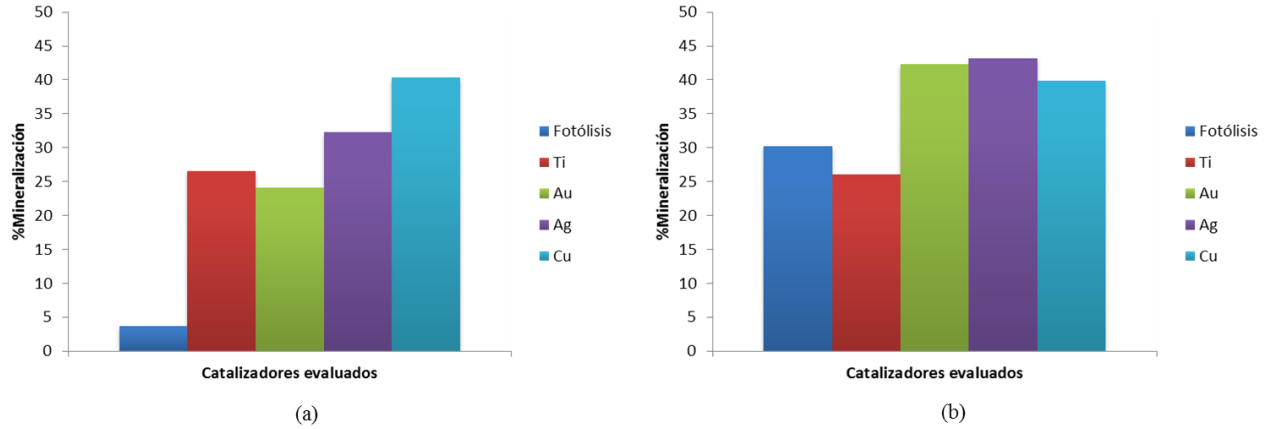


Figura 5.10. Porcentaje de mineralización de paraquat en agua desionizada (a) y en agua de manantial (b) empleando TOC después de 300 min. de reacción.

En la figura 5.11 se muestra la cinética de degradación de paraquat para la fotólisis y los cuatro fotocatalizadores empleando las dos matrices de trabajo, donde se pueden observar comportamientos diferentes comparando los cinco casos estudiados.

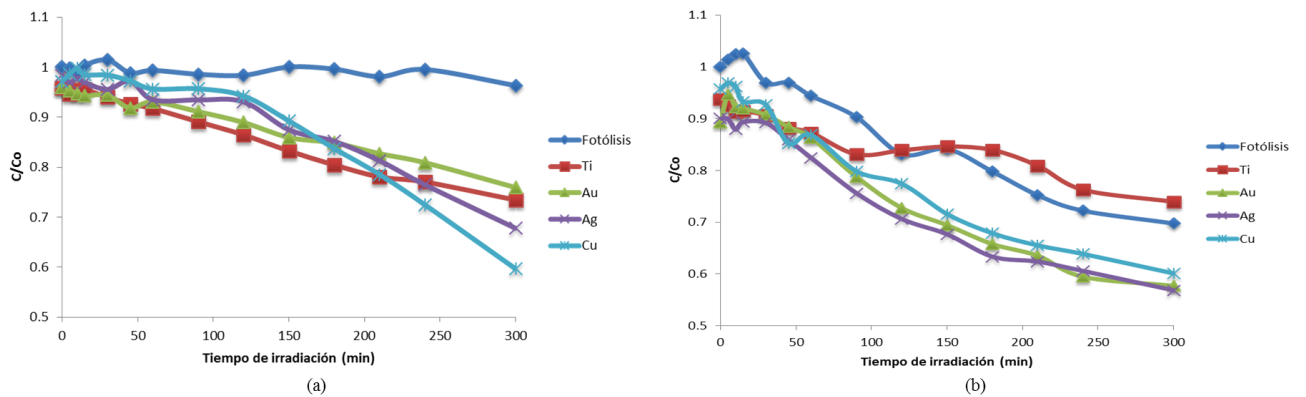


Figura 5.11. Cinética de degradación del paraquat empleando agua desionizada (a) y agua de manantial (b).

Por último, en la figura 5.12 se presentan la degradación de la materia orgánica presente en el agua de manantial, sin adición de paraquat, donde se puede observar que dicha materia orgánica no se degrada por completo después de 300 minutos de reacción y comparando con la gráfica de la figura 5.11b se puede inferir que la materia orgánica presente en el muestra ambiental de agua puede ser un interferente para determinar, de manera efectiva, el porcentaje la mineralización del paraquat por el método de TOC, ya que ambas gráficas

presentan comportamientos muy similares. Cabe señalar que el catalizador de Cu/TiO_2 tiene un menor efecto fotocatalítico sobre la materia orgánica, como ocurrió cuando se adicionó paraquat al medio, comparado con los catalizadores de Au/TiO_2 y Ag/TiO_2 que tienen comportamientos similares entre sí.

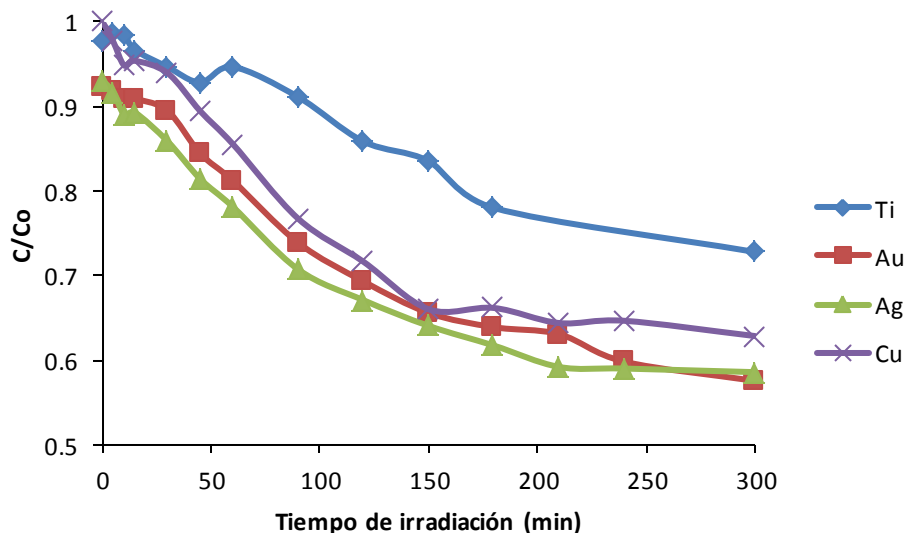


Figura 5.12. Cinética de degradación de los componentes orgánicos presentes en el agua de manantial determinada por TOC.

5.4.4. Degradación medida por medio del método espectrofotométrico validado

El seguimiento de la concentración del paraquat se llevó a cabo mediante el método espectrofotométrico validado para la cuantificación del pesticida.

En la figura 5.13a se puede observar que los tres fotocatalizadores sintetizados mejoran la degradación del paraquat, comparado con el TiO_2 y la fotólisis. El orden de degradación propuesto es: $\text{Cu}/\text{TiO}_2 > \text{Ag}/\text{TiO}_2 > \text{Au}/\text{TiO}_2 > \text{TiO}_2$; mientras que en la figura 5.13b, donde se muestran los resultados con agua de manantial, se observa una mayor eficiencia por parte del fotocatalizador de Ag/TiO_2 y del Au/TiO_2 , aunque se observa un decremento de actividad del fotocatalizador Cu/TiO_2 .

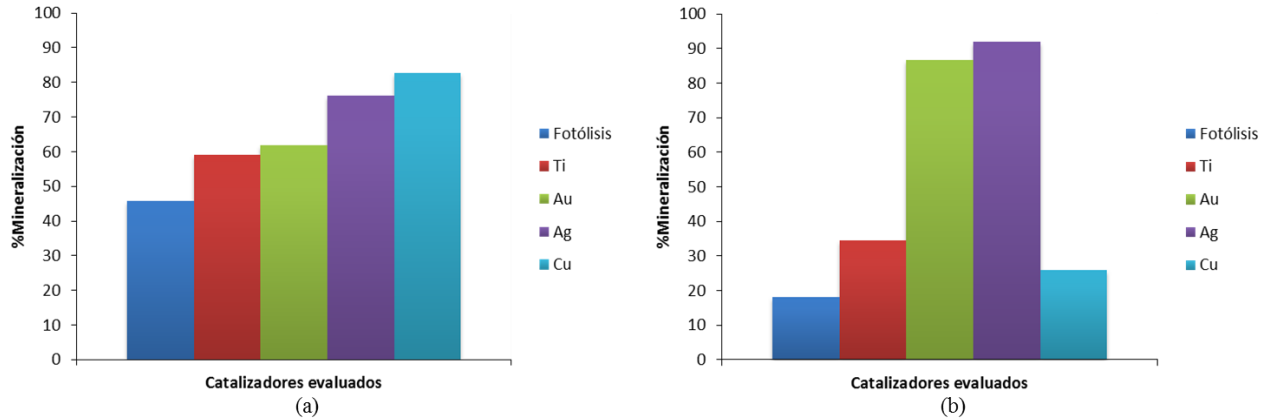


Figura 5.13. Porcentaje de mineralización de paraquat en agua desionizada (a) y en agua de manantial (b) empleando espectrofotometría después de 300 min. de reacción.

En la figura 5.14 se muestra la cinética de mineralización del paraquat empleando ambos tipos de agua, donde nuevamente es evidente que el fotocatalizador de Cu/TiO_2 y Ag/TiO_2 presentan una degradación más eficiente en el agua desionizada (fig. 5.14a), mientras que en el agua de manantial (fig. 5.14b) los catalizadores que presentan mejor actividad fotocatalítica son el Au/TiO_2 y el Ag/TiO_2 , donde este último casi elimina por completo el pesticida después de 300 minutos de reacción. Nuevamente se observa el decremento de la actividad del fotocatalizador de Cu/TiO_2 al analizar las muestras por este método instrumental.

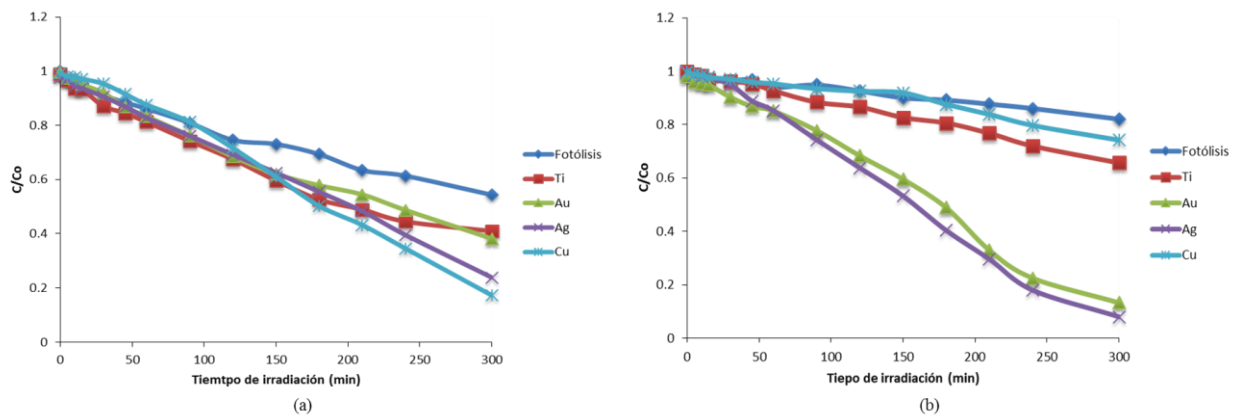


Figura 5.14. Cinética de degradación del paraquat en agua desionizada (a) y agua de manantial (b) empleando espectrofotometría.

Es importante mencionar, que estos experimentos también fueron realizados en agua de manantial sin adición de paraquat. Se determinó la concentración de paraquat en muestras tomadas en cada experimento de fotocatalisis en el intervalo de tiempo entre 0 y 300 minutos. La concentración resultante para todos

los casos fue de 0.0 mg/L, por lo tanto, la materia orgánica presente en el agua durante el avance de la reacción no es interferente para cuantificar el paraquat por el método espectrofotométrico validado en este trabajo, comparado con la técnica de medición de carbono orgánico total (TOC).

Cabe mencionar que también se determinó la concentración de paraquat para cada uno de los experimentos estudiados empleando el espectrofotómetro Agilent, donde no se cuenta con el método instrumental validado, usando una curva de calibración con estándares de paraquat de concentración conocida (fig. 5.7a) con el fin de construir las curvas de degradación del paraquat en ambos tipos de agua (ANEXOS). Los resultados muestran que las curvas construidas con el método validado no difieren mucho del método no validado, sin embargo, para que los resultados tengan validez es importante realizar la validación del método para determinar la concentración real del paraquat en este equipo.

Las diferencias fotocatalíticas presentes entre las dos matrices de agua (agua desionizada y de manantial) pueden ser ocasionada por las siguientes razones, las cuales son congruentes con lo propuesto por Carra y colaboradores en la fotodegradación del acetaminoprid [59]:

- La presencia de materia orgánica disuelta y aniones en matrices de agua ambientales puede reducir la eficiencia de la fotocatalisis, ya que pueden bloquear o competir por los sitios disponibles en la superficie del fotocatalizador y de esta manera reducir la adsorción de fotones en el material
- Al aumentar la alcalinidad del agua ocasiona que el TiO_2 forme agregados, esto se traduce en una reducción en el área disponible para que ocurran las reacciones en la superficie del fotocatalizador.
- Por otro lado, si el agua de origen ambiental presenta moléculas de ácidos húmicos disueltos, pueden afectar el proceso de fotólisis, debido a que estas moléculas presentan una adsorción muy alta de luz UV, actuando como filtros evitando la fotodegradación del paraquat.

Cabe señalar que en este trabajo no fueron comprobadas estas afirmaciones de manera experimental.

5.4.5. Determinación de la constante de rapidez

En la tabla 5.19 se reportan las constantes de rapidez ajustadas a cinéticas de degradación de pseudo-primer orden y pseudo-segundo orden, para la reacción de fotodegradación de paraquat, en dos matrices de agua diferentes, empleando los fotocatalizadores sintetizados, usando como métodos instrumentales de

análisis espectrofotometría y TOC. Entre mayor sea la constante de velocidad de reacción, mayor será la actividad fotocatalítica de degradación del paraquat.

Los resultados indican que, en el caso del agua desionizada, se cumple que la fotólisis tiene un valor de constante rapidez más pequeña comparado con los otros experimentos realizados, por lo que se confirma que este compuesto muestra una fotodegradación muy lenta empleando luz UV. Según los resultados observados de las constantes de rapidez de los fotocatalizadores sintetizados, se tiene una incongruencia con respecto a los resultados mostrados anteriormente sobre la mineralización del paraquat, lo cual se puede deber a que los productos de degradación están compitiendo con el paraquat por los sitios disponibles para llevar a cabo la reacción de fotodegradación.

En el caso del agua de origen ambiental, también se observa una incongruencia con los resultados de mineralización presentados con anterioridad, lo cual se puede deber a que los componentes orgánicos de la matriz que son susceptibles a degradación empleando estos fotocatalizadores, nuevamente compiten con el pesticida así como con los productos de degradación del mismo, mostrando constantes de reacción que no corresponden solamente a la fotodegradación del paraquat, sino a todos los componentes orgánicos que se encuentran en el agua.

Tabla 5.19. Constante de rapidez ajustada a una cinética de degradación de pseudo-primer orden y pseudo-segundo orden.

Método de cuantificación	TOC						Espectrofotometría					
	Desionizada			Manantial			Desionizada			Manantial		
	Orden	K (min ⁻¹)	r ²	Orden	K (min ⁻¹)	r ²	Orden	K (min ⁻¹)	r ²	Orden	K (min ⁻¹)	r ²
Fotólisis	2	8x10 ⁻⁶	0.875	1	0.0015	0.939	2	3x10 ⁻⁵	0.985	1	5x10 ⁻⁴	0.977
TiO₂	1	1x10 ⁻³	0.986	2	5x10 ⁻⁶	0.862	2	7x10 ⁻⁵	0.984	2	3x10 ⁻⁵	0.993
Au/TiO₂	1	7x10 ⁻⁴	0.985	2	1x10 ⁻⁵	0.962	1	0.0029	0.994	2	5x10 ⁻⁵	0.988
Ag/TiO₂	1	8x10 ⁻⁴	0.923	1	0.0013	0.807	1	0.0027	0.993	1	0.0027	0.963
Cu/TiO₂	1	8x10 ⁻⁴	0.842	1	0.0021	0.855	1	0.0022	0.979	1	7x10 ⁻⁴	0.949

5.4.6. Estudio fotocatalítico del paraquat en una muestra de lixiviado de hojas provenientes de árboles de un mangle.

Para determinar el efecto que tiene la materia orgánica disuelta sobre los catalizadores sintetizados al momento de fotocatalizar la degradación del paraquat, se realizó un extracto de hojas provenientes de árboles que se encuentran en un manglar empleando agua desionizada como medio.

Después de una semana de contacto, se procedió a filtrar el agua, para eliminar las partículas sólidas de mayor tamaño así como las suspendidas, en un sistema de filtración a vacío empleando una malla de tamaño de poro de 0.45 μm .

El lixiviado resultante tenía un alto contenido de materia orgánica disuelta (DOM por sus siglas en inglés) donde las sustancias húmicas son las principales constituyentes. Estas sustancias húmicas son mezclas polidispersas de polielectrolitos orgánicos naturales y su comportamiento químico está determinado en general por dos tipos de grupos funcionales: carboxílico y fenólico. La ionización parcial de estos grupos ácidos confiere a las moléculas húmicas una carga negativa, cuya magnitud depende del pH [57].

Posteriormente, con el extracto resultante, se realizó una solución de paraquat de 50 mg/L. Al adicionar el pesticida en este medio, se observó la presencia de un precipitado color café pardo. La aparición de este precipitado se atribuye a la interacción que tiene el pesticida con las sustancias húmicas que se encuentran disueltas en el medio. El paraquat, debido a su carácter catiónico, interactúa con los grupos carboxilato y/o fenolato de las sustancias húmicas a través de un mecanismo de intercambio catiónico, el cual depende del grado de ionización de estos grupos. Algunos autores han encontrado que el aumento del pH del medio favorece la unión del pesticida con las sustancias húmicas, del mismo modo la fuerza iónica juega un papel muy importante, ya que si se tiene una concentración elevada de cationes en el medio esta interacción se ve desfavorecida [57, 58].

Debido a la aparición del precipitado, se filtró nuevamente la disolución de paraquat para someterla a las pruebas fotocatalíticas, empleando los fotocatalizadores estudiados en este trabajo. No fue posible analizar los resultados de estos experimentos debido a que la matriz resultante era muy compleja para la determinación de la concentración de paraquat remanente empleando las técnicas analíticas mencionadas anteriormente (TOC y espectrofotometría), sin embargo se demostró que una elevada concentración de materia orgánica disuelta interactúa con el paraquat disminuyendo así su biodisponibilidad en medios acuosos.

6. CONCLUSIONES

6.1. Validación del método instrumental

El método propuesto para la cuantificación de paraquat es aplicable en un intervalo de concentración entre 0.08 y 14 mg/L.

Los parámetros de desempeño encontrados en este método de análisis son adecuados para su propósito, ya que presenta límites de detección y de cuantificación de 0.01 mg/L y 0.08 mg/L respectivamente, así como buenos resultados de precisión (<2.7%) y exactitud (>93%), cumpliendo con los criterios de aceptación que muestra la literatura.

Se presentaron valores de recobro aceptables cuando se aplica el método instrumental validado en muestras ambientales acuosas, sin la presencia de interferentes de matriz para uno de los dos niveles de concentración evaluados (4.0 mg/L), presentando una exactitud entre el 92 y 105%, cumpliendo con los criterios de aceptación que se encuentra en la literatura según la concentración empleada; sin embargo, debido a esto, se puede decir que el método es robusto con respecto a la matriz.

Por otro lado los recobros obtenidos después de 30 días, en los que el pesticida estuvo en contacto con la matriz, se encuentran comprendidos entre el 95 y 104% a un nivel de concentración de 4.0 mg/L, siendo valores aceptables, por lo que es posible decir que los componentes disueltos en las matrices de trabajo no influyen en la cuantificación debido a que no reaccionan con el paraquat.

Se observó que para el nivel de concentración de 0.4 mg/L, en algunos casos, se tuvieron valores de recobro que no son aceptables, según lo reportado en la literatura, por lo que los componentes de la matriz dificultan la cuantificación del paraquat a este nivel de concentración.

6.2. Optimización del método por extracción en fase sólida

Se desarrolló un método de tratamiento de muestra para la limpieza de la muestra y pre-concentración de paraquat, en muestras de agua de origen ambiental a partir de extracción en fase sólida (EFS).

Se optimizó el método de tratamiento de la muestra donde para el acondicionamiento, equilibramiento y lavado se empleó metanol, agua desionizada y ácido clorhídrico 0.1 mol/L respectivamente, así como el eluyente seleccionado fue una disolución de cloruro de amonio concentrado. También se comprobó que la retención del paraquat en el sistema de EFS es independiente del flujo de carga

de la muestra y que se puede cargar hasta un volumen de 500.0 mL debido a que el pesticida no se fugó del sistema.

Por otro lado, se presentaron valores de recobro aceptables para los niveles de concentración evaluados, entre el 90 y 105%, cuando se aplica el método de pre-concentración en muestras de agua ambientales eliminándose el efecto matriz. El factor de concentración encontrado fue de casi 50 veces, sin embargo solo se logró una buena pre-concentración hasta 0.02 mg/L debido a las limitantes del método instrumental empleado para el análisis de las muestras resultantes del método de tratamiento de muestra propuesto.

Se sugieren los valores de 0.01 y 0.02 mg/L como límite de detección y de cuantificación respectivamente, aunque no fueron comprobados de forma estadística.

6.3. Fotodegradación del paraquat

Por medio de las técnicas de síntesis desarrolladas por Avella y colaboradores [36, 44] se logró sintetizar y caracterizar tres materiales fotocatalíticos basados en TiO_2 modificados en superficie con nanopartículas monometálicas de Au, Ag y Cu empleando una carga del metal de 0.5%

Se desarrollaron experimentos fotocatalíticos empleando dos matrices de agua (desionizada y de origen ambiental) para estudiar la fotodegradación del paraquat en presencia de los materiales sintetizados.

En las pruebas de actividad catalítica se encontró que en la degradación fotocatalítica de paraquat bajo luz UV, el fotocatalizador de Ag/TiO_2 presenta una actividad fotocatalítica similar al emplear agua desionizada y agua de manantial, permitiendo mineralizar entre el 80 y 90% del compuesto respectivamente, cuantificado por espectrofotometría.

Los catalizadores de Au/TiO_2 y Cu/TiO_2 presentan variaciones al emplear los dos medios acuosos, en este último se observó un decremento notable de la reacción fotocatalítica al emplear el agua de manantial.

El conjunto de resultados obtenidos permitieron ordenar la eficiencia de mineralización de los fotocatalizadores sintetizados en cada tipo de agua estudiado, como se muestra a continuación: $\text{Cu/TiO}_2 > \text{Ag/TiO}_2 > \text{Au/TiO}_2 > \text{TiO}_2 > \text{fotólisis}$ para el agua desionizada, mientras que para el agua de manantial el orden propuesto es $\text{Ag/TiO}_2 > \text{Au/TiO}_2 > \text{TiO}_2 > \text{Cu/TiO}_2 > \text{fotólisis}$.

No fue posible demostrar la respuesta fotocatalítica de los materiales sintetizados utilizando un lixiviado de hojas de árboles de manglar, ya que no se pudo cuantificar la concentración remanente de paraquat por el método instrumental de análisis propuesto debido a la complejidad de la muestra, sin embargo, se comprobó, que teniendo concentraciones elevadas de materia orgánica disuelta, pueden adsorber al paraquat eliminándolo del medio por medio una reacción de precipitación.

Estos ensayos amplían la información conocida sobre la degradación y mineralización del paraquat, ya que los estudios que se han realizado en esta área son pocos y no se encontraron trabajos donde se reporten los fotocatalizadores sintetizados.

Otra de las contribuciones se refiere al estudio de los fotocatalizadores empleando agua de origen ambiental, ya que solo se encontró un trabajo donde se usa una matriz diferente al agua destilada o desionizada. Esto es relevante y de suma importancia para proponer nuevos métodos de remoción del pesticida de las fuentes de agua epicontinental y los posibles efectos que los constituyentes de la matriz puedan causar sobre las reacción fotocatalítica principal, ya que los fotocatalizadores sintetizados no son específicos y pueden degradar y mineralizar cualquier molécula que se encuentre en el medio.

7. ANEXOS

Prueba de hipótesis.

Prueba de hipótesis sobre la pendiente de la curva de calibración:

Hipótesis nula, H_0	Hipótesis alterna, H_1
$m = 0.1432$, riesgo $\alpha = 0.05$	$t_{cal} = 272.50$
$H_0 : m = 0$	$t_{tabla} = 1.68$
$H_1 : m > 0$	$t_{cal} > t_{tabla}$ por lo que se rechaza H_0

Prueba de hipótesis sobre la ordenada al origen de la curva de calibración:

Hipótesis nula, H_0	Hipótesis alterna, H_1
$b = 0.0141$, riesgo $\alpha = 0.05$	$t_{cal} = 4.2212$
$H_0 : b = 0$	$t_{tabla} = 1.68$
$H_1 : b > 0$	$t_{cal} > t_{tabla}$ por lo que se rechaza H_0

Prueba de hipótesis sobre la pendiente de la curva de calibración para la evaluación de la presencia del efecto matriz:

Hipótesis nula, H_0	Hipótesis alterna, H_1
$m = 1.0046$, riesgo $\alpha = 0.05$	$t_{cal} = 0.3281$
$H_0 : m = 1$	$t_{tabla} = 2.78$
$H_1 : m \neq 1$	$t_{cal} < t_{tabla}$ por lo que se acepta H_0

Prueba de hipótesis sobre la ordenada al origen de la curva de calibración para la evaluación de la presencia del efecto matriz:

Hipótesis nula, H_0	Hipótesis alterna, H_1
$b = -0.0015$, riesgo $\alpha = 0.05$	$t_{cal} = -0.1312$
$H_0 : b = 0$	$t_{tabla} = 2.78$
$H_1 : b \neq 0$	$t_{cal} < t_{tabla}$ por lo que se acepta H_0

Prueba de hipótesis sobre la pendiente de la curva de calibración para determinar el factor de concentración:

a) Agua desionizada.

Hipótesis nula, H_0

$m = 50.074$, riesgo $\alpha = 0.05$

$H_0 : m = 50$

$H_1 : m \neq 50$

Hipótesis alterna, H_1

$t_{cal} = 0.2218$

$t_{tabla} = 2.45$

$t_{cal} < t_{tabla}$ por lo que se acepta H_0

b) Agua de manantial.

Hipótesis nula, H_0

$m = 49.974$, riesgo $\alpha = 0.05$

$H_0 : m = 50$

$H_1 : m \neq 50$

Hipótesis alterna, H_1

$t_{cal} = -0.0497$

$t_{tabla} = 2.14$

$t_{cal} < t_{tabla}$ por lo que se acepta H_0

c) Agua de río.

Hipótesis nula, H_0

$m = 49.449$, riesgo $\alpha = 0.05$

$H_0 : m = 50$

$H_1 : m \neq 50$

Hipótesis alterna, H_1

$t_{cal} = -0.5767$

$t_{tabla} = 2.31$

$t_{cal} < t_{tabla}$ por lo que se acepta H_0

d) Agua residual.

Hipótesis nula, H_0

$m = 49.895$, riesgo $\alpha = 0.05$

$H_0 : m = 50$

$H_1 : m \neq 50$

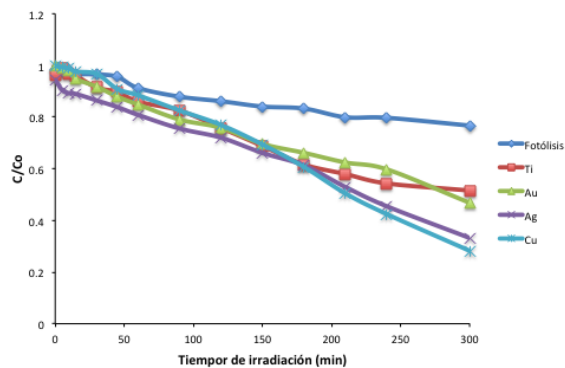
Hipótesis alterna, H_1

$t_{cal} = -0.1321$

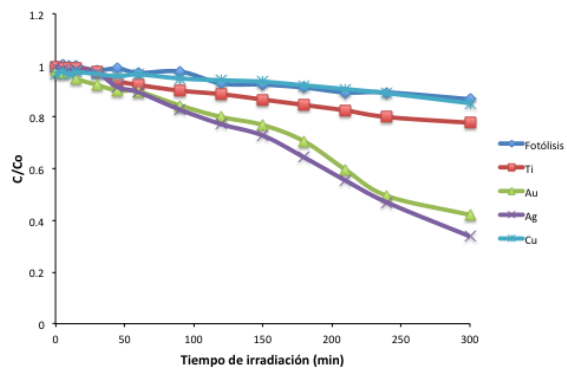
$t_{tabla} = 2.14$

$t_{cal} < t_{tabla}$ por lo que se acepta H_0

Pruebas fotocatalíticas



(a)



(b)

Cinética de degradación del paraquat en agua desionizada (a) y agua de manantial (b) con el método no validado empleando el espectrofotómetro Agilent.

8. REFERENCIAS

- [1] Barbash J.E., Thelin G.P., Kolpin D.W., Gillio R.J. (2001) Major herbicides in ground water: Results from the national water-quality assessment. *Journal Environmental Quality*, Vol. 30, No. 3, 831- 845.
- [2] Fytizas R (1980). Toxicity of paraquat to three marine organisms. *Bulletin Environmental Contamination Toxicology*. **25**, 283-288.
- [3] Lott P., Lott J., Doms D. (1978) The Determination of Paraquat. *Journal of Chromatography Science* Vol. 16, 390-395.
- [4] Hao C., Zhao X., Morse D., Yang P., Taguchi V., Morra F. (2013) Optimized liquid chromatography tandem mass spectrometry approach for the determination of Diquat and Paraquat herbicides. *Journal of Chromatography A* 1304, 169-176.
- [5] Watts M. (2011) Paraquat. *Pesticide Action Network Asia and the Pacific (PAN AP)*, 44 páginas.
- [6] Galceran M.T. (1998) Análisis de amonio cuaternario (quats) utilizados como herbicidas v controladores del crecimiento. *Plaguicidas. Aspectos ambientales, anaíticos y toxicológicos* Ed. I Morell y L. Candela, 239-257.
- [7] Feihu Y., Hailong L., Guangquan W., Liming D., Xiaofen Y., Yunlong F. (2013) Determination of paraquat in water samples using a sensitive fluorescent probe titration method. *Journal of Environmental Sciences*, Vol. 25(6), 1245–1251.
- [8] FAO plant production and protection paper. (2004) Pesticides residues in food-2004. Join FAO/WHO Meeting on Pesticides Residues. Part 1-Residues Volume 1. 533-698.
- [9] Smith E. A., Mayfield C. I. (1978) Paraquat: determination, degradation and mobility in soil. *Water, Air, and Soil Pollution***9**, 439-452.
- [10] Shivhare P., Gupta V. K. (1991) Spectrophotometric method for the determination of paraquat in water, grain and plant materials. *Analyst*, Vol. 116, 391-393.
- [11] Ganesan M., Natesan S., Ranganathan V. (1979) Spectrophotometric method for the determination of paraquat. *Analyst*, Vol. 104, 258-261.
- [12] Yuen S. H., Bagness J. E., Myles D. (1967) Spectrophotometric Determination of Diquat and Paraquat in Aqueous Herbicide Formulations. *Analyst*, Vol. 92, 375-381.

- [13] J.Miller, J.Miller. (2002). Estadística y Quimiometría para Química Analítica. Prentice Hall, España.
- [14] Fernández M, Ibáñez M, Pico Y, Manes J. (1998). Spatial and temporal trends of paraquat, diquat, and difenzoquat contamination in water from marsh areas of the Valencian Community (Spain). *Archives Environmental Contamination and Toxicology*35(3):377-384.
- [15] CENAM (2005). Guía EURACHEM. MÉTODOS ANALÍTICOS ADECUADOS A SU PROPÓSITO. Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados. Segunda edición. México. 67 páginas.
- [16] EMA CENAM. Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico. Primera edición México. 47 páginas
- [17] CCAYAC (2011). Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos.
- [18] Taverniers I., De Loose M., Van Bockstaele E. (2004) Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 23, No. 8.
- [19] Thompson M., Ellison S. (2004) A review of interference effects and their correction in chemical analysis with special reference to uncertainty. *Accreditation and Quality Assurance*. 10, 82-97.
- [20] Barrueta L., Gallo B., Vicente F. (1995) A Review of Solid Phase Extraction: Basic Principles and New Developments. *Chromatographia* Vol. 40, No. 7/8. 474-483.
- [21] Nickerson B., Colón I. (2011) Sample Preparation of Pharmaceutical Dosage Forms: Challenges and Strategies for Sample Preparation and Extraction. Ed. Springer. 63-92
- [22] S. Svarc-Gajic. (2012) Chemistry research and application. Sampling and sample preparation in analytical chemistry. Plublicado por Nova Science Publishers. New York. 277 pp.
- [23] Zwir-Ferenc A., Biziuk M. (2006) Solid Phase Extraction Technique-Trends, Opportunities and Applications. *Polish Journal of Environmental Stud.* Vol 15, No. 5, 677-690.
- [24] Buszewski B., Szultka M. (2012) Past, Present, and Future of Solid Phase Extraction: A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 42, 198-213.

- [25] Picó Y., Font G., Moltó J., Mañes J. (2000) Solid-phase extraction of quaternary ammonium herbicides. *Journal of Chromatography A*, 885, 251-271.
- [26] Hennion M.C., Coquart V. (1993) Comparison of reversed-phase extraction sorbents for the on-line trace enrichment of polar organic compounds in environmental aqueous samples. *Journal of Chromatography A*. 642; 211-224.
- [27] Mouratidis S., Their H. (1995) Solid phase extraction for the confirmation of results in polar pesticides residues analysis by HPLC. *Z Lebendm Unters Forsch* 201: 327-330.
- [28] Restrepo G., Rios L., Marín J., Montoya J., Velázquez J. (2008) Evaluación del tratamiento fotocatalítico de aguas residuales industriales empleando energía solar. Universidad Nacional de Colombia. Vol. 75, No. 155. Biblioteca Digital Portal de revistas UN, consultada el 5 de noviembre del 2015. <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/dyna/article/view/1749/11589>
- [29] Chorkendorff I., Niemantsverdriet J. W. (2007) Concepts of Modern Catalysis and Kinetics. Second, Revised and Enlarged Edition. 457 pp. Germany. Ed. WILEY-VCH
- [30] Blesa M. A., Sánchez B. (2004) Eliminación de contaminantes por fotocátalisis heterogénea. Editorial CIEMAT, Madrid.
- [31] N. L. Allinger. (1991) Química Orgánica. 2ª edición. Ed. Reverte Barcelona
- [32] R. F. Dantas, O. Rossiter, A. K. R. Teixeira, A. S. M. Simões, V. L. Da Silva. (2010) Direct UV photolysis of propranolol and metronidazole in aqueous solution. *Chemical Engineering Journal* 158. 143-147
- [33] Pasto D., Johnson C. (1961) Determinación de Estructuras Orgánicas. Ed. Reverte, España.
- [34] Ege S. (1998) Química Orgánica: Estructuras Orgánicas. Ed. Reverte, España.
- [35] Larso R. (1994) Reaction mechanisms in environmental organic chemistry. 1ª ed. CRS Press, EUA.
- [36] Tesis. Uso de TiO₂ modificado en superficie con nanopartículas mono y bi-metálicas de Au, Ag y Cu para la remoción fotocatalítica de ciprofloxacino y sulfametaxol en agua. Avella Fernández Edwin Iván. UNAM, 2015.

- [37] Moctezuma E., Leyva E., Monreal E., Villegas N., Infante D. (1999) Photocatalytic degradation of the herbicide "paraquat". *Chemosphere*, Vol. 29, No. 3, 511-517
- [38] Cantavenera M., Catazaro I., Loddo V., Palmisano L., Sciandrello G. (2007) Photocatalytic degradation of paraquat and genotoxicity of its intermediate products. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 185 277-282.
- [39] Kanchanatip E., Grisdanurak N., Thongruang R., Neramittagapong A. (2011) Degradation of paraquat under visible light over fullerene modified V-TiO₂. *Reaction kinetics, mechanisms and catalysis*. 103: 227-237.
- [40] Zanella R., Giorgio S., Henry C., Louis C. (2002) Methods for preparation of gold nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry B* 106 7624-7642
- [41] Oros-Ruiz S., Zanella R., Prado B. (2013) Photocatalytic Degradation of Trimethoprim by Metallic Nanoparticles Supported on TiO₂-P25. *Journal of hazardous materials* 263 28-35.
- [42] Oros-Ruiz S., Zanella R., López R., Hernández-Gpordillo A., Gómez R. (2013) Photocatalytic Hydrogen Production by Water/Methanol Decomposition using Au/TiO₂ Prepared by Deposition-Precipitation with Urea. *Journal of hazardous materials* 263 2-10.
- [43] López R., Gómez R. (2012) Band-gap energy estimation from diffuse reflectance measurements on sol-gel and commercial TiO₂: a comparative study. *Journal Sol-Gel Technology* 61: 1-7.
- [44] Durán J., Avella E., Ramirez R., Zanella R. (2015) Photocatalytic degradation of ciprofloxacin using mono- (Au, Ag and Cu) metallic nanoparticles supported on TiO₂ under UV-C and simulated sunlight. *Catalysis Today*. 1-13.
- [45] Florêncio M., Pires E., Castro A., Nunes M., Borges C., Costa M. (2004) Photodegradation of Diquat and Paraquat in aqueous solutions by titanium dioxide: evolution of degradation reactions and characterization of intermediates. *Chemosphere* 55, 345-355.
- [46] Subramanian V., Wolf E., Kamat P. (2004) Catalysis with TiO₂/Gold Nanocomposites. Effect of metal particle size on the Fermi level equilibration. *Journal of the American Chemical Society* Vol. 126, No. 15, 4943-4950.
- [47] Primo A., Marino T., Corma A., Molinari R., García H. (2011) Efficient visible-light photocatalytic water splitting by minute amounts of gold supported on nanoparticulate CeO₂ obtained by a biopolymer templating method. *Journal of the American Chemical Society* 133, 6930-6933.

- [48] Ma Z., Dai S. (2014) Heterogeneous gold catalysts and catalysis. The Royal Society of Chemistry No. 18.
- [49] Achuthan M., Bhat K. (2007) Fundamentals of semiconductor devices. McGraw-Hill, Indian.
- [50] Yáñez P., Pingarrón J., Polo L. (1986) Determination of methylviologen (Paraquat) by differential pulse polarography. *Mikrochimica Acta III*, 279-287.
- [51] Mallat E., Barzen C., Abuknesha R., Gauglitz G., Barceló D. (2001) Fast determination of paraquat residues in water by an optical immunosensor and validation using capillary electrophoresis-ultraviolet detection. *Analytica Chimica Acta* 427, 165-171.
- [52] Tesis. Carmona I. (2006) Desarrollo y validación de un método de extracción en fase sólida para la determinación de plaguicidas catiónicos (cuats) en alimentos. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- [53] Izquierdo J. (2004). Cinética de las Reacciones Químicas. 1a. ed., Edicions Universitat de Barcelona España.
- [54] Neumeiter L., Isering R. (2006) Paraquat, Riesgos inaceptables para la salud de los usuarios. 3ª Edición. Declaración de Brena (DB), Red de Acción en Plaguicidas UK (PAN UK), PAN Asia y Pacífico (PANAP), 93 p. Disponible en: https://www.evb.ch/fileadmin/files/documents/Syngenta/Paraquat/Paraquat_UnacceptableHealthRisk_3rdEdition_2011_mb_es.pdf
- [55] CICOPLAFEST (Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas), 2004. **Catálogo de Plaguicida** [En línea]. Fecha de consulta: 12 de marzo del 2017. Disponible en: <http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/Plaguicidas%20y%20Fertilizantes/CatalogoPlaguicidas.aspx>
- [56] Kennedy S. (1986) The determination of residues of paraquat in soil a spectrophotometric method. EPA MRID NUMBER 422174 Vol. 3.
- [57] Iglesias A., López R., Gondar D., Antelo J., Fiol S., Arce F. (2009) Effect of pH and ionic strength on the binding of paraquat and MCPA by soil fulvic and humic acids. *Chemosphere* 76, 107-113
- [58] Gondar D., López R., Antelo J., Fiol S., Arce F. (2012) Adsorption of paraquat on soil organic matter: Effect of exchangeable cations and dissolved organic carbón. *Journal of Hazardous Materials*, 235-236:218-223.

[59] Carra I., Sánchez J., Malato S., Autin O., Jefferson B., Jarvis P. (2016) Performance of different advanced oxidation processes for tertiary wastewater treatment to remove the pesticide acetamiprid. *Journal of Chemical Technology Biotechnology*, 91, 72-81.

[60] Eurachem (2016). La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos. Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados. Segunda Edición Inglesa, Primera Edición Española. Eurolab España, 66 páginas.

[61] Castellan G. (1987) Fisicoquímica. Segunda edición. Ed. Pearson Addison Wesley.