



TÍTULO: FENOLES EN AGUA POR DESTILACIÓN, EXTRACCIÓN CON CLOROFORMO Y DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMETRÍA

CÓDIGO: TP0456

VERSIÓN: 02

COPIA N°:

ELABORADO POR:

CARLOS HERNÁN RODRÍGUEZ M.
TÉCNICO QUÍMICO

REVISADO POR:

GUSTAVO ALFONSO COY
QUÍMICO

APROBADO POR:

MARTA ELENA DUQUE S.
Coordinadora GLCA

* Este documento debe ser revisado por lo menos cada **dos** años.



1. INTRODUCCIÓN:

Los fenoles son muy solubles en agua y se presentan como resultados de la polución con residuos industriales; al aplicar cloro a dichas aguas, para su desinfección, se forman clorofenoles y se presentan problemas de olores y sabores indeseables a muy bajas concentraciones.

En concentraciones altas es muy tóxico. Causa irritación renal y hasta la muerte, pero su ingestión es improbable por su sabor desagradable. Tóxico para los peces. Muy usado como bactericida, pero es biodegradable.

El método se aplica en este laboratorio para la matriz agua. Se emplea para el intervalo de 0,01 a 0.4 mg/L. Es un método espectrofotométrico, en el que se determinan los compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos destilados reaccionan con 4-aminoantipirina a $\text{pH } 10.0 \pm 0,1$ en presencia de ferricianuro de potasio, formando un compuesto coloreado de antipirina (ver figura No 1). Este tinte es extraído de la solución acuosa con Cloroformo CHCl_3 y la absorbancia es medida a 460 nm.

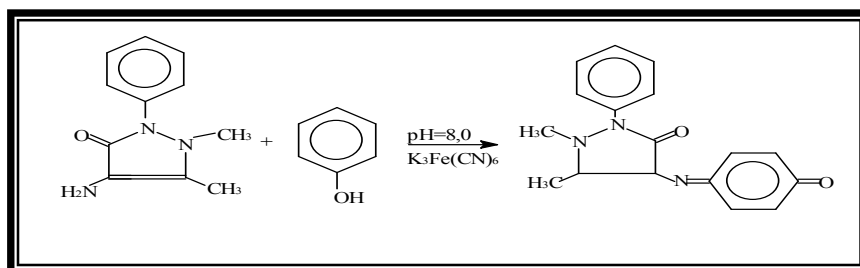


Figura No.1 reacción de 4-aminoantipirina con fenol o compuesto fenólico

2. DEFINICIONES:

N.A

3. ASPECTOS DE SALUD Y SEGURIDAD LABORAL

Utilice los implementos de seguridad, de acuerdo con lo señalado en el instructivo TI0174 (Blusa de laboratorio, pantalón, zapatos antideslizantes, gafas de seguridad, respirador, guantes de caucho). El fenol es un compuesto con el cual debe trabajarse con extremo cuidado, por lo tanto es necesario emplear los implementos mencionados anteriormente. (ver hoja de seguridad No. 141)

4. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

La mayoría de sustancias interferentes son eliminadas destilando los fenoles de la muestra.

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0456	Fecha de elaboración: 28/12/2007	Versión: 02
FENOLES EN AGUA POR DESTILACIÓN, EXTRACCIÓN CON CLOROFORMO Y ESPECTROFOTOMETRÍA			

Las interferencias tales como bacterias descomponedoras de fenoles, sustancias oxidantes o reductoras, y valores de pH alcalinos se eliminan por acidificación con ácido fosfórico.

Los agentes oxidantes como cloro y aquellos detectables por liberación de yodo en presencia de yoduro de potasio, se deben remover inmediatamente después del muestreo añadiendo un exceso de sulfato ferroso; si no se eliminan los agentes oxidantes, los compuestos fenólicos se oxidan parcialmente.

Si existen compuestos azufrados se pueden eliminar acidificando a pH 4,0 con ácido fosfórico y aireando por agitación, con lo que se remueve la interferencia debida al sulfuro de hidrógeno (H₂S) y el anhídrido sulfuroso (SO₂).

Los aceites y grasas se pueden eliminar ajustando el pH a 12-12,5 con lentejas de NaOH, y haciendo una extracción de la solución acuosa con 50 mL de cloroformo; se desecha la fase orgánica y se elimina el exceso de cloroformo en el agua calentando en baño de vapor antes de iniciar el análisis

Todas las interferencias son eliminadas o reducidas al mínimo si la muestra es preservada, almacenada y destilada.

5. RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO

CUADRO PARÁMETROS DE VALIDACION DEL MÉTODO

NOMBRE DEL METODO:	FENOLES EN AGUA POR DESTILACIÓN, EXTRACCIÓN CON CLOROFORMO Y ESPECTROFOTOMETRÍA		
CÓDIGO DEL PSO:	TP0456		
FECHA DEL INFORME DE VALIDACIÓN:	28/12/07		
PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACION
LIMITE DE DETECCION	0.01	mg Fenol/L	Corresponde al límite de cuantificación.
PRECISION EN TÉRMINOS DE CV	6.3	-	Std 0.01 mg Fenol/L
	2.0	-	Std 0.4 mg Fenol/L
	2.8	-	Muestra Certificada
EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO	2.9	%	Std 0.01 mg Fenol/L
	0.9	%	Std 0.4 mg Fenol/L
	-0.2	%	Muestra Certificada
RANGO DE TRABAJO (Lectura Directa)	0.01 – 0.4	mg Fenol/L	Sin dilución de la muestra
INTERVALO DE APLICACIÓN DEL METODO	0.01 – 4.0	mg Fenol/L	Para una dilución máxima de 10 veces.
RECUPERACION EXPRESADO COMO %	104.2	%	Para un nivel de concentración de 0.05 mg Fenol/L
	102.0	%	Para un nivel de concentración de 0.3 mg Fenol/L

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0456	Fecha de elaboración: 28/12/2007	Versión: 02
FENOLES EN AGUA POR DESTILACIÓN, EXTRACCIÓN CON CLOROFORMO Y ESPECTROFOTOMETRÍA			

6. TOMA Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

Tome la muestra de tal manera que sea representativa del vertimiento en estudio.

Utilice frascos plásticos de polipropileno de 500 mL de capacidad, como mínimo. Los fenoles en las concentraciones usualmente encontradas en aguas residuales están sujetos a oxidación biológica y química, por lo cual se deben preservar (pH menor a 4,0 con H₂SO₄) y almacenar las muestras a 4°C o menos, salvo que se analicen en el lapso de cuatro horas desde la recolección.

Efectúe el análisis dentro de los 28 días siguientes a la toma de la muestra, cuando ésta ha sido preservada.

7. APARATOS, REACTIVOS Y MATERIALES

7.1. Aparatos

- Balanza analítica de cuatro cifras decimales (Mettler Toledo AG 204)
- Aparato de destilación: Compuesto por balón de destilación para fenoles de 1L de capacidad con su respectivo condensador Graham, ambos de vidrio de borosilicato, embudo de filtración y balón aforado de 200 mL (Ver punto 7.4)
- pHmetro
- Espectrofotómetro (Hewlett Packard 8453) con longitud de onda de trabajo de 460 nm.
- Celda de Vidrio de 1 cm de paso de luz

7.2. Reactivos

- Agua ultrapura grado 1
- *Ácido fosfórico, H₃PO₄, 1: 9.* Diluya 10 mL de ácido fosfórico del 85% a 100 mL con agua ultrapura.
- *Hidróxido de amonio, NH₄OH 0,5 N.* Diluya 35 mL de NH₄OH concentrado a 1000 mL con agua ultrapura. Mantener refrigerado y preparar cantidades menores según el número de muestras a procesar, ya que este se va deteriorando con el tiempo.
- *Solución tampón de fosfato.* Disuelva 104,5 g de K₂HPO₄ y 72,3 g de KH₂PO₄ en agua ultrapura y diluya a 1000 mL. El pH debe ser aproximadamente 6,8. Mantener refrigerada.
- *Solución de 4-aminoantipirina.* Disuelva 2,0 g de 4-aminoantipirina en agua y diluya a 100 mL. Prepare diariamente. (La cantidad de reactivo puede variar de



acuerdo con el número de muestras a analizar, para evitar el malgasto del mismo).

- *Solución de ferricianuro de potasio, $K_3Fe(CN)_6$.* Disuelva 8,0 g de $K_3Fe(CN)_6$ en agua ultrapura y diluya a 100 mL. Filtre si es necesario y guarde en botella oscura. Prepare semanalmente.
- *Solución patrón de fenol.* Disuelva 1,00 g de fenol en agua desionizada y diluya a 1000 mL con agua ultrapura.
- *Solución NaOH 6 M.* Disuelva 240 g de Hidróxido de sodio R.A. en agua ultrapura y diluya a 1000 mL.
- *Cloroformo, $CHCl_3$.*
- Sulfato de Sodio anhidro, Na_2SO_4 .

7.3. Materiales

- Papel de filtro cualitativo, filtración rápida.
- Botellas de Polipropileno de 500 mL o 1 L.
- Balones de capacidad 1L para la destilación de fenoles.
- Condensadores tipo Graham.
- Microespátula metálica.
- Balones aforados de 100 mL, 250 mL y 1L Clase A.
- Balones aforados de 200 mL Clase A y/o Clase B.
- Pipetas graduadas de 10, 25 mL. Clase B
- Pipetas aforadas de 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 50, 100 mL Clase A
- Frasco lavador en polipropileno
- Probetas de vidrio de 50, 100 y 250 mL
- Embudos de Separación de 500 mL.
- Vasos de 50 mL.

7.4. Montaje

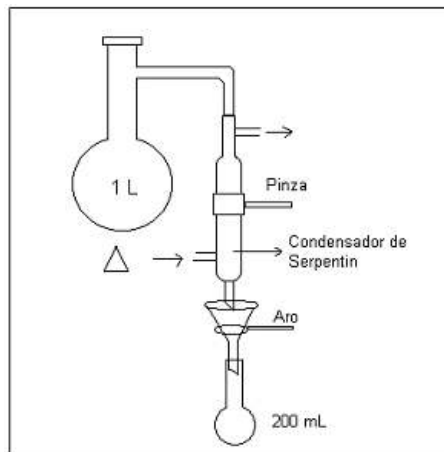


Figura No.2 Montaje del sistema de Destilación.

8. PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA DE VIDRIERÍA:

Lave toda la vidriería con jabón alcalino, posteriormente déjelo en H₂SO₄ al 10 % por 30 minutos y enjuague muy bien con agua destilada. Reserve esta vidriería para la determinación de Fenoles y utilice únicamente a la que se le haya efectuado el control de calidad. Consultar el procedimiento TP0125 Procedimiento de Lavado Material de Vidrio. Enjuague con agua destilada los refrigerantes, lave los balones de destilación con jabón biodegradable al 5 % en agua ligeramente caliente (50°C), frote vigorosamente cada balón y enjuague, cuando los balones están grasosos sumerja de un día para otro en hidróxido de sodio y enjuague muy bien.

9. PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES

- Preparación de la solución patrón de Fenol: En un pesa - sustancias coloque 1,0000 gramo de Fenol. Transfíralos de forma cuantitativa a un balón aforado de 1 litro, utilice agua ultrapura para esta operación. La solución así obtenida tiene una concentración de 1000 mg Fenol/L.
- Prepare una solución intermedia de 10,0 mg Fenol/L, a partir de la solución de 1000 mg Fenol/L. Para esto tome una alícuota de 5 mL de la solución patrón, transfírala a un balón de 500 mL clase A y complete a volumen con agua ultrapura. Preparar a diario.
- Prepare una solución estándar de 1,0 mg Fenol/L, a partir de la solución de 10,0 mg Fenol/L. Para esto tome una alícuota de 10 mL de la solución intermedia de 10,0 mg Fenol/L, transfírala a un balón de 100 mL clase A y complete a volumen con agua ultrapura. Preparar a diario.

A partir de estas soluciones prepare los estándares de calibración y de control como se indica en la siguiente tabla:

Estándar de calibración y/o control (mg Fenol/L)	Alícuota de estándar de 10.0 mg Fenol/L (mL)	Alícuota de estándar de 1.0 mg Fenol/L (mL)	Volumen de estándar preparado (mL)
0,01 Curva		2,0	200
0,02 Control		4,0	200
0,05 Curva		10,0	200
0,20 Curva	4,0		200
0,30 Control	15,0		500
0,40 Curva	10,0		250

Tabla No. 1 Preparación de Estándares de calibración y de control

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0456	Fecha de elaboración: 28/12/2007	Versión: 02
FENOLES EN AGUA POR DESTILACIÓN, EXTRACCIÓN CON CLOROFORMO Y ESPECTROFOTOMETRÍA			

10. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

10.1 Ajuste de pH de las muestras.

Tome una alícuota de 200 mL de la muestra y transfírela a un vaso de precipitados. Agregue NaOH 6 M y/o H₃PO₄, 1: 9 para ajustar el pH a 4,0.

10.2 Destilación de la muestra.

Transfiera cuantitativamente la muestra al balón de destilación.

Destile hasta que se recojan aproximadamente 150 mL, apague la unidad de calentamiento, deje enfriar aproximadamente 15 minutos y agregue al balón 50 mL más de agua. Destile hasta que se recojan aproximadamente 200 mL en el balón aforado, complete a volumen.

Filtre tanto muestras como patrones esto evita el arrastre de grasa y otras impurezas del sistema al balón aforado de 200 mL. Los estándares y controles tienen el mismo procedimiento que las muestras.

10.3 Desarrollo de color, extracción y determinación espectrofotométrica.

Transfiera cuantitativamente los 200 mL obtenidos en la destilación a un embudo de separación

Agregue 2,0 mL de Hidróxido de amonio 0,5 N a cada muestra, solución patrón y blanco.

Ajuste el pH a $10.0 \pm 0,1$, adicionando solución buffer de fosfato (aproximadamente 3 gotas), el blanco sirve para determinar la cantidad de buffer que requiere. Verifique que el pH se encuentre entre 9.9 – 10.1

Agregue 1 mL de la solución de 4-aminoantipirina y 1 mL de la solución de Ferricianuro de potasio, agitando cada muestra tras la adición de cada reactivo. Permita el desarrollo de color por 15 minutos.

Agregue 20 mL de Cloroformo a cada embudo, tape y agite vigorosamente unas cinco veces, despresurizando el embudo. Deje en reposo para que se separen las dos fases.

Filtre cada extracto de Cloroformo sobre papel filtro que contenga aproximadamente un gramo de Sulfato de Sodio anhidro. Recoja el filtrado en vasos de 50 mL. No adicione más cloroformo, ni lave el papel filtro o los embudos con Cloroformo.

Mida la absorbancia de cada muestra en el espectrofotómetro a 460 nm con una celda de vidrio de 1 cm de paso de luz.

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0456	Fecha de elaboración: 28/12/2007	Versión: 02
FENOLES EN AGUA POR DESTILACIÓN, EXTRACCIÓN CON CLOROFORMO Y ESPECTROFOTOMETRÍA			

Los estándares y controles tienen el mismo procedimiento que las muestras.

11. PROCESAMIENTO DE DATOS Y CÁLCULO DE RESULTADOS:

La concentración de fenoles es determinada directamente en el espectrofotómetro, para lo cual es importante tener en cuenta el factor de dilución para cada caso en particular. Reportar los resultados como mg fenol/L

12. SECCIÓN DE CONTROL DE CALIDAD (CC) Y ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

En forma paralela, con cada grupo o lote de muestras, es necesario procesar el mismo día, un estándar de 0,05 ó un estándar de 0.30 mg de Fenol/L (correspondientes al 20 y al 80% del intervalo lineal) y un blanco . Registre los resultados en la CARTA DE CONTROL del método.

El reporte impreso directamente por el equipo, debe ser entregado al líder del grupo de análisis fisicoquímico.

13. REFERENCIAS

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. 21ed., New York, 2005.

IDEAM, Programa de Fisicoquímica Ambiental. Fenoles en agua por Destilación y determinación espectrofotométrica. Bogotá, 2006.

Norma Mexicana: NMX-AA-050-SCFI-2001 Análisis de Agua – Determinación de Fenoles Totales en Aguas naturales, Potables, Residuales y Residuales Tratadas – Método de Prueba..