

Validación de un método analítico para la determinación espectrofotométrica de fenoles totales en aguas naturales empleando microextracción con gota directamente suspendida

Jesús Ocando, Rocío Ortega y Maria E. Troconis.

Escuela de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Rafael Urdaneta. Maracaibo-Venezuela.

Correo electrónico: jesusocandomara@gmail.com y rociortega97@gmail.com

Recibido: 25-06-2019

Aceptado: 22-10-2019

Resumen

El objetivo general de la presente investigación fue la validación de un método analítico para la determinación espectrofotométrica de fenoles totales en muestras de agua naturales empleando la microextracción con gota directamente suspendida. Se determinaron los parámetros de calidad del método analítico. Posteriormente se procedió a evaluar la veracidad del mismo mediante la aplicación del estudio de efecto matriz y las pruebas de recuperación. Finalmente, los parámetros obtenidos fueron comparados con los reportados por el método estándar 5530C. Se encontró que la linealidad del método fue de 99,91%, límite de detección y cuantificación de 0,2380 y 0,7932 $\mu\text{g/L}$ respectivamente, un rango dinámico lineal comprendido entre 0,2380-350 $\mu\text{g/L}$, y la desviación estándar relativa obtenida en el estudio de precisión se encontró entre 1,20 y 4,25 %. En el estudio de efecto matriz se evidenció que no existe una diferencia significativa entre las pendientes de la curva de calibrado y adición patrón. En los estudios de recuperación sobre las muestras de agua del lago se obtuvieron excelentes porcentajes comprendidos entre el 98,92-101,89 %. La comparación realizada permitió evidenciar las ventajas que presenta el método validado con respecto al método estándar permitiendo una reducción significativa de los volúmenes de solvente y muestra necesarios para la determinación de fenoles.

Palabras clave: Fenoles totales, determinación espectrofotométrica, microextracción con gota directamente suspendida, método analítico.

Validation of an analytic method for the spectrophotometric determination of total phenols in natural water using directly suspended droplet microextraction

Abstract

The general objective of this research was the validation of an analytic method for the spectrophotometric determination of total phenols in natural water using directly suspended droplet microextraction. Quality parameters of the analytic method were obtained by the construction of the calibration curve. Afterwards, the veracity of the method was evaluated through application of the matrix study effect and recovery tests. Finally the obtained parameters were compared to the ones reported by the standard method. The method's linearity was found to be 99.91%, while the detection and quantification limits were of 0.2830 and 0.7937 $\mu\text{g/L}$ respectively; the linear dynamic range was found to be between 0.2380-350 $\mu\text{g/L}$ and the relative standard deviation between 1.20 and 4.25%. During the matrix effect study it was evidenced that there is no significant difference between the slopes of the calibration and the standard addition curve. In the recovery studies over the samples of water from the lake, excellent percentages were obtained comprehended between 98.92-101.89%. The comparison allowed to evidence the advantages that the validated method presents over

the standard method permitting a significant reduction in the volumes of solvent and samples necessary for the determination of phenols.

Key words: Total phenols, spectrophotometric determination, directly suspended droplet microextraction, analytic method.

Introducción

Los fenoles totales son compuestos orgánicos aromáticos que contienen el grupo hidroxilo como su grupo funcional. Están presentes en aguas naturales, como resultado de la contaminación ambiental y de procesos naturales de descomposición de la materia orgánica. La débil acidez del grupo fenólico ha determinado que se agrupen químicamente junto a los ácidos carboxílicos y a los taninos, conformando así el grupo de los ácidos orgánicos. La presencia de estos compuestos está asociada a efluentes industriales, principalmente de las industrias químicas donde destacan la petroquímica, farmacéutica y la industria de los alimentos.

La determinación de los fenoles en muestras de agua es de suma importancia debido a que a ciertas concentraciones resultan tóxicos para el ecosistema marino, afectando directamente a los peces y otros organismos acuáticos donde se destacan principalmente moluscos, algas y bacterias, provocando que el poder autodepurador del cauce de agua disminuya de forma muy sensible. Algunos componentes fenólicos pueden afectar directamente al hombre debido a que son considerados potencialmente cancerígenos, además causan alteraciones en las propiedades del agua alterando el gusto y olor de la misma a concentraciones muy bajas.

La principal forma de determinar el analito en estudio consiste en el método estándar 5530C, el cual se fundamenta en la reacción de los compuestos fenólicos extraídos mediante una extracción líquido-líquido con la 4-aminoantipirina para formar un complejo coloreado susceptible a medidas espectrofotométricas. Sin embargo, recientemente se han realizado diversas investigaciones que utilizan técnicas de miniaturización como la microextracción con gota directamente suspendida (DSDME) y la microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME) permitiendo disminuir considerablemente los volúmenes de muestra y reactivos a utilizar.

En base a estas premisas, se plantea como objetivo general la validación un método analítico para la determinación espectrofotométrica de fenoles totales en muestras de aguas naturales empleando la microextracción con gota directamente suspendida; aportando a la comunidad científica una excelente alternativa para la determinación de estos compuestos en el Lago de Maracaibo, el cual representa una fuente de agua vital para la región.

Metodología Experimental

Estudio preliminar

El desarrollo del presente trabajo estuvo basado en la investigación realizada por Portillo [1], donde se optimizaron las variables experimentales que afectan la formación del derivado fenólico así como las variables de la DSDME.

Para la formación del derivado fenólico se realizó una optimización univariante obteniendo como resultados los mostrados en la Tabla 1, mientras que para la DSDME fue necesaria una optimización multivariante para determinar las variables que afectan de manera significativa la extracción, esta se realizó con un diagnóstico 2^5 y un diseño Box-Behnken, siendo los resultados los mostrados en la Tabla 2.

Tabla 1. Resultados obtenidos durante la optimización univariante para la formación del derivado fenólico.

| Variable | Condición óptima |
|---|------------------|
| pH | 9,5 |
| Concentración del reactivo derivatizante 4-AAP (%m/v) | 0,010 |
| Tipo de agente oxidante | $K_2S_2O_8$ |
| Concentración del agente oxidante (%m/v) | 0,014 |
| Temperatura (°C) | 35,0 |
| Tiempo de reacción (min) | 15,0 |

Tabla 2. Resumen de las condiciones óptimas de la DSDME.

| Variables | Condición óptima |
|--------------------------------------|------------------|
| pH | 9,5 |
| Temperatura de extracción (°C) | 35,0 |
| Volumen de muestra (mL) | 6,0 |
| Volumen de gota (μ L n-octanol) | 70,0 |
| Efecto salino, NaCl (%m/v) | 15,0 |
| Velocidad de agitación (rpm) | 900,0 |
| Tiempo de extracción (min.) | 30,0 |

Solución patrón y muestreo

Se utilizó una solución madre de fenol de 1000 mg/L, preparada y estandarizada con tiosulfato de sodio tal como lo indica el Standard Methods for Examination of Water & Wastewater (2005). Las soluciones intermedias de fenol fueron preparadas a lo largo del trabajo por dilución de la solución madre en agua desionizada. Las muestras de agua del Lago de Maracaibo, fueron recolectadas en la zona del estrecho del cuerpo lacustre cerca de los vertidos de aguas residuales domésticas e industriales de la ciudad de Maracaibo, San Francisco y Santa Rita, en botellas de plástico de 2 L previamente lavadas y esterilizadas (Figura 1). Se tomaron 2 litros de muestra en cada una de tres zonas del Lago de Maracaibo de manera superficial. Culminada la recolección, una porción de cada muestra fue destinada al análisis fisicoquímico y el resto fueron filtradas a través de un filtro de membrana de celulosa de 0,45 μ m, finalmente fueron conservadas a 4 °C hasta su análisis.



Figura 1. Mapa de ubicación de los sitios de toma de muestras de agua en la zona del estrecho del Lago de Maracaibo: a) Santa Rita, b) San Francisco, c) Maracaibo.

Procedimiento Experimental

Para obtener la formación del derivado fenólico se colocó en un vial con capacidad de 7,0 mL, una alícuota de 6,0 mL de fenol a la concentración requerida, se agregó un agitador magnético, se sumergió el vial en un baño de glicerina a 35 °C; se ajustó la velocidad de agitación a 700 rpm y el pH de la solución a 9,5 unidades con 100,0 µL del amortiguador $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ 0,5 M, luego se añadieron 60,0 µL 4-APP al 1,0 %m/v y 56,0 µL $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ al 1,5 %m/v para obtener una concentración final de 0,010 %m/v y 0,014 %m/v respectivamente. Seguidamente, se cerró el vial con tapa de rosca y se esperó 15 minutos para permitir la formación del derivado fenólico y desarrollo del color.

Una vez finalizada la reacción para la formación del derivado fenólico, se mantuvo el vial dentro de la solución de glicerina a 35 °C y agitación de 700 rpm. A continuación, se procedió a abrir cuidadosamente el vial y se añadieron $0.9000 \pm 0,0001$ g de NaCl para obtener una concentración en la solución de 15 %m/v, manteniendo en agitación constante durante 10 min. Luego se agregaron 70,0 µL del solvente orgánico inmiscible (n-octanol) en el vórtice. Seguidamente, se cerró el vial y se incrementó la velocidad de agitación hasta 900 rpm durante 30 min para definir el vórtice de la mezcla. Culminado el tiempo de la extracción, se retiraron 60,0 µL del solvente extractor empleando una microjeringa y finalmente, fue transferido a la microcelda de cuarzo para su posterior análisis a 468 nm.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se procesaron utilizando el software *Statgraphics* versión 3.1 (StarPoint Technologies, Inc.), A su vez fueron utilizados el programa *Microsoft Excel 2010* y el programa ALAMÍN versión 1.0. Con los cuales se realizaron la regresión estadística de la curva de calibrado, un test de student y el test de comparación de una media experimental con un valor de referencia, ambos al 95% de confianza.

Resultados y Discusión

Establecimiento de los parámetros de calidad del método analítico

La Figura 2 muestra la curva de calibrado construida al graficar, en el eje de las abscisas la concentración del analito y en el eje de las ordenadas, la señal de la absorbancia obtenida. La misma se construyó en el intervalo de 1,0 – 350,0 µg/L tratando cada alícuota por triplicado.

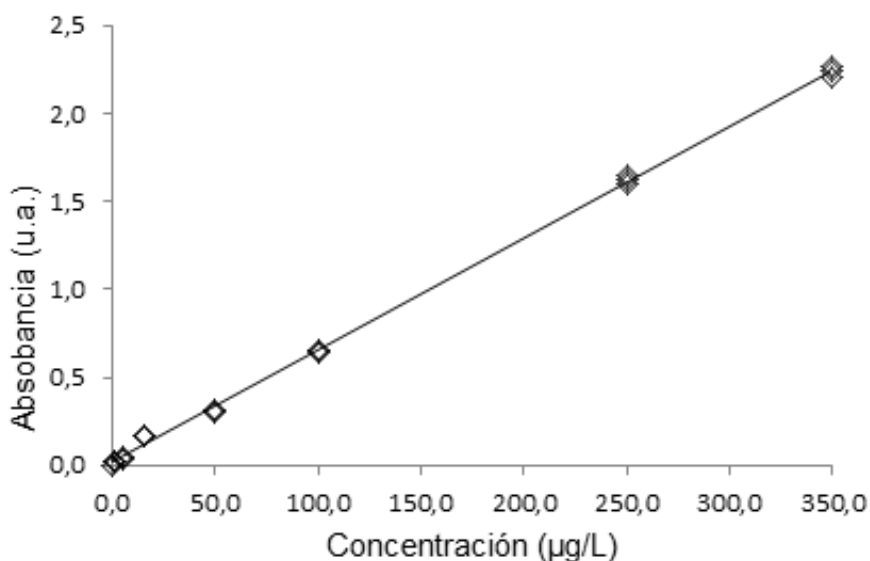


Figura 2. Curva de calibrado para fenol empleando la microextracción con gota directamente suspendida.

En la Tabla 3 se presentan los principales parámetros estadísticos obtenidos de la curva de calibrado mediante el método de mínimos cuadrados utilizando el software estadístico Statgraphics.

Tabla 3. Parámetros estadísticos obtenidos de la curva de calibrado para fenol empleando la microextracción con gota directamente suspendida (DSDME).

| Analito | a | S _a | b | S _b | r ² |
|---------|---------|----------------|--------|--------------------|----------------|
| Fenol | 0,02002 | 0,0077 | 0,0063 | 5×10 ⁻⁵ | 0,9991 |

Nota: a: Intercepción; S_a: Desviación estándar del intercepción; b: Pendiente; S_b: Desviación estándar de la pendiente; r²: Coeficiente de correlación.

En la Tabla 3 se observó el coeficiente de correlación fue de 0,9991, lo que representa un excelente ajuste de los datos experimentales con el modelo lineal. Coeficientes de correlación superiores a 0,98 indican la capacidad del método analítico para producir resultados directamente proporcionales a la concentración de analito, dentro de un rango dado.

La precisión del método analítico se evaluó a partir de la repetibilidad de la señal analítica obtenida de manera independiente de diez (10) extracciones a tres niveles de concentración: 1,0; 50,0 y 250,0 µg/L respectivamente. La Tabla 4 presenta los resultados obtenidos para cada nivel de concentración expresados en términos de porcentaje de desviación estándar relativa (% DER).

Tabla 4. Valores de precisión evaluados bajo condiciones de repetibilidad para fenoles empleando la DSDME.

| Concentración (µg/L) | % DER |
|----------------------|-------|
| 1,0 | 4,25 |
| 50,0 | 1,63 |
| 250,0 | 1,20 |

Valores cercanos fueron presentados en la investigación de Peña-Pereira et al. [2], quienes determinaron fosfatos utilizando la misma técnica de microextracción acoplada con espectrofotometría UV-VIS. A su vez, Sarafraz-Yazdi et al. [3], obtuvieron valores entre 6,35 y 7,3 % para la determinación de benceno, tolueno, etilbenceno y O-xileno utilizando la DSDME. Con base a esto, se evidencia que los resultados son satisfactorios para la determinación de fenoles totales en muestras de agua.

En la Tabla 5 se presentan los valores de los parámetros de calidad del método analítico validado donde se destacan límites de detección y cuantificación que están en concordancia con los reportados por otros métodos analíticos determinación de fenoles y diferentes compuestos orgánicos empleando la derivatización con la 4-AAP y la DSDME, como las investigaciones de Nassiri et al. [4] y Lavilla et al. [5]. Por lo cual se puede calificar como un método de gran utilidad para la determinación de fenoles a niveles de trazas en muestras de agua.

Tabla 5. Valores obtenidos de los parámetros de calidad del método analítico validado.

| Analito | LD (µg/L) | LQ (µg/L) | Rango dinámico lineal (µg/L) | Linealidad (%linealidad) | Sensibilidad (L/µg) |
|-----------------|-----------|-----------|------------------------------|--------------------------|---------------------|
| Fenoles Totales | 0,2380 | 0,7932 | 0,2380 – 350,0 | 99,91 | 0,0063 |

A su vez se presenta un alto valor de linealidad el cual confirma que los datos experimentales se ajustan de gran manera al modelo lineal propuesto indicando el cumplimiento de la Ley de Lambert-Beer. Por otra parte, el rango dinámico lineal resultó similar a los reportados por Lavilla et al. [5]. Finalmente, el valor encontrado de la sensibilidad del método indica la capacidad del mismo para discriminar entre pequeñas diferencias en la concentración de fenoles totales.

Evaluación de la veracidad del método analítico empleando estudios de efecto matriz y recuperación en muestras de agua del Lago de Maracaibo del Edo. Zulia.

Inicialmente, se realizaron pruebas preliminares sobre las muestras de agua del Lago de Maracaibo mencionadas anteriormente, obteniéndose como resultado que no se detectó el analito estudiado en las muestras analizadas (Figura 3); bien sea porque no se encontraban presentes en las mismas o porque su concentración estaba por debajo de los límites de detección del método analítico propuesto.

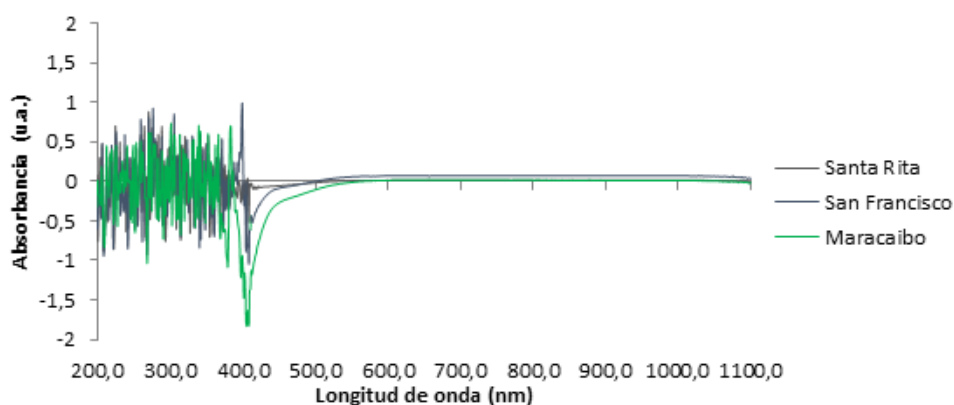


Figura 3. Espectros de absorción de las muestras de agua de lago.

Mediante la aplicación del método se encontraron los valores de absorbancia necesarios que permitieron la construcción de las curvas de calibrado y las curvas de adición patrón, utilizadas para determinar la existencia o no del efecto matriz en las muestras reales mediante la realización de un estudio estadístico de comparación entre las pendientes de ambas curvas. La Tabla 6 reporta los diversos parámetros estadísticos obtenidos de las curvas de calibrado construidas con agua desionizada, así como los parámetros correspondientes a las curvas de adición de patrón en las muestras de agua. En esta, se incluyen los valores de la $t_{calculada}$ y $t_{crítico}$, producto de la comparación estadística de las pendientes de los calibrados (test de Student al 95% de confianza).

Tabla 6. Parámetros estadísticos obtenidos de la comparación de las pendientes de las curvas de calibrado y de las curvas de adición patrón.

| Parámetros | Santa Rita | | San Francisco | | Maracaibo | |
|-------------------|------------|--------|---------------|--------|-----------|--------|
| | C.C. | A.P. | C.C. | A.P. | C.C. | A.P. |
| r^2 | 0,9938 | 0,9928 | 0,9857 | 0,9970 | 0,9968 | 0,9967 |
| a | 0,0026 | 0,0205 | 0,0042 | 0,0182 | 0,0013 | 0,0153 |
| S _a | 0,0011 | 0,0012 | 0,0018 | 0,0008 | 0,0007 | 0,0008 |
| S(R,C) | 0,0024 | 0,0022 | 0,0038 | 0,0015 | 0,0016 | 0,0014 |
| b | 0,0076 | 0,0083 | 0,0080 | 0,0087 | 0,0070 | 0,0075 |
| S _b | 0,0002 | 0,0002 | 0,0003 | 0,0002 | 0,0001 | 0,0002 |
| S _p | 0,0002 | | 0,00025 | | 0,00015 | |
| t _{calc} | 1,9334 | | 1,7513 | | 2,5820 | |
| t _{crit} | 2,9210 | | 2,9210 | | 2,9210 | |

Nota: C.C.: Curva de calibrado; A.P.: Curva de adición patrón; r: Coeficiente de correlación; a: Intercepto; S_a: Desviación estándar del intercepto; S_(R,C): Desviación estándar de los residuales; b: Pendiente; S_b: Desviación estándar de la pendiente; S_p: Desviación estándar ponderada; t_{calc}: t de student calculado; t_{crit}: t de student crítico.

De los datos obtenidos, para el test de Student a un nivel de confianza del 95%, queda demostrado que las pendientes no difieren estadísticamente, ya que el valor de la $t_{calculada}$ en todos los casos resultó ser menor que el valor del $t_{crítico}$, indicando que no existe una diferencia significativa entre las pendientes

por lo cual no hay presencia del efecto matriz y por lo tanto, la determinación de fenoles en las muestras estudiadas puede realizarse utilizando la curva de calibrado.

Como otra forma de continuar evaluando la exactitud del método analítico, se realizó un estudio de porcentaje de recuperación sobre las muestras de agua del Lago de Maracaibo, recolectadas en los municipios Santa Rita, San Francisco y Maracaibo. La cuantificación se realizó aplicando el método de patrones externos. Una vez obtenidas las absorbancias se calcularon las concentraciones encontradas y los porcentajes de recuperación respectivos para cada muestra y nivel de concentración por sextuplicado. Dichos datos fueron tratados estadísticamente con el programa Statgraphics versión 3.1. En las Tablas 7, 8 y 9, se presentan los resultados obtenidos para el estudio de recuperación de fenoles y los parámetros estadísticos evaluados.

Tabla 7. Resultados obtenidos para el estudio de recuperación en las muestras de agua de Lago tomadas en el municipio Santa Rita.

| Concentración añadida (µg/L) | Concentración encontrada (µg/L) | | Recuperación (%) | | t | p |
|------------------------------|---------------------------------|-------------|------------------|-------------|------|-------|
| 2,00 | 2,01 | 2,04±0,05 | 100,37 | 101,89±2,40 | 1,92 | 0,112 |
| | 1,99 | | 99,33 | | | |
| | 2,02 | | 101,08 | | | |
| | 2,10 | | 104,81 | | | |
| | 2,10 | | 104,97 | | | |
| | 2,02 | | 100,76 | | | |
| 50,00 | 50,20 | 50,22±0,99 | 100,40 | 100,44±1,96 | 0,55 | 0,605 |
| | 51,02 | | 102,04 | | | |
| | 50,90 | | 101,80 | | | |
| | 48,73 | | 97,46 | | | |
| | 51,09 | | 102,18 | | | |
| | 49,38 | | 98,76 | | | |
| 300,00 | 304,02 | 298,90±6,63 | 101,34 | 99,63± 2,21 | 0,40 | 0,701 |
| | 291,90 | | 97,30 | | | |
| | 299,31 | | 99,77 | | | |
| | 294,81 | | 98,27 | | | |
| | 294,18 | | 98,06 | | | |
| | 309,18 | | 103,06 | | | |

Tabla 8. Resultados obtenidos para el estudio de recuperación en las muestras de agua de Lago tomadas en el municipio San Francisco.

| Concentración añadida (µg/L) | Concentración encontrada (µg/L) | | Recuperación (%) | | t | p |
|------------------------------|---------------------------------|-----------|------------------|-------------|------|-------|
| 2,00 | 1,99 | 2,03±0,04 | 99,57 | 101,41±3,86 | 1,79 | 0,133 |
| | 2,09 | | 104,33 | | | |
| | 2,06 | | 103,14 | | | |
| | 2,02 | | 101,24 | | | |
| | 2,00 | | 99,81 | | | |
| | 2,01 | | 100,37 | | | |

Cont. de la Tabla 8

| | | | | | | |
|--------|--------|-------------|--------|-------------|------|-------|
| 50,00 | 50,99 | 50,61±0,70 | 101,99 | 101,22±1,41 | 2,12 | 0,087 |
| | 50,35 | | 100,70 | | | |
| | 50,34 | | 100,68 | | | |
| | 49,47 | | 98,93 | | | |
| | 51,09 | | 102,18 | | | |
| | 51,41 | | 102,82 | | | |
| 300,00 | 291,21 | 296,76±5,85 | 97,07 | 98,92±1,95 | 1,36 | 0,233 |
| | 301,50 | | 100,50 | | | |
| | 294,00 | | 98,00 | | | |
| | 292,68 | | 97,56 | | | |
| | 306,27 | | 102,09 | | | |
| | 294,90 | | 98,30 | | | |

Tabla 9. Resultados obtenidos para el estudio de recuperación en las muestras de agua de Lago tomadas en el municipio Maracaibo.

| Concentración añadida (µg/L) | Concentración encontrada (µg/L) | | Recuperación (%) | | t | p |
|------------------------------|---------------------------------|-------------|------------------|-------------|------|-------|
| 2,00 | 2,03 | 2,03±0,04 | 101,63 | 101,57±1,99 | 2,41 | 0,060 |
| | 1,97 | | 98,60 | | | |
| | 2,07 | | 103,46 | | | |
| | 2,06 | | 103,14 | | | |
| | 2,06 | | 102,83 | | | |
| | 1,99 | | 99,73 | | | |
| 50,00 | 50,38 | 49,79±0,76 | 100,75 | 99,59± 1,52 | 0,67 | 0,534 |
| | 50,85 | | 101,71 | | | |
| | 49,83 | | 99,67 | | | |
| | 49,14 | | 98,28 | | | |
| | 48,80 | | 97,61 | | | |
| | 49,75 | | 99,50 | | | |
| 300,00 | 293,88 | 298,22±4,17 | 97,96 | 99,41±1,39 | 1,05 | 0,342 |
| | 295,44 | | 98,48 | | | |
| | 304,29 | | 101,43 | | | |
| | 296,55 | | 98,85 | | | |
| | 302,49 | | 100,83 | | | |
| | 296,64 | | 98,88 | | | |

Los datos obtenidos fueron evaluados estadísticamente mediante el test de comparación de una media experimental con un valor de referencia al 100%. La evaluación estadística de los resultados con un nivel de probabilidad del 95%, arrojó valores p mayores a 0,05 en todos los casos. En este sentido la concentración encontrada no difiere con respecto a la concentración añadida y por lo tanto se puede asegurar que el método es exacto.

Los resultados obtenidos son superiores a los reportados por Lavilla et al. [5], para la determinación de fenoles mediante DLLME para todas las matrices ambientales estudiadas en dicha investigación. Así mismo Peña-Pereira et al. [2], realizó la determinación de fosfatos obteniendo variaciones en el porcentaje de estudio de recuperación entre 95 y 104% mediante la misma técnica de microextracción (DSDME) al igual que Sarafray-Yazdi et al. [3], quienes obtuvieron para la determinación de

benceno, tolueno, etilbenceno y O-xileno valores de recuperación entre 88 y 98%. Araujo-Sánchez et al. [6], reportan que valores encontrados entre los obtenidos en la presente investigación indican que el método puede considerarse válido para la detección y cuantificación de fenoles en las matrices ambientales estudiadas.

Comparación de los parámetros obtenidos con los reportados en el método estándar 5530C

En la Tabla 10 se comparan los parámetros principales del método validado y del método estándar 5530C, donde se destacan los principales parámetros estadísticos como lo son el LD y LQ, así como también el volumen de muestra requerido, reactivos a utilizar y volumen de los mismos, para realizar la determinación espectrofotométrica de los fenoles totales.

Tabla 10. Comparación de los principales parámetros del método validado y el método estándar 5530C.

| Parámetros | Método validado | Método estándar 5530C |
|--|---|---|
| LD ($\mu\text{g/L}$) | 0,2380 | 1,0 |
| LQ ($\mu\text{g/L}$) | 0,7932 | 3,3 |
| Volumen de muestra (mL) | 6,0 | 500,0 |
| Volumen de solvente extractor (mL) | 0,07 (n-octanol) | 50 (triclorometano) |
| Volumen de solución amortiguadora (mL) | 0,1 (amonio-amoníaco) | 22 (fosfato-amonio) |
| Volumen de 4-AAP (mL) | 0,06 | 3,0 |
| Volumen de agente oxidante (mL) | 0,056 (peroxidisulfato de potasio) | 3,0 (ferrocianuro de potasio) |
| Tiempo de preparación (min) | 45 (15 derivatización + 30 microextracción) | 15 (sin incluir 2 extracciones más filtrado de los extractos) |

De la tabla anterior se puede observar que al comparar los límites de detección y cuantificación obtenidos en el método validado resultaron ser menores que los reportados por el método estándar 5530C, lo que significa que el método validado presenta una gran ventaja para la determinación de cantidades en trazas del analito de estudio. Desde el punto de vista económico, es una excelente alternativa en comparación al método estándar debido a la significativa reducción de los volúmenes especialmente de solventes extractor que se reduce de una cantidad de 50 mL a unos 0,7 mL, de la misma manera sucede con el agente derivatizante que se reduce de 3,0 mL a 0,06 mL

Una diferencia fundamental entre ambas metodologías es el volumen de muestra necesario ya que mientras que el método validado requiere de 6,0 mL para cada determinación, la metodología estándar necesita unos 500,0 mL. Es importante destacar la diferencia entre los tiempos de preparación en lo cual ambas metodologías presentan un tiempo de derivatización de 15 min, sin embargo, el método estándar luego de la preparación la muestra debe someterse a dos extracciones además del filtrado de las mismas antes de la determinación espectrofotométrica; mientras que para el método validado se realiza la microextracción seguidamente de la derivatización, permitiendo realizar la determinación espectrofotométrica sin necesidad de un filtrado.

Conclusiones

Se lograron establecer los parámetros de calidad del método analítico encontrándose límites de detección y de cuantificación de adecuada sensibilidad a niveles de trazas, con una precisión comparable a otros métodos.

La validación del método analítico sobre muestras de agua del Lago de Maracaibo evidenció que no existe la presencia de efecto matriz y demostró que el método validado genera resultados de adecuada exactitud.

La comparación de la metodología validada mediante DSDME y espectrofotometría UV-VIS con la establecida en el método estándar 5530C demostró ser una propuesta innovadora desde el punto de vista económico, ecológico y práctico para la determinación de fenoles en muestras de agua.

Referencias Bibliográficas

- [1] Portillo, J., Propuesta de un método analítico para la determinación de fenoles mediante microextracción con gota directamente suspendida acoplada a espectrofotometría UV-VIS. Programa de Maestría en Química Analítica. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela: (2017).
- [2] Peña-Pereira, F., Cabaleiro, N., De la Calle, I., Costas, Marta., Gil, S., Lavilla, I., Bendicho, C. Directly suspended droplet microextraction in combination with microvolume UV-vis spectrophotometry for determination of phosphate. *Talanta*, 85, (2011), 1100-1104.
- [3] Sarafraz-Yazdi A., Amiri A.H., Es'haghib Z., Separation and determination of benzene, toluene, ethylbenzene and o-xylene compounds in water using directly suspended droplet microextraction coupled with gas chromatography-flame ionization detector. *Talanta*, 78, (2009), 936-941.
- [4] Nassiri, M., Zahedi, M., Pourmortazavi S., Yousefzade, M. Optimization of dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration and spectrophotometric determination of phenols in Chabahar Bay seawater after derivatization with 4-aminoantipyrine. *Marine Pollution Bulletin*, 86, (2014), 512-517.
- [5] Lavilla, I., Gil, S., Costas, M., Bendicho, C. (2012). Dispersive liquid-liquid microextraction combined with microvolume spectrophotometry to turn green the 5530 APHA standard method for determining phenols in water and wastewater. *Talanta*, 98: 197-202.
- [6] Araujo, L., Sánchez, G., Cubillán, D., Mercado, J., Troconis, M., Prieto, A. (2012) determinación de kresoxim-metil y trifloxystrobin en muestras de agua mediante microextracción con gota suspendida y cromatografía de gases espectrometría de masa. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 3, (2012), 97-106.