

# Universidad del Mar

## Campus Puerto Ángel



### Implementación de un método de cuantificación de arsénico en agua, mediante espectrofotometría de fluorescencia molecular

#### Tesis

Que para obtener el Título Profesional de:

**Ingeniero Ambiental**

Presenta:

**Alexis López Ramírez**

Directora de tesis:

**M.C. María del Rocío Gutiérrez Ortiz**

Puerto Ángel, Oaxaca, 2021

## **Dedicatorias**

A mis padres (Guadalupe y Catalino), por su amor y cariño en todas las etapas de mi vida. Por ser los mejores padres que pude haber tenido. Por su sacrificio y apoyo incondicional para la realización de este sueño. Por sus palabras de aliento y sabios consejos cuando más los necesitaba, este logro lo alcanzamos juntos.

A mis hermanos Oscar, Yazmín, Marco y Erik, por estar siempre a mi lado, por su apoyo y cariño incondicional. Por ser los mejores hermanos y amigos. Por cada uno de los buenos y malos momentos que compartimos.

## **Agradecimientos**

A mis padres, por ser mi ejemplo a seguir, por darme educación y principalmente amor y cariño. Por cada uno de los sacrificios realizados. Por ser siempre el apoyo que necesitaba, por no desistir y aguantar en todos los malos momentos.

A mi hermano Oscar y Carlita, por todo su apoyo brindado, por sus consejos y cariño, y por ser un ejemplo como profesionistas y pareja para mí y mis hermanos.

A mi hermana Yazmín, por cuidar de mi como una segunda madre, por sus atenciones, muestras de cariño, regaños y consejos.

A mi hermano Marco y su familia, por las atenciones brindadas durante mi estancia en Puerto Ángel, haciendo más amena mi estancia en ese lugar.

A mi hermano Erik, por todos los buenos y malos momentos que hemos compartido, por las risas y travesuras, por ser mi amigo y brindarme siempre su apoyo incondicional.

A mi abuelita Leonarda, por todo su amor incondicional, por consentirme y brindarme sus sabios consejos.

A la Universidad del Mar, y a la carrera de Ingeniería Ambiental, por brindarme las herramientas necesarias para la realización de este trabajo.

A la M.C. María del Rocío Gutiérrez Ortiz por su confianza y apoyo en la realización de este trabajo de tesis, por sus sabios consejos en cada una de las etapas del proyecto, por brindarme todas las herramientas y material necesario, y por su valioso tiempo invertido.

Al Dr. Aitor Aizpuru, Dr. Edson Robles, M.C. Cervando Sánchez y al M.C. Cristóbal Santos, por su atención prestada en la revisión de esta tesis, por sus observaciones y consejos.

A la I.Q. Coral Mirón y a la Ing. Ambiental Oliva Sánchez, por sus consejos y charlas dentro del laboratorio, haciendo más divertidas las largas jornadas de trabajo.

A Laurita♥, por ser mi amiga, confidente y compañera de aventura, por estar conmigo y brindarme su cariño incondicional. Por escucharme, aconsejarme y no dejar que me rindiera en los momentos más difíciles. Por iluminar cada uno de mis días con su alegría, ocurrencias, risas. Por cada uno de los buenos y malos momentos compartidos.

A mis compañeros y amigos del "Hormiguero", especialmente a Alejandro, Luis, Nere, Chucho, Dani y David, por todas las vivencias compartidas en los 5 años de carrera, por sus consejos y amistad. A mis amigos de la Umar, Eric, Liz, Jacky, Dulce, Axel y Carlos.

A mis sobrinos, Julio, Joswan, André, Angelito y Azul, por alegrar nuestras vidas con sus risas e inocencia.

## Resumen

En el presente trabajo se implementó un método espectrofluorométrico indirecto para la determinación de arsénico (III) en agua, basado en la reacción de oxidación de la fluoresceína por el yodo, produciendo especies no fluorescentes, sin embargo, al adicionar As(III) a la solución, éste reduce el yodo a ion yoduro, provocando un aumento en la intensidad fluorescente. La cuantificación se hizo a una longitud de onda de excitación y emisión de 475 nm y 512 nm, respectivamente. El intervalo en el cual el cambio en la intensidad fluorescente es proporcionalmente lineal a la concentración de As(III) fue de 1.0-35.0  $\mu\text{g L}^{-1}$ . El método posee una buena sensibilidad, con un límite de detección de 0.318  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Para el método de extracción líquido-líquido se utilizó hexano grado HPLC como agente extractante, obteniendo porcentajes de recuperación en el intervalo de 50.7  $\pm$  12.2 - 52.5  $\pm$  5.4 % de As(III), para tres concentraciones diferentes.

# Índice general

1. Introducción .....	1
2. Marco teórico .....	3
2.1 Arsénico .....	3
2.1.1 Química del arsénico .....	3
2.1.2 Especiación de arsénico en muestras ambientales .....	4
2.2 Técnicas analíticas para la determinación de arsénico .....	6
2.3 Espectrofotometría de luminiscencia .....	7
2.3.1 Teoría de la espectrofotometría de luminiscencia .....	8
2.3.1.1 Estados de excitación .....	8
2.3.1.2 Transiciones electrónicas en el fenómeno de luminiscencia .....	9
2.3.1.3 Procesos luminiscentes .....	10
2.3.2 Espectrofotometría de fluorescencia molecular .....	11
2.3.3 Compuestos fluorescentes .....	13
2.3.4 Fluoróforos .....	13
2.4 Establecimiento y validación del método analítico .....	14
2.4.1 Puesta a punto del método analítico .....	14
2.4.2 Validación del método analítico .....	14
2.5 Tratamiento de muestra .....	16
2.5.1 Extracción líquido-líquido .....	16
2.6 Estadística para determinar los parámetros de validación .....	17
2.6.1 Sensibilidad, límite de detección y cuantificación .....	21
2.6.1.1 Estimación del Límite de Detección .....	22
2.6.1.2 Estimación del Límite de Cuantificación .....	22
2.6.2 Intervalo lineal .....	22

2.6.3	Precisión y exactitud .....	23
2.6.4	Porcentaje de recuperación .....	24
2.6.5	Análisis de varianza (ANOVA) .....	24
3.	Antecedentes.....	28
4.	Justificación .....	31
5.	Hipótesis .....	32
6.	Objetivos.....	32
6.1	Objetivo General .....	32
6.1.1	Objetivos particulares .....	32
7.	Metodología.....	33
7.1	Equipo.....	33
7.2	Reactivos .....	33
7.2.1	Preparación de soluciones.....	33
7.3	Establecimiento del método analítico y de tratamiento de muestras sintéticas .....	36
7.3.1	Establecimiento del método espectrofotométrico.....	36
7.3.2	Calibración del método .....	36
7.3.3	Determinación de la precisión del método .....	38
7.3.4	Determinación de la exactitud.....	38
7.3.5	Tratamiento de muestras sintéticas y determinación del porcentaje de recuperación .....	38
8.	Resultados y discusiones.....	41
8.1	Establecimiento del método analítico.....	41
8.1.2	Análisis del mecanismo de reacción .....	42
8.1.3	Influencia del pH y volumen de yodo, fluoresceína y buffer de fosfatos .....	43
8.1.3.1	Influencia del pH.....	43

8.1.3.2 Influencia del volumen de yodo .....	43
8.1.3.3 Influencia del volumen de fluoresceína.....	44
8.1.3.4 Influencia del volumen de buffer de fosfatos .....	45
8.2 Análisis de los parámetros del método analítico .....	46
8.2.3 Porcentajes de recuperación de As(III) en muestras sintéticas .....	48
9. Conclusiones.....	51
10. Recomendaciones.....	52
11. Bibliografía .....	53



## Índice de Tablas

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del As .....	3
Tabla 2. Concentraciones utilizadas para la curva de calibración del método .....	37
Tabla 3. Ecuación de regresión lineal para As(III).....	48
Tabla 4. Precisión y exactitud del método analítico.....	48
Tabla 5. Porcentajes de recuperación obtenidos en el método de extracción .....	49

## Índice de Figuras

Figura 1. Distribución de las especies de Arsénico en función de pH-Eh. ....	4
Figura 2. Diagrama de especiación para As(III) y As(V), como función del pH. ....	5
Figura 3. Estados de excitación de los electrones. ....	8
Figura 4. Niveles electrónicos de energía de los orbitales moleculares. ....	10
Figura 5. Diagrama de energía parcial para un sistema fotoluminiscente. ....	11
Figura 6. Esquema general de un fluorímetro de haz simple. ....	12
Figura 7. Proceso de extracción líquido-líquido. ....	17
Figura 8. Desarrollo experimental del método analítico para la determinación de arsénico por espectrofotometría de fluorescencia molecular ....	35
Figura 9. Proceso de extracción líquido-líquido del As(III) ....	40
Figura 10. Espectro de fluorescencia al adicionar diferentes reactivos ....	42
Figura 11. Influencia del pH. ....	43
Figura 12. Influencia del volumen de Yodo ....	44
Figura 13. Influencia del volumen de Fluoresceína ....	45
Figura 14. Influencia del volumen de buffer de fosfatos ....	46
Figura 15. Curva de calibración para As(III) ....	47