



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN  
CIENCIAS QUÍMICAS**

**DESARROLLO DE UN MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE  
CONTAMINANTES EMERGENTES EN MATRICES VEGETALES UTILIZANDO  
EXTRACCIÓN CON BARRA MAGNÉTICA (SBSE) SEGUIDO DE  
CROMATOGRAFÍA DE GASES-ESPECTROMETRÍA DE MASAS.**

TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q.A. Fabián Benjamín Fernández Reyes



TUTOR: Dra. Araceli P. Peña Álvarez AÑO: 2012



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.

## **Jurado asignado**

Presidente	Dra. Luz Elena Vera Ávila
Vocal	Dr. Roberto Martínez
Vocal	Dra. Martha Patricia García Camacho
Vocal	Dr. José Antonio Rodríguez Ávila
Secretario	Dra. María del Pilar Cañizares Macías

El presente trabajo de tesis se realizó bajo la dirección de la Dra. Araceli P. Peña Álvarez, en el laboratorio 101 de cromatografía de gases del departamento de Química Analítica del Edificio “B” de la Facultad de Química de la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

Este trabajo se presentó en el XXV Congreso Nacional de Química Analítica (AMQA) realizado en la Facultad de Química de la UNAM, en la modalidad de presentación oral con el título “DESARROLLO DE UN MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN MATRICES VEGETALES UTILIZANDO SBSE (STIR-BAR SORPTIVE EXTRACTION) SEGUIDO DE CG-EM”.

## **Agradecimientos**

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la educación de alto nivel que me brindó en mi formación profesional. A la Facultad de Química por formar a los mejores químicos del país. Al Posgrado de Ciencias Químicas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca (número 365418) otorgada para la realización de mis estudios de posgrado. Al proyecto DGAPA PAPIIT IN219010, que permitió la realización de este trabajo.

A la Dra. Araceli P. Peña Álvarez por la asesoría, apoyo, confianza, orientación y amistad brindada en la realización de este trabajo de tesis, por creer en mí y darme la oportunidad de pertenecer a su muy selecto grupo de trabajo.

A los miembros del jurado por sus valiosas sugerencias para lograr que éste trabajo fuera mejor.

A mi madre Flora Reyes por todo su apoyo incondicional, por ser mi ejemplo a seguir. A mis hermanos Silvia y Gustavo Fernández por creer en mí, por su cariño y apoyo.

A todos mis amigos compañeros del laboratorio 101 y de la maestría, por su ayuda y apoyo en momentos difíciles. A Gaby por ser una personal especial en mi vida.

A todos los profesores de quienes he aprendido tanto y que han compartido sus conocimientos conmigo de manera incondicional.

Y muy especialmente a Dios por el amor que me demuestra a cada instante, por la oportunidad de vivir cada día, por la familia que me dio y porque es lo más importante en mi vida.

A mi madre y mis hermanos

“La Paciencia es la madre de la  
cromatografía”

Anónimo

## Contenido

<b>I. Lista de abreviaturas.....</b>	<b>vii</b>
<b>II. Lista de tablas y diagramas. ....</b>	<b>viii</b>
<b>III Lista de gráficas y figuras .....</b>	<b>9</b>
<b>1. Resumen .....</b>	<b>10</b>
<b>2. Introducción.....</b>	<b>11</b>
<b>3. Antecedentes .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1. El Agua: generalidades. ....</b>	<b>13</b>
<b>3.2 Contaminantes del agua.....</b>	<b>14</b>
3.2.1 Tratamiento de aguas residuales.....	16
3.2.1.1 Pretratamiento.....	20
3.2.1.2 Tratamiento primario.....	22
3.2.1.3 Tratamiento secundario .....	23
3.2.1.4 Tratamiento terciario .....	24
3.2.1.5 Tratamientos avanzados .....	24
3.2.1.6 Proceso de cloración.....	25
3.2.1.7 Lodos residuales .....	26
<b>3.3 Contaminantes emergentes.....</b>	<b>27</b>
3.3.1 Productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCP's).....	28
<b>3.3.2 Efecto de los contaminantes.....</b>	<b>30</b>
<b>3.4 Zona de muestreo de matrices vegetales en la Ciudad de México .....</b>	<b>31</b>
3.4.1 Producción de vegetales en Xochimilco.....	32
<b>3.5 Análisis de contaminantes prioritarios.....</b>	<b>32</b>
<b>3. 6 Extracción con barra magnética (SBSE).....</b>	<b>35</b>
3.6.1 Extracción y desorción en la técnica SBSE.....	37
3.6.1.1 Extracción.....	38
3.6.1.2 Desorción.....	39
3.6.1.2.1 Desorción térmica.....	39
3.6.1.2.2 Desorción líquida.....	39
3.6.2 Factores que afectan la extracción con SBSE .....	40
3.6.2.1 pH. ....	40
3.6.2.2 Fuerza iónica.....	41
3.6.2.3 Modificadores orgánicos. ....	41
3.6.2.4 Temperatura de extracción. ....	42
3.6.2.5 Velocidad de agitación. ....	42
3.6.3 Factores que afecta la desorción.....	42
3.6.4 Limitaciones de la extracción con la técnica SBSE. ....	43
3.6.4 Derivatización.....	43
<b>3.7 Cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM) .....</b>	<b>45</b>
<b>4. Objetivos.....</b>	<b>47</b>
<b>4.1. Objetivo general.....</b>	<b>47</b>
<b>4.2. Objetivo específico.....</b>	<b>47</b>
<b>5. Desarrollo experimental.....</b>	<b>48</b>

5.1 Materiales .....	48
5.2 Reactivos y soluciones estándar .....	48
5.3 Equipos y condiciones cromatográficas .....	48
5.4 Otros equipos .....	49
5.5 Muestras .....	49
5.6 Procedimiento de extracción con SBSE .....	49
5.6.1 Preparación de la muestra.....	49
5.6.2 Análisis por SBSE .....	50
5.6.3 Identificación de los analitos terbutildimetilsililados (TBDMS) .....	50
5.6.4 Optimización de la extracción por SBSE. ....	51
5.6.4.1 Optimización del disolvente de extracción.....	52
5.6.4.2 Optimización del pH en la extracción por SBSE. ....	52
5.6.4.3 Optimización del tiempo de extracción. ....	52
5.6.4.4 Optimización del tiempo y temperatura de desorción. ....	52
5.6.4.5 Optimización de la fuerza iónica. ....	53
5.6.5 Límites de detección.....	53
5.6.6 Validación del método.....	53
5.6.6.1 Linealidad .....	53
5.6.6.2 Precisión .....	53
5.6.6.3 Recobro.....	54
5.6.7 Análisis de PPCP's por SBSE en muestras de vegetales de hoja verde .....	54
<b>6. Resultados y análisis de resultados .....</b>	<b>55</b>
6.1 Identificación de PPCP's por CG-EM.....	55
<b>6.2 Optimización .....</b>	<b>58</b>
6.2.1 Disolvente de extracción .....	59
6.2.2 Tiempo de extracción .....	60
6.2.3 Influencia del pH .....	61
6.2.4 Temperatura y tiempo de desorción .....	63
6.2.5 Fuerza iónica.....	64
<b>6.3 Condiciones óptimas de extracción.....</b>	<b>65</b>
<b>6.4 Límites de detección .....</b>	<b>66</b>
<b>6.5 Linealidad.....</b>	<b>66</b>
<b>6.6 Recobro.....</b>	<b>68</b>
<b>6.7 Aplicación del método desarrollado.....</b>	<b>69</b>
<b>6.7.1 Análisis de matrices vegetales.....</b>	<b>69</b>
<b>7. Conclusiones.....</b>	<b>72</b>
<b>8. Anexo .....</b>	<b>73</b>
8.1 Características químicas de los PPCP's estudiados.....	73
8.2 Linealidad del método .....	74
<b>9. Referencias .....</b>	<b>78</b>

## I. Lista de abreviaturas

<b>Abreviatura</b>	<b>Significado</b>
CG	Cromatografía de Gases
C.V.	Coefficiente de variación
D.E.	Desviación estándar
DBO	Demanda Bioquímica de Oxígeno
DQO	Demanda Química de Oxígeno
EM	Espectrometría de Masa
EFS	Extracción en Fase Sólida
ID	Diámetro Interno
LD	Límite de Detección
LQ	Límite de Cuantificación
MEFS	Microextracción en Fase Sólida
MTBSTFA	N-metil-N-t-butildimetilsililtrifluoroacetamina
PDMS	Polidimetilsiloxano
PEG	Polietilenglicol
PPCP's	Productos farmacéuticos y de cuidado personal (por sus siglas en inglés)
SBSE	Extracción en Barra Magnética (por sus siglas en inglés)
SIM	Monitoreo Selectivo de Iones
SCAN	Barrido Total de Iones



## II. Lista de tablas y diagramas.

<b>Tabla</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
1	Contaminantes provenientes de efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales para reúso permisibles en México	17
2	Operaciones y procesos unitarios que se emplean en el tratamiento de aguas residuales	19
3	Niveles de tratamiento en las plantas de tratamiento de aguas residuales	20
4	Producción principal de vegetales en la zona chinampera de Xochimilco	32
5	Principales analitos estudiados en diversos alimentos por la técnica SBSE	34
6	Analitos estudiados, estructura y derivado TBDMS	51
7	Condiciones óptimas de extracción con barra magnética (SBSE)	66
8	Límites de detección experimentales	66
9	Ecuación de la recta para cada analito	68
10	Recobro del método (n=3)	69
11	Matrices vegetales reales analizadas	70
12	Linealidad del método de SBSE-CG-EM para la cuantificación de PPCP's	75

<b>Diagrama</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
1	Clasificación general de contaminantes en agua.	16

### III Lista de gráficas y figuras

Gráfica	Descripción	Página
1	Efecto de la variación del disolvente de extracción, en la extracción con baño ultrasónico.	60
2	Efecto del tiempo de extracción utilizando SBSE.	61
3	Efecto del pH en la extracción de Ibuprofeno, Naproxeno y Triclosán (1000 ng/g) con SBSE.	62
4	Efecto de la temperatura y tiempo de desorción (segunda desorción) en la extracción con SBSE de Ibuprofeno, Naproxeno y Triclosán (1000 ng/g).	65
5	Efecto de la fuerza iónica en la extracción de Ibuprofeno, Naproxeno y Triclosán (1000 ng/g) con SBSE.	66

Figura	Descripción	Página
1	Presentación de las barras comerciales Twister.	35
2	Recobro teórico porcentual versus $\log K_{PDMS,w}$	37
3	Modos de extracción en SBSE: Inmersión y espacio de cabeza.	38
4	Diferentes modos de derivatización en SBSE.	44
5	Cromatograma Iónico Total de Lechuga fortificada con ibuprofeno naproxeno y triclosán a 1000 ng/g.	55
6	Cromatograma iónico total del ibuprofeno terbutildimetilsililado y su espectro de masas.	56
7	Cromatograma iónico total del naproxeno terbutildimetilsililado y su espectro de masas.	57
8	Cromatograma iónico total del triclosán terbutildimetilsililado y su espectro de masas.	58
9	Diagrama logarítmico de concentración de especies ácido-base de ibuprofeno, naproxeno y triclosán en función del logaritmo de la concentración.	63
10	Curva de calibración de ibuprofeno, naproxeno y triclosán adquirido en modo SIM (monitoreo de ión selectivo).	68
11	Cromatograma iónico total (TIC) de una muestra de cilantro analizado con el método optimizado, se observa la identificación de triclosán.	71

## 1. Resumen

Se desarrolló un método por Extracción con Barra Magnética (SBSE, por sus siglas en inglés) seguido de Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (SBSE-CG-EM) para la identificación de compuestos emergentes (Ibuprofeno, Naproxeno y Triclosán) en matrices vegetales (Lechuga, Espinaca, Cilantro, Perejil y Epazote).

La extracción de los analitos se realizó por SBSE utilizando una barra magnética con una película de PDMS-Etilenglicol, optimizando las variables: tiempo de extracción, tiempo de desorción, temperatura de desorción, pH, fuerza iónica y disolvente de extracción. La derivatización se realizó con N-metil-N-(terbutildimetilsilil)-trifluoroacetamida (MTBSTFA). La identificación de cada compuesto se realizó comparando los tiempos de retención y los espectros de masas de las muestras con los de los estándares y la base de datos NIST (National Institute of Standards and Technology). La cuantificación se efectuó por SIM (Monitoreo Selectivo de Iones). Los límites de detección se determinaron en modo monitoreo de ión selectivo (SIM), para ibuprofeno y naproxeno fue de 10 ng/g y para el triclosán menor a 2.5 ng/g. Se evaluó la precisión del método desarrollado obtenida por estándar externo (curva de calibración con 5 puntos: 200, 400, 600, 800 y 1000 ng/g) y la abundancia de cada analito se adquirió por extracto de iones. La exactitud del método fue evaluada obteniendo los recobros de cada punto de la curva de calibración por triplicado, la abundancia se obtuvo por extracto de iones.

Se analizaron muestras de vegetales provenientes de Xochimilco (Lechuga, Espinaca, Cilantro, Perejil y Epazote) que se supone fueron regados con los efluentes provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales del cerro de la estrella. Se identificó triclosán en espinacas, cilantro, perejil y epazote.

El método desarrollado por SBSE-CG-EM, permite el análisis simultáneo de ibuprofeno, naproxeno y triclosán en matrices vegetales, además de ser robusto para vegetales de hoja verde.

## 2. Introducción.

Los contaminantes emergentes son compuestos cuyo vertido supone un problema sanitario y ambiental que aún no está suficientemente investigado y cuya regulación legal es poco satisfactoria o nula. Entre ellos destacan los fármacos, productos de higiene personal, plaguicidas, tensoactivos, etc. Estos contaminantes emergentes se vierten continuamente a los mantos acuíferos y los sistemas convencionales de depuración no son capaces de removerlos, lo que exige nuevos sistemas de eliminación. Los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCP's, por sus siglas en inglés) impulsan la preocupación por la comprensión de las consecuencias ecológicas causadas por la contaminación del medio ambiente y la posible entrada de éstos a la cadena alimentaria humana. Experimentos de absorción en plantas han demostrado el traslado de carbamacepina y sulfametazina desde la matriz del suelo hasta los componentes aéreos de la planta.<sup>1</sup>

La determinación de compuestos orgánicos en matrices ambientales, vegetales, alimentos, acuosas, biomédicas, etc. requieren de una etapa de pre-concentración antes de la separación cromatográfica y detección. Las técnicas más utilizadas para el análisis de contaminantes emergentes en matrices vegetales son: Extracción Soxhlet, sonicación, extracción con fluidos supercríticos, extracción con líquidos presurizados y extracción asistida con microondas antes de la separación cromatográfica y detección por espectrometría de masas. En los últimos años las tendencias de simplificación de las técnicas analíticas permiten reducir los pasos de limpieza en la preconcentración en la determinación de contaminantes en matrices complejas, como consecuencia mejoran los límites de detección. Estas técnicas analíticas son: Extracción en fase sólida (SPE), dispersión de matriz en fase sólida (MSPD), microextracción en fase sólida (SPME) y extracción con barra magnética (SBSE). La SPE y la MSPD son técnicas exhaustivas, mientras que la SPME y SBSE son técnicas no exhaustivas.<sup>2</sup>

La extracción con barra magnética (SBSE) es una técnica de preparación de muestra, así mismo, reduce el consumo de disolventes orgánicos, miniaturiza la preparación de muestra

y contribuye así a la química verde. La SBSE es una variante de la SPME con la ventaja de tener mayor sensibilidad.<sup>3</sup> Por lo que el objetivo de este trabajo fue desarrollar y optimizar un método para la identificación y cuantificación de ibuprofeno, naproxeno y triclosán en matrices vegetales de hoja verde utilizando extracción en barra magnética (SBSE) seguido de CG-EM.

La técnica de extracción con barra magnética (SBSE) se ha utilizado en la determinación de: compuestos aromáticos en café, té vino y sake, compuestos químicos del tabaco en tabaco, cloroanisoles y clorofenoles en maíz, fungicidas en vinos y uvas, aceite esencial de plantas y uvas, monoterpenos en uvas, pesticidas en frutas, vegetales, cerezas, tabaco y naranja, PAH's en vino y té, compuestos del sabor en cerveza y VOC's en uvas y vinagre.

### 3. Antecedentes

#### 3.1. El Agua: generalidades.

El agua es un líquido incoloro, inodoro e insípido, formado por dos átomos de hidrógeno y un átomo de oxígeno. Es el componente más abundante de la superficie terrestre (el 71% de ésta se encuentra cubierta por agua) y parte constituyente de todos los seres vivos.

A temperatura ambiente es un líquido incoloro, a pesar de que el agua de los mares y océanos pareciera ser de color azul o azul-verdoso. El color observado es el resultado de fenómenos de difusión, adsorción y reflexión/refracción de la luz que penetra en la superficie marina y oceánica.<sup>3</sup>

La disponibilidad de agua promedio anual en el mundo es de aproximadamente 1,386 millones de km<sup>3</sup>, de los cuales el 97.5% es agua salada y sólo el 2.5% es agua dulce (35 millones de km<sup>3</sup>). De esta cantidad el 70% no está disponible para consumo humano debido a que se encuentra en forma de glaciares, nieve o hielo. Del agua dulce disponible para consumo humano, alrededor del 30% es agua subterránea y menos del 1% se encuentra en lagos, ríos, humedad en el suelo y aire.<sup>4</sup>

México utiliza anualmente 72 mil millones de m<sup>3</sup> de agua. De éstos el 78% lo usa la agricultura y el 28% se utiliza para uso humano, pecuario y la industria. Del total del agua disponible, las aguas subterráneas abastecen casi un tercio de la demanda.<sup>5</sup>

La contaminación del agua procede de fuentes naturales y producidas por la actividad humana. En la actualidad la más importante, sin duda, es la provocada por el hombre. El desarrollo y la industrialización generan gran cantidad de residuos que se desechan directamente o indirectamente a los mantos acuíferos.<sup>6</sup>

### 3.2 Contaminantes del agua.

A partir del siglo XX, la población mundial se triplicó y como consecuencia las extracciones de agua se sextuplicaron (México ocupa el octavo lugar a nivel mundial). La actividad humana utiliza este recurso vital principalmente en la industria, la agricultura, la generación de energía hidroeléctrica y en presas de almacenamiento.<sup>4</sup>

En términos de las aguas residuales, en México se generan alrededor de 420 m<sup>3</sup>/s, de éstas las municipales generan 250 m<sup>3</sup>/s y las no municipales generan el resto (170 m<sup>3</sup>/s). Los giros industriales que generan mayor cantidad en volumen son la acuicultura, la industria del azúcar, la industria del petróleo, la industria química y otros servicios. La cantidad de carga orgánica que aportan las industrias es mucho mayor comparado con la acuicultura produciendo una degradación intensa en la calidad del agua, impactos ecológicos diversos, pérdida del uso natural y abatimiento en la disponibilidad por afectación de la calidad.<sup>5</sup>

Siguiendo con la problemática asociada a las aguas residuales, se tiene una baja capacidad de tratamiento, si bien hay esfuerzos enormes por incrementar estos niveles de tratamiento (24% en los usos municipales y 13% en los no municipales), esto incide directamente en la degradación sobre la calidad, pérdida sobre sus posibles usos y el impacto ambiental que se tiene por este concepto.<sup>5</sup>

En cuanto a la contaminación del agua superficial, la detección se da por una red nacional de monitoreo que opera la Comisión Nacional del Agua (CNA) desde hace más de treinta años a más de 215 cuerpos de agua, observando el comportamiento de la calidad del agua. La calidad del agua aceptable para cualquier tipo de uso es del 5% (sin contaminates), la aceptable es del 22% (con contaminantes dentro de los límites establecidos en las normas oficiales), el agua poco contaminada representa un 49%, la contaminada 15%, la altamente contaminada 7% e incluso se tiene presencia de tóxicos en 2%.<sup>5</sup>

En México, solo el 48.5% de aguas residuales generadas reciben un tratamiento en plantas de tratamiento de aguas residuales, el resto es vertido sin previo tratamiento contaminando el suelo y las aguas superficiales, tanto en zonas urbanas como rurales, creando un riesgo para la salud humana y el medio ambiente.<sup>6</sup>

Los efluentes de aguas residuales tratadas se clasifican en dos tipos (dependiendo del uso):

1. Agua empleada en servicios al público con contacto directo, utilizada principalmente en la agricultura (si proviene de descargas municipales), para el llenado de lagos y canales artificiales con paseos en lancha, remo, canotaje y esquí, fuentes de ornato, lavado de vehículos y riego de parques y jardines.
2. Agua empleada en servicios al público con contacto indirecto, utilizada para el riego de jardines y camellones en autopistas, camellones en avenidas, fuentes de ornato, campos de golf, abastecimiento de hidrantes de sistemas contra incendios, lagos artificiales no recreativos, barreras hidráulicas de seguridad y panteones.<sup>7</sup>

Por otra parte, los contaminantes presentes en las aguas residuales y en los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales se pueden clasificar como se indica en el diagrama 1. En México, los contaminantes regulados están contemplados en normas oficiales en las cuales se establecen los límites permisibles (basados en estudios que contemplan daños al ser humano, fauna e impacto ambiental) para su descarga, estos contaminantes regulados se remueven en las plantas de tratamiento de aguas residuales que cuentan con tratamientos primarios y secundarios.

Los contaminantes no regulados (los llamados “contaminantes emergentes”), son removidos en plantas de tratamiento de aguas residuales que cuentan con tratamiento terciario o avanzado. Estos contaminantes emergentes no están suficientemente investigados, razón por la cual no se tiene suficiente información del impacto que tienen al medio ambiente, ser humano y fauna.<sup>1</sup>



Diagrama 1. Clasificación general de contaminantes en agua.<sup>1</sup>



PPCPs: Productos farmacéuticos y de cuidado personal

PAHs: Hidrocarburos aromáticos policíclicos

OTs: Compuestos orgánicos de estaño

PAEs: Ésteres de ácido ftálico

PBDEs: Éteres difenil polibromados

PCAs: Alcanos policlorados

### 3.2.1 Tratamiento de aguas residuales

El tratamiento de aguas residuales consiste en una serie de procesos físicos, químicos y biológicos que tienen como fin, eliminar los contaminantes presentes en el agua proveniente de la actividad humana. En la Tabla 1 se presentan los parámetros empleados en México para medir la calidad de los efluentes provenientes de las plantas de tratamiento de aguas residuales tratadas.<sup>8</sup>

**Tabla 1.** Contaminantes provenientes de efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales para reúso permisibles en México.

<b>Contaminantes Básicos</b>	<b>Contaminantes Patógenos</b>	<b>Metales pesados y cianuros</b>
Grasas y aceites		
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	Coliformes fecales	Arsénico, Cadmio, Cobre, Plomo, Zinc, Cianuros,
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO <sub>5</sub> )	Huevos de Helminto	romo hexavalente, cobre, mercurio, níquel y plomo

La demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>) es una medida de la cantidad de oxígeno requerido para la oxidación de la materia orgánica biodegradable presente en una muestra de agua (resultado de la oxidación bioquímica aerobia). Esta se debe a tres tipos de materiales:

- Materiales orgánicos carbónicos, utilizados como fuente de alimentación por organismos aerobios.
- Nitrógeno oxidable, derivado de la presencia de nitritos, amoníaco y en general de compuestos nitrogenados que sirven como alimento para bacterias específicas.
- Compuestos químicos reductores como iones ferroso, sulfitos y sulfuros que se oxidan por el oxígeno disuelto.<sup>8</sup>

Los sólidos suspendidos totales (SST), es una medida de la cantidad de partículas inorgánicas (arcillas, arenas y suelos) y orgánicas (fibras de plantas, células de algas, bacterias, microorganismos, etc.) como resultado de pasar una muestra de agua por un filtro de 0.45µm. Estos sólidos provocan la adsorción de agentes químicos y biológicos que deterioran la calidad del agua.

Las grasas y aceites, son un parámetro que tiene como objetivo evitar la inhibición del tratamiento biológico del agua.<sup>9</sup>

Si bien, estos parámetros son empleados en México para determinar la calidad de agua que se emplea para su reúso, sólo contemplan los contaminantes biodegradables en agua. Un efluente proveniente de una planta de tratamiento de aguas residuales puede tener una carga de contaminantes inorgánicos muy alta (contaminantes no biodegradables o poco biodegradables) y tener una  $DBO_5$  (contaminantes biodegradables) que se encuentre dentro de los límites permisibles para su incorporación a los mantos acuíferos o su reúso, lo que implicaría la incorporación de contaminantes no biodegradables al medio ambiente.

Un parámetro que no se contempla en las normas Mexicanas es la demanda química de oxígeno (DQO), basada en la oxidación de materia presente en una muestra de agua por acción del dicromato o permanganato en medio ácido a una temperatura de  $100^{\circ}\text{C}$ , que mide contaminantes poco biodegradables en agua.<sup>10</sup>

Por otra parte, la depuración se compone de la combinación de procesos y operaciones unitarias que tienen por objeto eliminar o reducir determinados compuestos hasta un nivel predeterminado. En las operaciones unitarias de depuración intervienen básicamente fuerzas físicas de separación mientras que en los procesos involucran cambios de la materia por medios químicos o biológicos. En la Tabla 2, se presenta múltiples combinaciones agrupadas por el tipo de contaminante que remueven.

En la tabla 3, se agrupa en niveles de tratamientos los distintos procesos y operaciones unitarias que tenga la planta de tratamiento de aguas residuales.<sup>11,12</sup>

**Tabla 2.** Operaciones y procesos unitarios que se emplean en el tratamiento de aguas residuales

<b>Contaminantes</b>	<b>Operación</b>
Sólidos suspendidos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sedimentación</li> <li>• Desarenación</li> <li>• Cribado y filtración</li> <li>• Filtración</li> <li>• Flotación</li> <li>• Coagulación-floculación</li> </ul>
Compuesto orgánicos biodegradables	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sistemas biológicos con biomasa suspendida (lodos activados)</li> <li>• Sistemas biológicos con sistemas fijos (filtros sumergidos)</li> <li>• Filtración lenta</li> </ul>
Patógenos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cloración</li> <li>• Ozonólisis</li> <li>• UV</li> <li>• Radiación</li> <li>• Desinfección solar</li> <li>• Filtración lenta</li> </ul>
Nitrógeno	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nitrificación-desnitrificación biológica</li> <li>• Desorción</li> <li>• Intercambio iónico</li> <li>• Cloración</li> </ul>
Fósforo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Precipitación</li> <li>• Remoción biológica y precipitación química</li> </ul>
Compuesto orgánicos refractarios	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Adsorción con carbón activado</li> <li>• Intercambio iónico</li> </ul>
Metales pesados	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Precipitación</li> <li>• Intercambio iónico</li> </ul>
Sólidos disueltos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Procesos de membrana</li> <li>• Intercambio iónico</li> </ul>

**Tabla 3.** Niveles de tratamiento en las plantas de tratamiento de aguas residuales

<b>Etapas</b>	<b>Proceso</b>
Pretratamiento	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cribado</li> <li>• Flotación</li> </ul>
Primario	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sedimentación</li> <li>• Aereación (Reoxigenación)</li> </ul>
Secundario	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Procesos biológicos</li> <li>• Coagulación-floculación</li> </ul>
Terciario/avanzado	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Filtración</li> <li>• Remoción de N y P</li> <li>• Remoción de detergentes</li> </ul>
Complementario	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Desinfección</li> </ul>

La selección de los procesos de tratamiento de aguas residuales o la serie de procesos de tratamiento dependen de un cierto número de factores, entre los que se incluyen:

- Características del agua residual: DBO, materia en suspensión, pH y productos tóxicos.
- Calidad del efluente de salida requerido
- Costos y disponibilidad del terreno (lagunas y estanques de estabilización)
- Consideración de futuras ampliaciones o la previsión de límites de calidad de vertido más estrictos (diseño de tratamientos más sofisticados en el futuro).

### 3.2.1.1 Pretratamiento

El pretratamiento de aguas residuales tiene como objetivo separar del agua residual tanto por operaciones físicas como por operaciones mecánicas, la mayor cantidad de materias que por su naturaleza (grasas, aceites, etc.) o por su tamaño (ramas, latas, etc.) crearían

problemas en los tratamientos posteriores (obstrucción de tuberías y bombas, depósitos de arenas y rotura de equipos).

Las principales operaciones son:<sup>13</sup>

- **Separación de grandes sólidos (Pozo de gruesos).** Se emplea cuando existen sólidos de gran tamaño o una gran cantidad de arena en el agua bruta.
- **Desbaste.** Tiene como objetivo proteger el sistema de tratamiento de aguas residuales de la posible llegada intempestiva de grandes objetos capaces de provocar obstrucciones en las distintas unidades de la instalación, además de separar y evacuar las materias voluminosas arrastradas por el agua que disminuyen la eficiencia de los tratamientos posteriores.
- **Tamizado.** Tiene los mismos objetivos que el desbaste (eliminación de materia orgánica que por su tamaño pueda interferir en tratamientos posteriores).
- **Dilaceración.** Su objetivo principal es triturar materia sólida arrastrada por el agua,
- **Desarenado.** El objetivo de esta operación es eliminar todas aquellas partículas de granulometría superior a 200 micras, con el fin de evitar que se produzcan sedimentos en los canales y conducciones, para proteger las bombas y otros aparatos contra la abrasión, y para evitar sobrecargas en las fases de tratamiento siguiente.
- **Desaceitado-desengrasado.** El objetivo en este paso es eliminar grasas, aceites, espumas y demás materiales flotantes más ligeros que el agua, que podrían distorsionar los procesos de tratamiento posteriores.
- **Preaeración.** Sus objetivos son: Mejorar la tratabilidad del agua, en cuanto que esta llega a la depuración, control de olores, mejorar la separación de las grasas,

favorecer la floculación de sólidos, mantener el oxígeno en la decantación aun a bajos caudales, incrementar la eliminación de  $DBO_5$  y evitar los depósitos en las cámaras húmedas.

### 3.2.1.2 Tratamiento primario

Su principal objetivo es la reducción de los sólidos en suspensión del agua residual (y como consecuencia la reducción de la  $DBO_5$ ). Dentro de estos sólidos en suspensión pueden distinguirse: Los sólidos sedimentables (son los que sedimentan al dejar el agua residual en condiciones de reposo durante una hora, este tiempo también depende del tamaño del sedimentador), los sólidos flotantes (definibles por diferencia a los sedimentables) y los sólidos coloidales (tamaño alrededor de 10 micras).

Los principales procesos de tratamiento primario de aguas residuales son:

- **Sedimentación (decantación primaria).** El objetivo de la decantación primaria es la reducción de los sólidos sedimentables de las aguas residuales por acción de la gravedad.
- **Flotación (por aire disuelto).** El objetivo de la flotación por aire disuelto es la reducción de materia flotante y la reducción de sólidos sedimentables.
- **Proceso mixto (decantación-flotación).** Tiene como objetivo la formación de una partícula estable entre los sólidos sedimentables y las burbujas de aire, eliminando materia flotante y materia sedimentable.
- **Floculación-coagulación.** Tiene por objetivo la remoción de sólidos en suspensión, partículas coloidales y sustancias disueltas por la acción de adición de sustancias floculantes, éstas aglutinan la materia coloidal hasta la precipitación facilitando la eliminación por decantación.<sup>14</sup>

### 3.2.1.3 Tratamiento secundario

El objetivo de este tratamiento es remover la demanda biológica de oxígeno (DBO) soluble que escapa a un tratamiento primario, además de remover cantidades adicionales de sólidos sedimentables.

El tratamiento secundario intenta reproducir los fenómenos naturales de estabilización de la materia orgánica que ocurre en el cuerpo receptor, facilitando la descomposición de los contaminantes orgánicos en períodos cortos de tiempo. Un tratamiento secundario remueve aproximadamente 85% de la DBO y los sólidos sedimentables, aunque no remueve cantidades significativas de nitrógeno, fósforo, metales pesados, demanda química de oxígeno (DQO) y bacterias patógenas.

Las aguas residuales que fluyen del sedimentador primario, reciben un tratamiento posterior consistente en una digestión biológica de la materia orgánica, en condiciones aeróbicas.

Existen tres tipos generales de digestores biológicos:

- **Lodos activados.** Es un tratamiento biológico en el cual una mezcla de agua residual y lodos biológicos es agitada y aireada. Los lodos biológicos producidos son separados y un porcentaje de ellos devueltos al tanque de aireación en la cantidad que sea necesaria. En este sistema las bacterias utilizan el oxígeno suministrado artificialmente para desdoblar los compuestos orgánicos que a su vez son utilizados para su crecimiento.
  
- **Biodiscos.** Es tan eficaz como los lodos activados, requiere un espacio mucho menor, es fácil de operar y tiene un consumo energético inferior. Está formado por una estructura plástica de diseño especial, dispuesto alrededor de un eje horizontal. Según la aplicación puede estar sumergido de un 40 a un 90% en el agua a tratar, sobre el material plástico se desarrolla una película de



microorganismos, cuyo espesor se autorregula por el rozamiento con el agua, en la parte menos sumergida, el contacto periódico con el aire exterior es suficiente para aportar el oxígeno necesario para la actividad celular.

- **Lagunaje.** El tratamiento se puede realizar en grandes lagunas con largos tiempos de retención (1/3 días) que les hace prácticamente insensibles a las variaciones de carga, pero que requieren terrenos muy extensos. La agitación debe ser suficiente para mantener los lodos en suspensión excepto en la zona más inmediata a la salida del efluente.
- **Filtro biológico.** Está formado por un reactor, en el cual se ha situado un material de relleno sobre el cual crece una película de microorganismos aeróbicos.<sup>15</sup>

#### 3.2.1.4 Tratamiento terciario

Tiene como objetivo remover contaminantes específicos (nitrógeno y fósforo), usualmente tóxicos, compuestos no biodegradables o la remoción complementaria de contaminantes no removidos parcialmente en el tratamiento secundario.

Como medio de filtración se puede emplear arena, grava antracita o una combinación de ellas. El pulido de efluentes de tratamiento biológico se suele hacer con capas de granulometría creciente, duales o multimedia, filtrando en arena fina trabajando en superficie. Los filtros de arena fina son preferibles cuando hay que filtrar flóculos formados químicamente y aunque su ciclo sea más corto pueden limpiarse con menos agua.

#### 3.2.1.5 Tratamientos avanzados

Los efluentes de agua con tratamientos terciarios contienen un valor residual de DBO, un tratamiento avanzado reduce el valor de DBO a cero. Los procesos empleados frecuentemente son:

- **Carbón activado.** Para la remoción por adsorción de compuestos orgánicos y compuesto tóxicos.
- **Microfiltración, ultrafiltración y nanofiltración.** Para la remoción de sólidos de tamaño muy fino (partículas coloidales, iones y moléculas) que causan turbidez disminuyendo la calidad del agua.
- **Ósmosis inversa.** Para remover partículas, iones y moléculas que contaminan el agua, para darle una máxima pureza al agua.
- **Ozonización.** Oxidante que causa la oxidación de ciertos compuesto que precipitan como hidróxidos, descomposición de moléculas complejas en especies químicas menos indeseables.
- **Precipitación con cal.** Precipita ciertos compuestos en forma de hidróxidos, fierro, magnesio y fósforo que causan problemas al medio ambiente.
- **Resinas aniónicas y catiónicas.** Para remover calcio, magnesio, cloruros y sulfatos.
- **Electrodialisis.** Para disminuir los sólidos disueltos (partículas con carga parcial), su desventaja se encuentra en los compuestos orgánicos sin carga.<sup>16</sup>

### 3.2.1.6 Proceso de cloración

La cloración es un proceso muy usado en el tratamiento de aguas residuales industriales y urbanas. Los objetivos principales de la cloración son:

- **Desinfección.** Fundamentalmente el cloro es un desinfectante debido a su fuerte capacidad de oxidación, por lo que destruye o inhibe el crecimiento de bacterias y algas.

- **Reducción de la DBO.** El cloro produce una reducción de la DBO por oxidación de los compuestos orgánicos presentes en las aguas residuales.
- **Eliminación o reducción de olores y colores.** Las sustancias que producen olores y colores presentes en las aguas residuales se oxidan mediante el cloro.
- **Oxidación de iones metálicos y cianuros a productos inocuos.** El cloro oxida a los iones que se encuentran presentes en forma reducida (compuestos con fierro y manganeso).<sup>16</sup>

Si bien el proceso de depuración de aguas residuales tiene un producto principal (agua depurada), también genera subproductos como son los lodos residuales ricos en materia orgánica biodegradable (con un contenido de humedad superior al 95%).

### 3.2.1.7 Lodos residuales

Los lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales se clasifican dependiendo de los metales y de la carga microbiana (coliformes fecales, patógenos y parásitos) que contengan en tres clases: A (excelente, para usos urbanos con contacto público directo durante su aplicación), B (excelente o bueno, para usos urbanos sin contacto durante su aplicación) y C (excelente o bueno, para usos forestales, agrícolas y de mejoramientos de suelos).<sup>17</sup>

Hasta ahora solo se ha tratado el tema de contaminantes regulados en efluentes de aguas provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales y los diferentes procesos que conllevan su incorporación a los mantos acuíferos, su empleo en la agricultura y en el llenado de lagos recreativos, así como la incorporación de los lodos residuales en rellenos sanitarios y como abono en la agricultura.

Existen una serie de compuestos que no son eliminados por los tratamientos convencionales de plantas de tratamiento de aguas residuales, no están suficientemente investigados y cuya

regulación es poco satisfactoria o nula. Estos contaminantes (“emergentes”) se acumulan constantemente en el medio ambiente, suponiendo un impacto ambiental y su posible incorporación a la cadena alimenticia humana.

### **3.3 Contaminantes emergentes.**

Durante décadas, la comunidad científica ha centrado sus esfuerzos en el estudio de los contaminantes químicos cuya presencia en el medio ambiente ha estado o está regulada en las distintas legislaciones, contaminantes en su mayoría apolares, tóxicos, persistentes y bioacumulables, como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, los policlorobifenilos (PCBs) o las dioxinas. Sin embargo, en los últimos años, el desarrollo de nuevos y más sensibles métodos de análisis ha permitido alertar de la presencia de otros contaminantes, potencialmente peligrosos, denominados globalmente como emergentes.

El estudio de los contaminantes emergentes, se encuentra entre las líneas de investigación prioritarias de los principales organismos dedicados a la protección de la salud pública y medioambiental, tales como la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Agencia para la Protección del Medio Ambiente (EPA), o la Comisión Europea,

Los contaminantes emergentes se definen como contaminantes previamente desconocidos o no reconocidos como tales cuya presencia en el medio ambiente no es necesariamente nueva pero si la preocupación por las posibles consecuencias de la misma.<sup>18</sup>

En este trabajo se define a los contaminantes emergentes como compuestos de origen antropogénico y xenobiótico productos de la actividad humana.

Los contaminantes emergentes son compuestos de los cuales se sabe relativamente poco o nada acerca de su presencia e impacto en el medio ambiente, razón por la cual no han sido regulados y la disponibilidad de métodos para su análisis es limitada o nula.

La elevada producción y consumo de estos compuestos debido a la actividad humana permite la introducción de los mismos en el medio ambiente, no necesitan ser persistentes para ocasionar efectos negativos.<sup>19</sup>

A partir de 1970, una serie de directivas comunitarias de medio ambiente ha mejorado de manera significativa la calidad de las aguas superficiales en Europa. La estrategia clave adoptada, en el área de la contaminación química, fue la Decisión 2455/2001/CE, que estableció una lista de 33 sustancias o grupos de sustancias de interés prioritario debido a su uso persistencia, toxicidad, bioacumulación y la detección en los ríos, lagos, aguas costeras y de transición.

Recientemente la Directiva 2008/105/CE logró un nuevo paso en el progreso de la regulación, estableciendo por primera vez, las normas de calidad (NCA) para las sustancias prioritarias y otros contaminantes de interés, para garantizar una protección adecuada del medio ambiente acuático y la salud humana.

Entre los objetivos, otros productos químicos de creciente interés están siendo incluidos en un proceso de revisión para su identificación como posibles "sustancias prioritarias" o "sustancias peligrosas" debido a su riesgo potencial. De hecho, 13 nuevas sustancias se encuentran bajo un proceso de revisión (Resolución del Parlamento Europeo Legislativa, 2008), 7 son los productos farmacéuticos y 6 son productos de cuidado personal.<sup>19</sup>

### **3.3.1 Productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCP's)<sup>18</sup>**

La industria farmacéutica en México ocupa el lugar 15 a nivel mundial y es el segundo lugar en Latinoamérica en consumo de fármacos. La producción en territorio nacional se destina al consumo interno y sólo el 14 % se exporta.<sup>20</sup>

La industria farmacéutica mundial elevará su producción para el 2015, más de la mitad provendrán de los mercados llamados farmaemergentes (China, Rusia, Brasil, México, Venezuela, Argentina, Corea, etcétera). Para decirlo en otras palabras, en este planeta

seguiremos elevando el gasto en medicamentos y en ese gasto participan cada vez más las economías en desarrollo y las más industrializadas lo estabilizan<sup>21</sup>.

Por otra parte, la principal vía de incorporación de antibióticos y productos farmacéuticos al medio ambiente es a través de las plantas de tratamiento de aguas residuales (provenientes de la excreción de medicamentos no metabolizados y de medicamentos caducados).

Los antibióticos se han detectado en efluentes de aguas residuales tratadas, suelo, agua de río y lodos residuales. Los estudios sobre el destino de los antibióticos y productos farmacéuticos están principalmente motivados por la posible resistencia de bacterias patógenas a los antibióticos presentes en el medio ambiente, por las consecuencias ecológicas y la posible entrada de los productos farmacéuticos en la cadena alimentaria humana.

Las propiedades químicas de los antibióticos y productos farmacéuticos influyen en el comportamiento que tienen a través del tratamiento de aguas residuales, la movilidad, la persistencia y biodisponibilidad en el suelo.

La persistencia medioambiental de antibióticos en suelo está estrechamente ligada a la biodisponibilidad que tienen los microorganismos para la biodegradación. En ambientes acuáticos la degradación se produce en cuestión de días, mientras que la degradación en lodos residuales tarda más de 21 meses. Esto puede ser explicado por la disminución en la biodisponibilidad de los antibióticos causada por la sorción que existe por parte de los lodos residuales.<sup>21</sup>

Experimentos de absorción de plantas en invernaderos han demostrado que ciertos compuestos, como la carbamazepina y sulfametazina, pueden ser trasladadas desde la matriz del suelo hasta los componentes aéreos de las plantas.<sup>22</sup> Sin embargo, el riesgo de exposición de las personas a través de esta vía es considerado bajo y es improbable que supere la ingesta diaria admisible.<sup>23</sup>

El triclosán es un agente antimicrobiano utilizados en productos de cuidado personal tales como champús, jabones, desodorantes, cosméticos, cremas y lociones para el cuidado de la piel, enjuagues bucales y pasta de dientes. Estas aplicaciones domésticas son la principal fuente para los efluentes de tratamiento de aguas residuales.<sup>24</sup> El triclosán es liberado al medio ambiente en los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales y en los lodos residuales. Se ha detectado en aguas superficiales lo que indica la persistencia ambiental.<sup>25</sup>

El principal problema derivado de la liberación de triclosán al medio ambiente es la bioacumulación en algas y caracoles<sup>26</sup>, la inhibición del crecimiento en algas y las alteraciones endócrinas.<sup>27</sup>

El triclosán fue identificado en lodos residuales usados como suelo agrícola, contribuyendo a la bioacumulación de éste en el tejido de lombriz.<sup>28</sup> Estudios recientes han detectado el movimiento de varios de los productos farmacéuticos y de higiene personal de los lodos residuales empleados como suelo en la agricultura a las aguas superficiales.<sup>29</sup>

### **3.3.2 Efecto de los contaminantes**

Algunos contaminantes emergentes presentan efectos significativos alterando al sistema endocrino y bloqueando o perturbando las funciones hormonales, afectan la salud de especies animales aun cuando se encuentran en bajas concentraciones. Para el caso del compuesto bisfenol A el cual es utilizado en la fabricación de resinas epóxicas y plásticos policarbonatos (para empaques de alimentos y agua) ha manifestado efectos estrogénicos en ratas y hormonales que aumentan el riesgo de cáncer de mama en humanos<sup>30,31</sup>, además se ha reportado que actúa como un antiandrógeno causando efectos secundarios feminizadores en hombres<sup>32</sup>. Los ftalatos o ésteres de ftalato utilizados como plastificantes en plásticos como PVC, han provocado complicaciones en embarazos<sup>33</sup>.

De igual manera se ha reportado que el diclofenaco afecta a los tejidos de las branquias y de riñones en peces de agua dulce, lo que sugiere un posible riesgo para este tipo de poblaciones<sup>34</sup>.

Asimismo pesticidas como Dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) ha causado efectos hormonales provocando adelgazamiento en la cáscara de huevo de diferentes especies. Otro pesticida como el Penconazol es un fungicida que puede afectar la tiroides, próstata y tamaño de testículos<sup>35</sup>.

También la exposición a compuestos organoclorados como DDT y bifenilos policlorados (PCBs) ha impactado en la reproducción y la función inmune de focas causando disminución de la población<sup>36</sup>. Aunque estos contaminantes los encontramos en muy bajas concentraciones sus efectos son significativos, por lo que es necesario implementar adecuados diseños de tratamientos de aguas para su eficiente remoción y desarrollar nuevos métodos de identificación.<sup>37</sup>

### **3.4 Zona de muestreo de matrices vegetales en la Ciudad de México**

La planta de tratamiento de aguas residuales del cerro de la estrella comenzó su operación en 1971, produciendo inicialmente un caudal de 2 mil L/s. Desde 1994 su capacidad ha aumentado hasta 4 mil L/s de agua.

En un principio esta producción se usaba para riego agrícola en Tláhuac y Xochimilco, así como en canales de la zona turística. Este caudal está distribuido de la siguiente manera: el 56% se emplea para el llenado de los canales, lagos recreativos y riego agrícola en la zona chinampera de Mixquic, Tláhuac y Xochimilco, 25% para la recarga del acuífero, 8% en el riego de áreas verdes, 8% en el sector industrial y 3% se emplea en el sector comercial, en el lavado de trenes del STC-Metro y autos.<sup>38</sup>

Se han reportado contaminantes emergentes en efluentes de la planta de tratamiento de aguas residuales del Cerro de la Estrella en mayor concentración ibuprofeno naproxeno y triclosán y en menor concentración clorofeno y bisfenol A.<sup>39</sup>



### 3.4.1 Producción de vegetales en Xochimilco

El sistema económico de Xochimilco comprende principalmente la agricultura chinampera, la floricultura, el turismo y el comercio.<sup>40</sup> La principal producción de vegetales en Xochimilco se presenta en la Tabla 4. Para la producción agrícola en las chinampas se utiliza agua extraída directamente de los canales, la cual es mezcla de agua de lluvia (pluvial), negra o residual y tratada.<sup>41</sup>

**Tabla 4.** Producción principal de vegetales en la zona chinampera de Xochimilco<sup>41</sup>

Brócoli	Zanahoria	Apio	Cebolla
Jitomate	Champiñones	Papa	Elote
Cilantro	Acelgas	Lechuga (orejona)	Manzanilla
Ejote	Chayote	Aguacate	Cebolla (cambray)
Epazote	Haba fresca	Betabel	Setas
Lechuga (sangría)	Coliflor	Flor de calabaza	Chile de árbol
Nopal	Lechuga (italiana)	Frijol	
Espinaca	Perejil	Calabaza (bola)	

### 3.5 Análisis de contaminantes prioritarios

Debido a los niveles de trazas que se encuentran algunos contaminantes como son los plaguicidas en alimentos, la directiva de la Unión Europea (UE) ha establecido los límites máximos residuales (LMR) de diferentes plaguicidas para cada grupo de alimentos. Por lo general, los LMR se encuentran en un intervalo de 0.01 a 3 mg/kg (dependiendo del alimento y el pesticida). Para las frutas y hortalizas destinadas a la producción de alimentos para bebé, se establecen los LMR menores de 0.01 mg/kg (para todos los plaguicidas).

También se ha reportado el uso de la cromatografía de gases acoplada al espectrómetro de masas con un analizador másico de tiempo de vuelo (TOF, por sus siglas en inglés) para la identificación inequívoca de contaminantes y medicamentos veterinarios en la carne.<sup>42</sup>

A pesar de la escasa bibliografía disponible sobre la determinación de PPCP's (principalmente triclosán) en productos alimenticios, varios estudios han determinado, en otras matrices estas sustancias por cromatografía de líquidos (HPLC-UV) y por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS). Las matrices estudiadas van desde muestras ambientales (principalmente aguas residuales) hasta muestras biológicas (muestras de orina). También, se han encontrado contaminantes prioritarios principalmente PAH's.<sup>43,44,45,46,47</sup>

Por otra parte, la determinación de compuestos orgánicos en alimentos, medio ambiente, matrices biológicas y matrices acuosas requieren de una etapa de pre-concentración antes de la separación y detección. Esto es debido a la complejidad y efectos que presentan estas matrices.

Históricamente, la etapa de preparación de la muestra ha sido considerado el paso más contaminante del procedimiento analítico completo. Sin embargo, desde la aceptación de la química verde en los laboratorios de análisis de química analítica, las técnicas de preparación muestra minimizan el consumo de disolvente, tal como en microextracción en fase sólida (SPME), extracción con barra magnética (SBSE), microextracción de gota (SDME), microextracción en fase líquida (LPME), extracción de disolventes asistida por membrana (MASE), extracción líquido-líquido con membrana microporosa (MMLLE), etc.

Estas técnicas de preparación de muestra han sustituido a técnicas con alto consumo de disolvente como son: extracción líquido-líquido (LLE) o con menor consumo de disolvente la extracción en fase sólida (SPE).<sup>48</sup>

Estas nuevas técnicas además de miniaturizar la preparación de la muestra y reducir el consumo de disolventes orgánicos, aumentan la sensibilidad del método reduciendo la pérdida del analito y la cantidad de muestra necesaria para el análisis.

Por otra parte, las técnicas de preparación de muestra para el análisis de PPCP's son muy variadas y depende de la matriz en donde se encuentren. En este trabajo solo se mencionará la extracción con barra magnética (SBSE, por sus siglas en ingles) en alimentos. Debido a la poca información sobre el tema de PPCP's en vegetales, en la Tabla 5 se presentan diversos analitos y la matriz de estudio con la técnica de preparación de muestra SBSE.

**Tabla 5.** Principales analitos estudiados en diversos alimentos por la técnica SBSE

<b>Analito</b>	<b>Matriz</b>	<b>Referencia</b>
Compuestos aromáticos	Café, té, vino y sake	49, 50, 51, 52
Compuesto químicos del tabaco	Tabaco	53
Cloroanisoles y clorofenoles	Maíz	54
Fungicidas	Vino y uvas	55, 56
Aceite esencial	Plantas y uvas	57, 58
Compuestos del sabor	Whisky y vinagre	59, 60
Monoterpenos	Uvas	61, 62
Pesticidas	Frutas, vegetales, cerezas, tabaco y naranja	63, 64, 65, 66
Pesticidas organofosforados	Miel	67
PAH's	Vino y té	68, 69
Compuestos del sabor	Cerveza	70
VOC's	Uvas, hongos y vinagre	71, 72, 73

### 3. 6 Extracción con barra magnética (SBSE).<sup>1</sup>

La extracción con barra magnética (SBSE, por sus siglas en inglés) es una técnica de preparación de muestra que consiste en una barra magnética recubierta de una fase polimérica donde los componentes de una muestra acuosa se distribuyen mediante equilibrios de sorción entre la fase polimérica y el medio acuoso.

Existen dos presentaciones comerciales de la barra magnética: La barra magnética con PDMS como fase polimérica para analitos no polares y la barra magnética con PDMS/Etilenglicol para analitos de polaridad media-alta.



**Figura 1.** Presentación de las barras comerciales Twister

Esta técnica fue introducida por el grupo del Dr. Pat Sandra para superar algunas de las limitantes de la microextracción en fase sólida (SPME, por sus siglas en inglés) como son: la recuperación de los analitos de volatilidad media-alta y mejorar la recuperación en el análisis de ultratrazas, incrementando la fase polimérica de la barra de 50-250 veces en comparación con la fase polimérica de la SPME.

La eficiencia de la extracción con barra magnética depende de la naturaleza química de los analitos y de las condiciones hidrodinámicas. Este proceso es cinético y varía hasta alcanzar un estado de equilibrio, donde la eficiencia de la extracción se rige por la distribución o coeficiente de distribución entre ambas fases ( $K_{PDMS,w}$ ) y sus respectivos volúmenes.



$$K_{PDMS,a} = \frac{C_{PDMS}}{C_a} \quad (1)$$

Donde:

$K_{PDMS,a}$  = coeficiente de distribución del analito entre la fase polimérica y la fase acuosa

$C_{PDMS}$  = concentración del analito en la fase polimérica de la barra magnética

$C_a$  = concentración del analito en la fase acuosa

Cuando se alcanza el equilibrio, el rendimiento de la extracción se puede estimar a partir del balance de masas y el coeficiente de distribución.

$$m_{a,0} = m_{PDMS} + m_a \quad (2)$$

$$K_{PDMS,a} = \frac{C_{PDMS}}{C_a} = \frac{m_{PDMS}}{m_a} \times \frac{V_a}{V_{PDMS}} = \frac{m_{PDMS}}{m_a} \times \beta \quad (3)$$

Donde:

$m_{a,0}$  = masa inicial del analito en la fase acuosa

$m_{PDMS}$  = masa del analito en la barra magnética

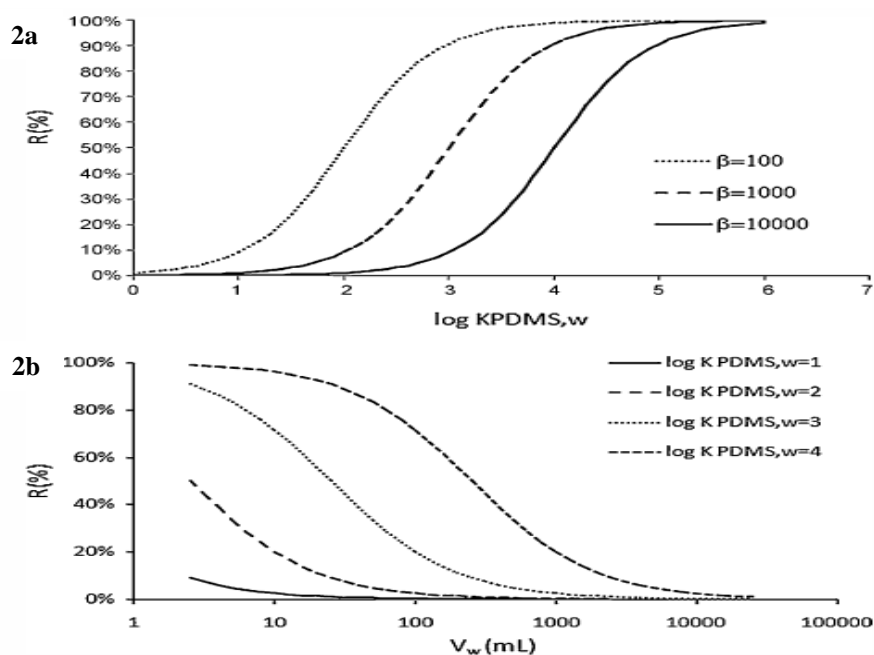
$K_{PDMS,a}$  = coeficiente de distribución

$\beta = \frac{V_a}{V_{PDMS}}$  = relación de volúmenes

Combinando las ecuaciones (2) y (3), se obtiene la ecuación (4) que relaciona los coeficientes de distribución y la relación de volúmenes con el recobro teórico porcentual (R%).

$$R = \frac{m_{PDMS}}{m_{a,0}} = \frac{K_{PDMS,a}}{K_{PDMS} + \beta} \quad (4)$$

En la figura 2a y 2b se observan recuperaciones mayores cuando las relaciones de fase son menores, esto indica una mayor extracción de compuestos no polares. En comparación con la SPME, el volumen de la fibra es generalmente de  $0.5 \mu\text{L}$  y de la barra magnética es de  $24 \mu\text{L}$  (la más pequeña). Comúnmente se emplea un volumen en extracción de  $10 \text{ mL}$ , esto significa una relación de fases que oscila entre 400 para SBSE y 20,000 para SPME. Esto indica una mayor recuperación en la técnica SBSE en comparación con la SPME.



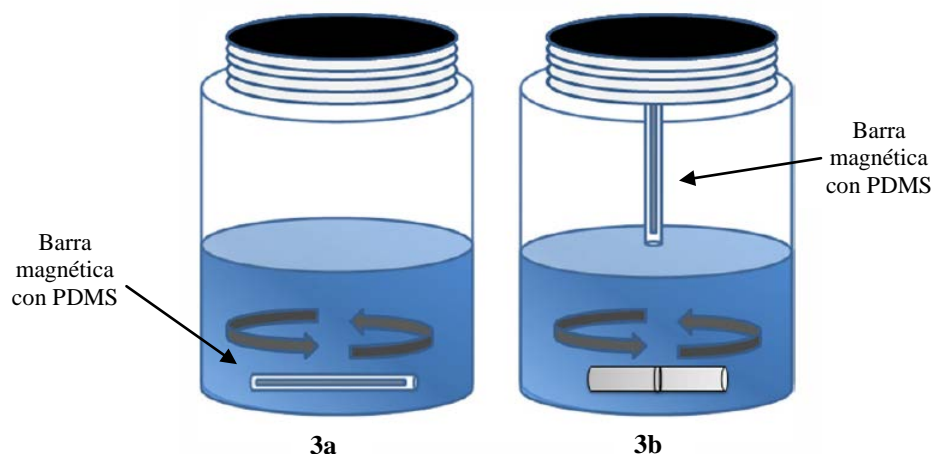
**Figura 2.** Recobro teórico porcentual versus  $\log K_{PDMS,w}$  en un volumen de fase acuosa (2a) y un volumen de fase PDMS de  $24 \mu\text{L}$  y una concentración inicial de analito en la fase acuosa de  $1 \text{ ng/mL}$  (2b).

### 3.6.1 Extracción y desorción en la técnica SBSE

La técnica de preparación de muestra denominada SBSE (extracción por sorción con barra magnética) consta de dos pasos principales: la extracción y la desorción. Estos pasos se describen a continuación.

### 3.6.1.1 Extracción

En la extracción el polímero que recubre la barra magnética entra en contacto con los analitos por inmersión (figura 3a) o por espacio de cabeza (figura 3b).



**Figura 3.** Modos de extracción en SBSE: Inmersión (a) y espacio de cabeza (b).

En el modo de inmersión (SBSE) la barra magnética se introduce en un vial que contiene la muestra líquida y se agita bajo condiciones físicas y químicas controladas. Después de la extracción, la barra magnética se retira y se limpia con agua destilada para eliminar componentes de la muestra. Posteriormente se seca con un pañuelo (libre de pelusa) para someterlo a desorción. La etapa de limpieza es extremadamente importante cuando los analitos son desorbidos térmicamente a fin de evitar la formación de material no volátil que pueda obstruir el sistema de desorción.

El uso de la técnica SBSE en fase de vapor se conoce como extracción de solvente en espacio de cabeza (HSSE). En HSSE, la extracción se realiza suspendiendo la barra magnética en un vial dejando un espacio de cabeza entre la barra magnética y la matriz líquida o sólida.

En la extracción por espacio de cabeza (HSSE) se incrementa la vida útil de la barra magnética, aunque existen pocos reportes en la literatura empleando este tipo de extracción.

### **3.6.1.2 Desorción**

La etapa de extracción va seguida de una desorción térmica o una desorción líquida antes de la separación cromatográfica o electroforética y detección.

#### **3.6.1.2.1 Desorción térmica**

La mayoría de las aplicaciones de la técnica SBSE implican el uso de desorción térmica (TD, Thermal Desorption por sus siglas en inglés) seguido de CG para recuperar los analitos acumulados en el polímero que recubre la barra magnética, lo que implica la ausencia del uso de disolventes orgánicos y permite la introducción completa de analitos extraídos en el sistema cromatográfico. La TD se realiza a temperaturas entre 150-300 °C.

La desorción térmica requiere el uso de una unidad costosa acoplada al cromatógrafo de gases denominada TDU (unidad de desorción térmica). La TDU se compone de dos vaporizadores de temperatura programable (PTVs). El primer PTV se calienta para desorber los analitos que se encuentran en el polímero que recubre la barra magnética y el segundo PTV se conserva frío (temperaturas entre -150 y 40 °C) con el fin de crioenfocar los analitos desorbidos antes de entrar en el CG. El crioenfoco garantiza la transferencia cuantitativa de los analitos previamente atrapado, en la barra magnética a la columna cromatográfica (con considerable aumento de la sensibilidad) y minimiza la anchura del pico cromatográfico. La desorción térmica solo se emplea para analitos térmicamente estable, volátiles y de volatilidad media alta.

#### **3.6.1.2.2 Desorción líquida**

La desorción líquida (LD, Liquid Desorption por sus siglas en inglés) es una alternativa a la desorción térmica cuando se analizan analitos termolábiles o cuando no se cuenta con la unidad de desorción térmica (TDU).



La desorción líquida consiste en sumergir la barra magnética en el disolvente o mezcla de disolvente controlando los factores físicos y químicos que están involucrados. El mínimo volumen de disolvente de desorción debe garantizar la completa inmersión de la barra magnética. Comúnmente se emplea Acetonitrilo (ACN), metanol (MeOH), mezclas de estos disolventes, mezclas con agua o tampones acuosos como disolventes de desorción.

La recuperación de los analitos durante la desorción líquida está fuertemente determinada por la  $K_{o,w}$  (coeficiente de reparto octanol-agua), principalmente se emplean disolvente polares. La desorción líquida se favorece con el incremento de la velocidad de agitación y aumento de la temperatura.

### **3.6.2 Factores que afectan la extracción con SBSE**

En cuanto a la etapa de extracción, las variables más estudiadas son: tiempo de extracción, pH, la adición de una sal inerte (fuerza iónica), adición de un modificador orgánico, la velocidad de agitación seguido de la temperatura de extracción y volumen de la muestra.

Algunas de estas variables como el pH o la fuerza iónica (adición de una sal inerte) modifican las características de los analitos y afectan el equilibrio, otro grupo de variables aceleran el proceso de extracción afectando la cinética, como la velocidad de agitación.

#### **3.6.2.1 pH.**

El pH de la muestra es una variable importante durante la extracción por SBSE para analitos con propiedades ácido-base, el pH se ajusta con el fin de obtener analitos parcial o totalmente en forma molecular y así asegurar la migración de los analitos desde el medio de extracción hasta la fase polimérica de la barra.

La máxima eficiencia de extracción se da con analitos en forma molecular, para evitar la degradación del PDMS se recomienda trabajar a pH mayores a 2 y menores a 9.

### 3.6.2.2 Fuerza iónica.

La adición de sales inertes (como el cloruro de sodio) tiene como objetivo modificar la fuerza iónica de la muestra. Se ha observado para analitos hidrófobos ( $\text{Log } K_{o,w} > 3,5$ ) que la adición de una sal inerte no mejora la eficiencia de la extracción, para analitos polares la respuesta aumenta con la adición de sales inertes.

Para analitos no polares, la adición de sal provoca un "efecto aceite" que promueve el movimiento de compuestos no polares a la superficie del agua, minimizando la interacción con el PDMS de la barra magnética. También se puede explicar por el aumento de la viscosidad del medio de extracción, el cual disminuye la cinética de extracción de los compuestos. Algunos autores han explicado este hecho por la ocupación del área superficial del PDMS con los iones de sal, disminuyendo el área superficial disponible para interaccionar con los analitos.

En el caso de analitos polares, la adición de una sal inerte reduce la interacciones de solvatación entre las moléculas de agua del medio de extracción y los analitos, permitiendo la migración de éstos hacia el PDMS de la barra magnética.

### 3.6.2.3 Modificadores orgánicos.

La adición de modificadores orgánicos como el metanol o el acetonitrilo tiene como objetivo disminuir la pérdida de los analitos por las paredes del vidrio del material empleado. La adición de modificadores orgánicos puede aumentar la solubilidad de los solutos en la fase acuosa disminuyendo la eficiencia de la extracción.

Para compuestos con alto  $\text{Log } K_{o,w} (> 5,0)$ , el empleo de metanol evita la adsorción de los analitos en el vidrio del vial. Para los compuestos con menor  $\text{Log } K_{o,w} (< 2,5)$ , el metanol aumenta la solubilidad del compuesto en la solución,

#### **3.6.2.4 Temperatura de extracción.**

El tiempo de extracción es relativo, esta técnica no es exhaustiva y no requiere llegar al tiempo de equilibrio. El tiempo de extracción se selecciona dependiendo de las concentraciones a las cuales se está cuantificando.

El equilibrio en la extracción con barra magnética es exotérmico, un aumento en la temperatura de extracción favorece el equilibrio de desorción, disminuyendo la eficiencia de la extracción. Se ha reportado un incremento en la vida útil del PDMS en la barra magnética cuando se trabaja con temperaturas de extracción menores a 40 °C.

#### **3.6.2.5 Velocidad de agitación.**

La velocidad de agitación aumenta la eficiencia de la extracción, al aumentar la superficie de contacto entre los analitos de estudio y la fase polimérica de la barra magnética. Sin embargo, el aumento de la velocidad de agitación puede causar un daño físico al PDMS de la barra magnética, debido al contacto directo de la barra magnética con la parte inferior del vial que contiene al medio de extracción. Para evita daños físicos ocasionados por el desprendimiento de la fase polimérica que se encuentra en la barra magnética se recomienda trabajar a velocidades de agitación menores a 1200 rpm.

#### **3.6.3 Factores que afecta la desorción**

Los factores que afectan la desorción térmica son la temperatura y tiempo de desorción. La temperatura de desorción empleada normalmente es entre 150-300 °C, este intervalo de temperatura de trabajo incrementa la vida útil del PDMS en la barra magnética.

Los factores que afectan la desorción líquida son el tiempo de desorción, la temperatura de desorción y el disolvente empleado para la desorción.

El equilibrio de desorción es endotérmico, el incremento de la temperatura de desorción aumenta la eficiencia de la extracción. Se recomienda trabajar a temperaturas de desorción de 150 °C, para incrementar la vida útil de la barra magnética.

El tiempo y la temperatura de desorción deben garantizar la migración completa de los analitos que se encuentran en la fase polimérica de la barra magnética hacia el medio de desorción. El volumen de desorción debe cubrir la barra magnética para garantizar el contacto entre los analitos estudiados y la fase polimérica de la barra magnética.

#### **3.6.4 Limitaciones de la extracción con la técnica SBSE.**

Aunque la SBSE se aplica ampliamente en la alimentación, el medio ambiente, y análisis biomédicos, tiene también algunas limitaciones o inconvenientes. Uno de los inconvenientes está relacionado con el hecho de que la barra de agitación recubierta no puede ser desorbida directamente en el cromatógrafo de gases, se necesita adicionalmente un TDU o en caso contrario se adicionan pasos a la metodología si se realiza desorción líquida (aumentando el error). La automatización de estos pasos es posible, pero incrementa el costo de la extracción.

Sin embargo, las limitaciones más importantes de la SBSE están relacionadas con el revestimiento de la barra magnética. La fase polimérica PDMS y la PDMS-etilenglicol son las dos únicas disponibles en el mercado.

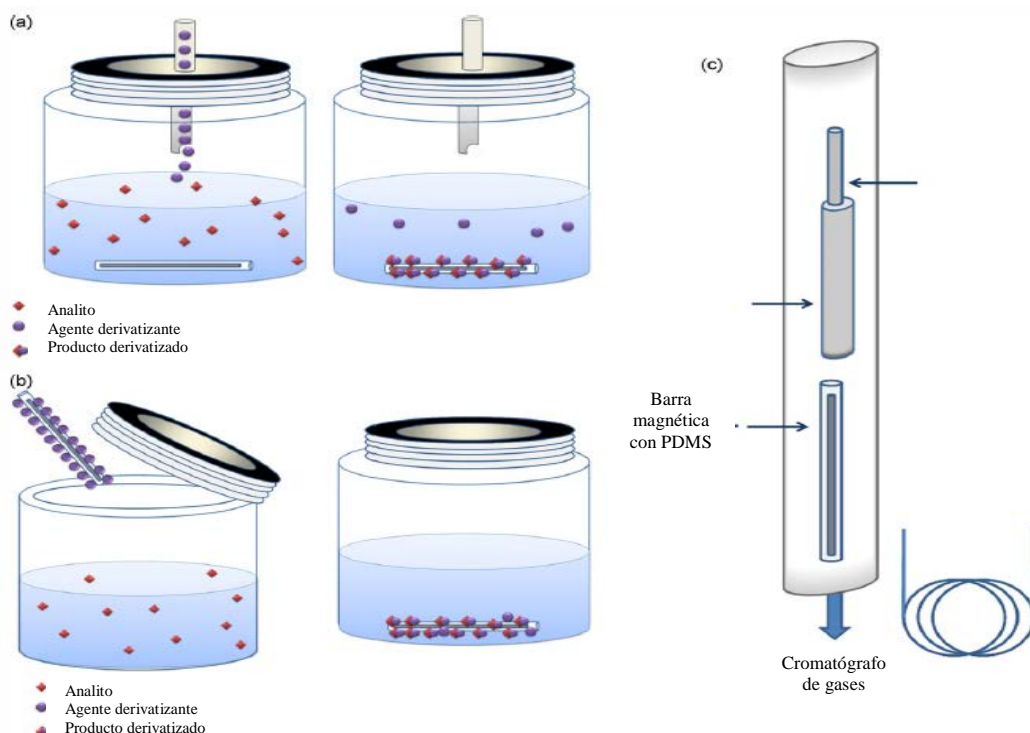
#### **3.6.4 Derivatización**

La derivatización de los compuestos polares y térmicamente lábiles es una de las alternativas más utilizadas para implementar la SBSE. Se puede realizar in-situ, en la barra magnética o post-extracción.

La derivatización in-situ es el método más sencillo, la derivación se produce en el medio de extracción (figura 4a). Así, los derivados deseados son formados primero y después se

extraen en la fase polimérica de la barra magnética. La principal limitación de la derivatización directa de la muestra es que no es aplicable a reacciones sensibles a la humedad.

La derivatización en la barra magnética puede llevarse a cabo mediante la precarga del agente derivatizante en la barra magnética (figura 4b). La última estrategia (post-extracción) se puede realizar tanto con desorción térmica como en desorción líquida. En el primer caso, un pequeño tubo de vidrio capilar que contiene el agente derivatizante se coloca con la barra magnética en la cámara de desorción (figura 4c). En el último caso, el reactivo derivatizante se añade después de la desorción líquida.



**Figura 4.** Diferentes modos de derivatización en SBSE: in situ (a), en la barra magnética, con el reactivo de derivatización precargado antes de la exposición a la muestra (b) y derivatización en la unidad de desorción(c).

El método de derivatización, depende de las propiedades del analito y de las propiedades del agente derivatizante. Tanto la acilación in situ (normalmente acetilación) y sililación en tubo son las técnicas de derivatización más ampliamente utilizados.

### 3.7 Cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM)

La CG-EM es la técnica ampliamente utilizada para el análisis de mezclas complejas. La separación cromatográfica se basa en la distribución de los analitos entre la fase estacionaria y la fase móvil, esta separación se lleva a cabo por sorción y depende de la afinidad de los analitos por la fase estacionaria y su presión de vapor. La identificación se lleva a cabo en el espectro de masas, que proporciona información sobre la identidad de los analitos estudiados en un espectro de masas.

La CG está limitada a muestras volátiles y termoestables, es decir, para analitos térmicamente estables con relativo peso molecular bajo. Para analitos de baja volatilidad se realiza una derivatización para aumentar su volatilidad.

La espectrometría de masas es utilizada para la confirmación de la identidad del pico cromatográfico, la información adquirida en el cromatógrafo de gases no es suficiente para determinar la identidad de los analitos estudiados.

El equipo de CG-EM consta de un cromatógrafo de gases con un inyector split/splitless, una columna capilar, una cámara de ionización y un analizador másico.

La muestra de interés se introduce en el inyector del sistema cromatográfico acoplado al espectrómetro de masas, el efluente que sale de la columna capilar es ionizado y fragmentado por un bombardeo de electrones en la cámara de ionización (70 eV), los iones son acelerados y dirigidos hacia el analizador másico en donde son separados en función de su relación  $m/z$ .

Para los sistemas acoplados se cuenta con diferentes modos de ionización y modos de análisis: barrido total de iones (SCAN, por sus siglas en ingles) y por monitoreo selectivo de iones (SIM, por sus siglas en ingles). La selectividad y sensibilidad se pueden mejorar a través del uso de técnicas de ionización química y técnicas de monitoreo de iones.<sup>74</sup> Por otra parte, el perfil de iones obtenido en un espectro de masas es el resultado de la fragmentación de cada analito, esta fragmentación es única para cada analito lo que indica información inequívoca de su identidad.

La identificación de los compuestos se realiza usualmente, comparando el tiempo de retención y el patrón de fragmentación de cada analito estudiado con el tiempo de retención y patrón de fragmentación de su estándar. La cuantificación se realiza comúnmente relacionando la respuesta del ión seleccionado de la muestra con la del estándar con concentración conocida.<sup>75</sup>

## **4. Objetivos.**

### **4.1. Objetivo general**

Desarrollar un método para la determinación de ibuprofeno, naproxeno y triclosán en matrices vegetales empleando extracción con barra magnética (SBSE) seguido de CG-EM.

### **4.2. Objetivo específico**

Aplicar el método desarrollado para la determinación de ibuprofeno, naproxeno y triclosán en lechuga, cilantro, perejil, espinacas y epazote, que hay indicios que fueron regados con aguas provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales.



## 5. Desarrollo experimental

### 5.1 Materiales

Barra Gerstel-Twister (Etilenglicol/PDMS) con volumen de fase de 32  $\mu$ L; Jeringas Hamilton de 10, 100 y 250  $\mu$ L; material de vidrio Pyrex: matraces aforados de 1, 5, 10, 25 y 50 mL; pipetas volumétricas 1, 5 y 10 mL; vasos de precipitados de 5 y 10 mL; viales de vidrio con tapón de rosca de 4 y 14 mL y pipetas pasteur.

### 5.2 Reactivos y soluciones estándar

Todos los reactivos fueron de grado analítico, el metanol (CAS 67-56-1, 99.9% de pureza) fue adquirido de J.T. Baker, USA. Y la acetona (CAS 67-64-1, 99% de pureza) de Distribuidora Química ALVI. Ibuprofeno (CAS 2204-53-1, 99% de pureza) y Naproxeno (CAS 51146-56-6, 98% de pureza) fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Triclosán (CAS 28064-14-4, > 97% de pureza) fue adquirido de Fluka, Italia.

Se prepararon tres soluciones stock (ibuprofeno, naproxeno y triclosán) con una concentración cada una de 200  $\mu$ g/mL en metanol y se guardaron en el refrigerador a una temperatura de 4°C aproximadamente, para su posterior uso.

### 5.3 Equipos y condiciones cromatográficas

El análisis de ibuprofeno, naproxeno y triclosán se realizó en un cromatógrafo de gases Agilent serie 6890N equipado con un detector selectivo de masas Agilent 5973 network. Se utilizó una columna capilar de sílice fundida Quadrex-5 (30mx0.25mmx0.25 $\mu$ m) y un inyector en modo splitless (1min). Programa de temperatura: temperatura inicial 70°C durante 1 minuto, después se incrementó a 10°C/min hasta 250°C y posteriormente 5°C/min a 300°C, manteniéndose así durante 10 minutos. Para la optimización de los parámetros evaluados (pH, modificador orgánico, tiempo de extracción, tiempo de desorción, temperatura de desorción y fuerza iónica) se ocupó el detector selectivo de masas en modo SCAN (barrido total de iones) y la determinación de los límites de detección se realizó en modo SIM. La identificación de los analitos en las muestras reales

se realizó en modo de monitoreo selectivo de iones (SIM). El software de adquisición de datos fue MSD Chemstation versión D.00.00.

El gas acarreador fue Helio a un flujo constante de 1mL/min. La temperatura de la fuente de ionización fue 230°C con energía de 70eV, la temperatura del cuadrupolo 150°C y la línea de transferencia 280°C. Se utilizó monitoreo selectivo de iones (SIM) para el análisis cuantitativo y para el análisis por SCAN se realizó un barrido de 50 a 500 m/z.

#### **5.4 Otros equipos**

Liofilizadora Heto Drywinner DW 1.0-110.

Baño ultrasónico Branson Instruments D-50.

Baño de agua Thermo Scientific serie 280.

Parrilla con agitador magnético Cole-Palmer modelo 04644-Series.

#### **5.5 Muestras**

Los vegetales de hoja verde (lechuga, cilantro, perejil, epazote y espinacas) fueron adquiridos en la cercanía del mercado principal de vegetales del centro de Xochimilco en la Ciudad de México. Estas muestras, se tienen indicios que son cultivadas en Xochimilco y que fueron regadas con efluentes provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales del Cerro de la Estrella.

#### **5.6 Procedimiento de extracción con SBSE**

##### **5.6.1 Preparación de la muestra**

Los vegetales fueron homogenizados completamente (picados finamente con un cuchillo) y posteriormente se liofilizaron para evitar su descomposición. Como matriz vegetal utilizada en la optimización, se ocupó una lechuga orgánica orejona de la marca “sucrine” adquirida en un centro comercial de la Ciudad de México.

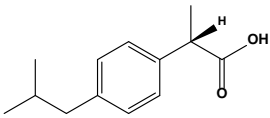
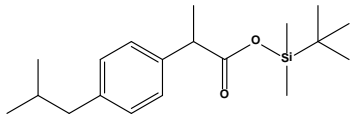
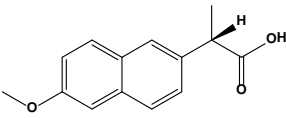
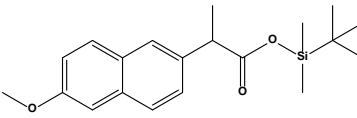
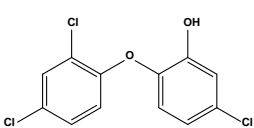
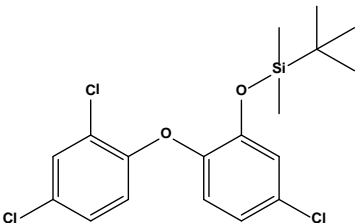
### 5.6.2 Análisis por SBSE

En un vial con tapa de rosca de 10 mL, se pesó 100 mg de muestra liofilizada y se fortificó adicionando 1 mL de solución de estándares (ibuprofeno, naproxeno y triclosán a 1000 ng/g de lechuga, en metanol) dejándolo reposar por 60 minutos. Posteriormente se llevó a sequedad bajo flujo de nitrógeno y se adicionó 5 ml de acetona/metanol (80:20), se colocó en baño ultrasónico por 30 minutos. Después de este tiempo, se llevó a un volumen final aproximado de 1 mL bajo flujo de nitrógeno y se adicionaron 9 mL de agua acidulada a pH=2.50. En la solución anterior, se colocó la barra magnética y se extrajeron los analitos agitando a 1000 rpm durante 30 minutos, después de este lapso se retiró la barra magnética y se secó con ayuda de un pañuelo sin pelusa. Posteriormente, se colocó la barra magnética en un vial con tapa de rosca de 4 mL y se adicionó 1 mL de metanol para la desorción de los analitos a 500 rpm durante 30 minutos a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo de desorción, se retiró la barra magnética y se secó con un pañuelo sin pelusa para posteriormente guardarla. Con una pipeta pasteur se colocó la solución desorbida en un vial de reacción de 2 mL y se llevó a sequedad bajo flujo de nitrógeno; adicionándose 100  $\mu$ L de MTBSTFA (N-metil-N-(terbutildimetilsilil)-trifluoroacetamida) como agente derivatizante y se dejó reaccionar a 70°C durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo se esperó hasta que alcanzó la temperatura ambiente y se inyectó 1  $\mu$ L al CG-EM.

### 5.6.3 Identificación de los analitos terbutildimetilsililados (TBDMS)

Para la identificación de los analitos estudiados fue necesario realizar la derivatización (por ser analitos de baja volatilidad) utilizando como agente derivatizante MTBSTFA. Estos analitos TBDMS no se encontraron en la base de datos del NIST (The NIST Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library versión 2.0 build), por lo que primero fue necesario realizar la identificación de los analitos TBDMS obteniendo los tiempos de retención y el espectro de masas de una solución de estándares y comparándolos posteriormente con los obtenidos en una lechuga fortificada y en las muestras reales. La tabla 6, muestra los analitos estudiados, su estructura y el derivado TBDMS.

**Tabla 6.** Analitos estudiados, estructura y derivado TBDMS.

Analito	Estructura	Derivado TBDMS
<b>Ibuprofeno</b> pKa = 4.9		
<b>Naproxeno</b> pKa = 4.2		
<b>Triclosán</b> pKa = 7.8		

#### 5.6.4 Optimización de la extracción por SBSE.

La extracción con barra magnética está determinada por la constante de equilibrio del analito entre la fase acuosa y la fase polimérica de la barra magnética. Para optimizar la extracción de los analitos sobre la fase polimérica de la barra, es necesario considerar diversos factores que influyen en estos equilibrios. Los principales factores que afectan la extracción con barra magnética son: pH, tiempo de extracción y desorción, temperatura de desorción y la fuerza iónica. Las condiciones óptimas de extracción se seleccionaron en base a la mayor respuesta obtenida, a menos que se indique lo contrario. La metodología que se empleó para la optimización de estos factores es la que se describe en el punto 5.6.2 (análisis por SBSE).

#### **5.6.4.1 Optimización del disolvente de extracción.**

Antes de optimizar los parámetros que afectan la extracción con barra magnética, se realizó una extracción con baño ultrasónico para disminuir los efectos que se presentaron entre los analitos estudiados y la matriz vegetal.

Se evaluaron como disolventes de extracción 2 disolventes: metanol y diclorometano y dos mezclas de disolventes: acetona/metanol (80:20) y metanol/acetona (80:20).

#### **5.6.4.2 Optimización del pH en la extracción por SBSE.**

Una vez optimizado el disolvente de extracción, se evaluó el efecto del pH.

Para la optimización en la extracción con barra magnética se evaluaron 5 valores de pH: 2, 2.5, 3, 4 y 5. El pH óptimo seleccionado se mantuvo constante durante la evaluación del tiempo de desorción, temperatura de desorción, tiempo de extracción, modificador orgánico y fuerza iónica. El pH se ajustó con una disolución de HCl al 2%.

#### **5.6.4.3 Optimización del tiempo de extracción.**

Para la optimización del tiempo de extracción se evaluaron 5 tiempos: 15, 30, 45, 60 y 90 minutos, estas extracciones se realizaron con el pH y el disolvente de extracción optimizados.

#### **5.6.4.4 Optimización del tiempo y temperatura de desorción.**

El tiempo y la temperatura de desorción se evaluaron simultáneamente con 2 tiempos de desorción: 15 y 30 minutos a 3 temperaturas de desorción: 25, 40 y 50°C. Estas extracciones se realizaron con el pH, disolvente de extracción y tiempo de extracción optimizados.

#### **5.6.4.5 Optimización de la fuerza iónica.**

Una vez optimizados el disolvente de extracción, pH, la temperatura y tiempo de desorción y el tiempo de extracción, se evaluó la fuerza iónica a 3 concentraciones de una solución de cloruro de sodio al: 0%, 25% y 50%.

#### **5.6.5 Límites de detección**

Los límites de detección se obtuvieron experimentalmente con el método de extracción optimizado, fortificando una lechuga con solución de estándares en metanol a: 1000, 500, 100, 10 y 2.5 ng/g. La selección de los límites de detección se realizó tomando en cuenta la menor concentración a la cual se podía diferenciar entre la señal del analito y el ruido.

#### **5.6.6 Validación del método**

Una vez realizada la optimización, se validó el método evaluando la linealidad por calibración de estándar externo, la precisión y recobro.

##### **5.6.6.1 Linealidad del método**

La linealidad se evaluó construyendo una curva de calibración de estándar externo por triplicado en un intervalo de concentración de: 200, 400, 600, 800 y 1000 ng de estándares/g de lechuga.

##### **5.6.6.2 Precisión**

La precisión del método se evaluó por triplicado calculando el promedio del coeficiente de variación de cada concentración utilizada en la curva de calibración.

### **5.6.6.3 Recobro**

Se evaluó el recobro de cada analito en cada una de las 5 concentraciones utilizadas en la construcción de la curva de calibración. Cada extracción se realizó por triplicado utilizando el método optimizado; la extracción se realizó en una muestra de lechuga fortificada con las características mencionadas en el punto 5.6.1 (preparación de la muestra).

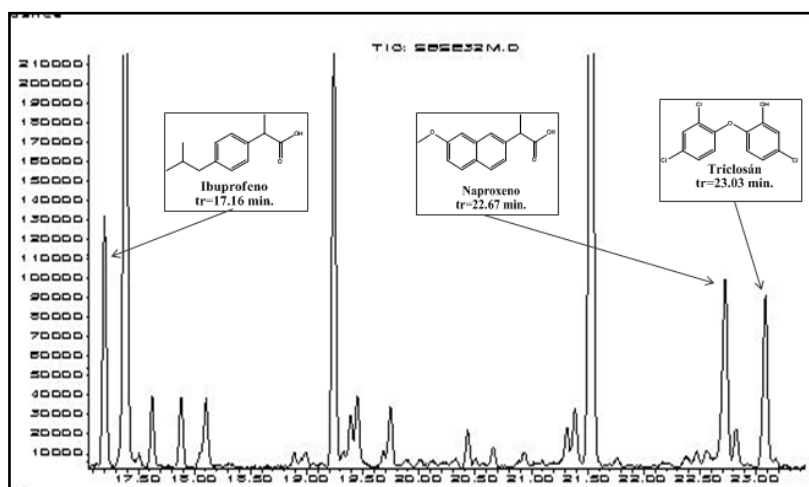
### **5.6.7 Análisis de PPCP's por SBSE en muestras de vegetales de hoja verde**

Una vez validado el método, se analizaron las siguientes muestras de vegetales de hoja verde: espinacas, epazote, cilantro, perejil y lechuga adquiridos en las cercanías del mercado principal de Xochimilco, en la Ciudad de México. Estas muestras se liofilizaron como indica el inciso 5.6.1 (preparación de muestra) y se analizaron con el método optimizado siguiendo la metodología descrita en el inciso 5.6.2 (análisis por SBSE). El análisis se realizó por triplicado en modo SIM y SCAN para cada muestra.

## 6. Resultados y análisis de resultados

### 6.1 Identificación de PPCP's por CG-EM

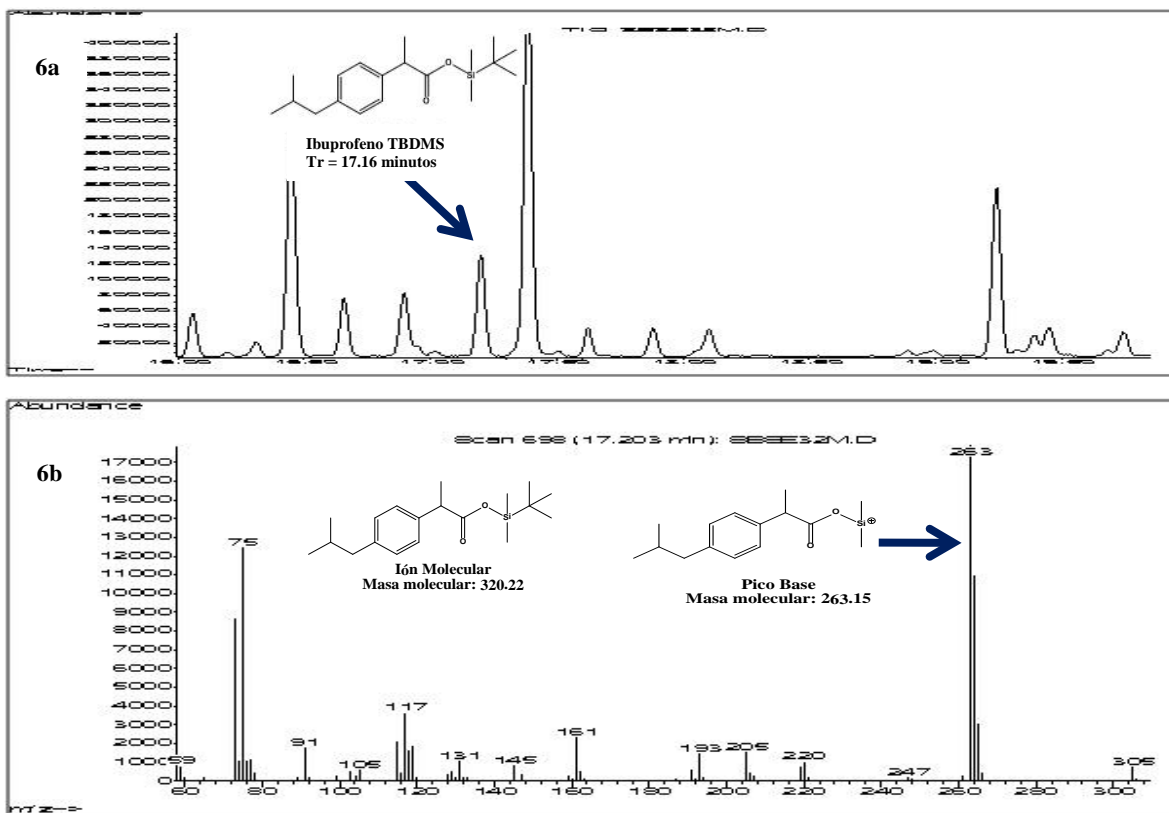
Previo a la optimización de la SBSE, se realizó la identificación de los derivados TBDMS de ibuprofeno, naproxeno y triclosán seguida de CG-EM. La figura 5 muestra el cromatograma iónico total de la lechuga fortificada con solución de estándares a 1000 ng/g cada uno, donde se observan los picos correspondientes al ibuprofeno, naproxeno y triclosán TBDMS con tiempos de retención de 17.16, 22.67 y 23.03 minutos respectivamente.



**Figura 5.** Cromatograma Iónico Total de la extracción efectuada en una lechuga fortificada con ibuprofeno naproxeno y triclosán a 1000 ng/g. La identificación se realizó por SCAN.

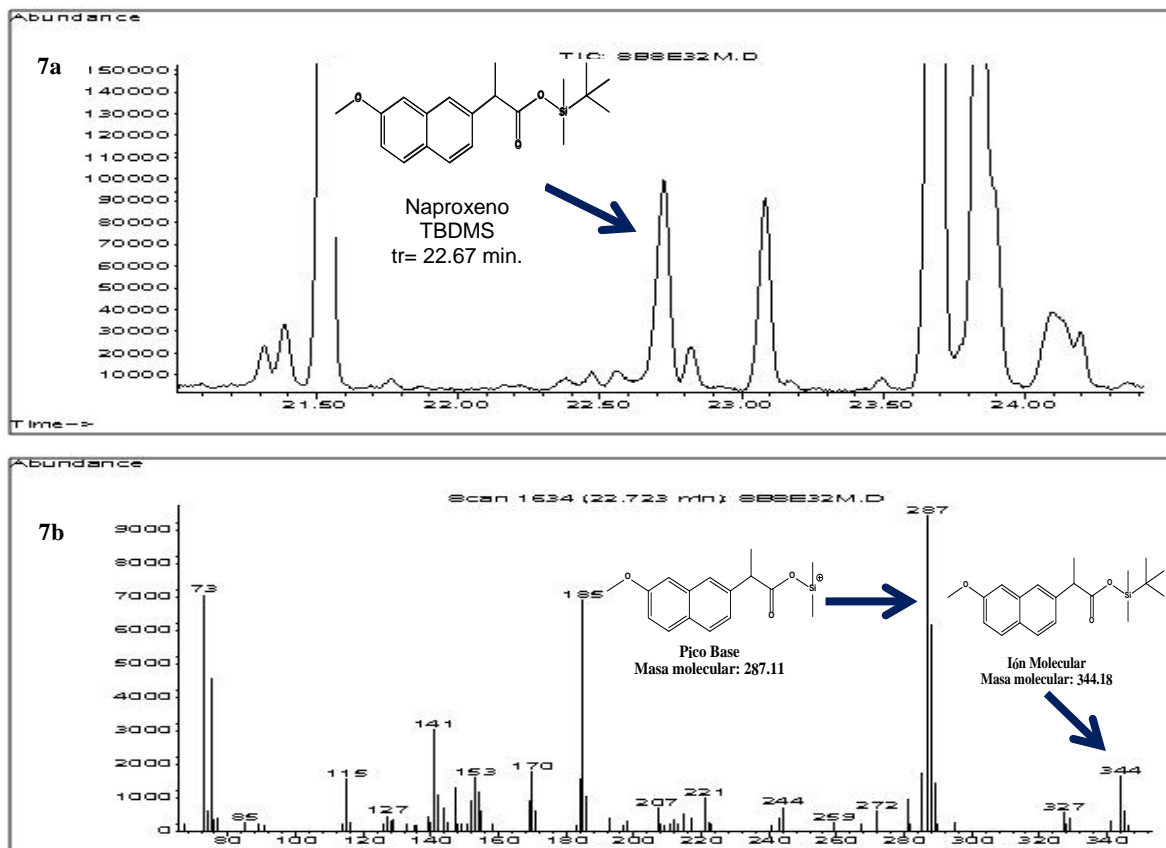
La Figura 6a, muestra el cromatograma iónico total del ibuprofeno TBDMS con tiempo de retención 17.16 minutos. La Figura 6b, muestra el espectro de masas del ibuprofeno TBDMS con un patrón de fragmentación sencillo teniendo un pico base muy abundante con relación  $m/z$  263 correspondiente a la pérdida del terbutilo ( $m/z$   $[M-57]^+$ ). El fragmento con relación  $m/z$  305, se debe a la pérdida de un metilo ( $m/z$   $[M-15]^+$ ). El ion molecular con relación  $m/z$  320 no se observa.





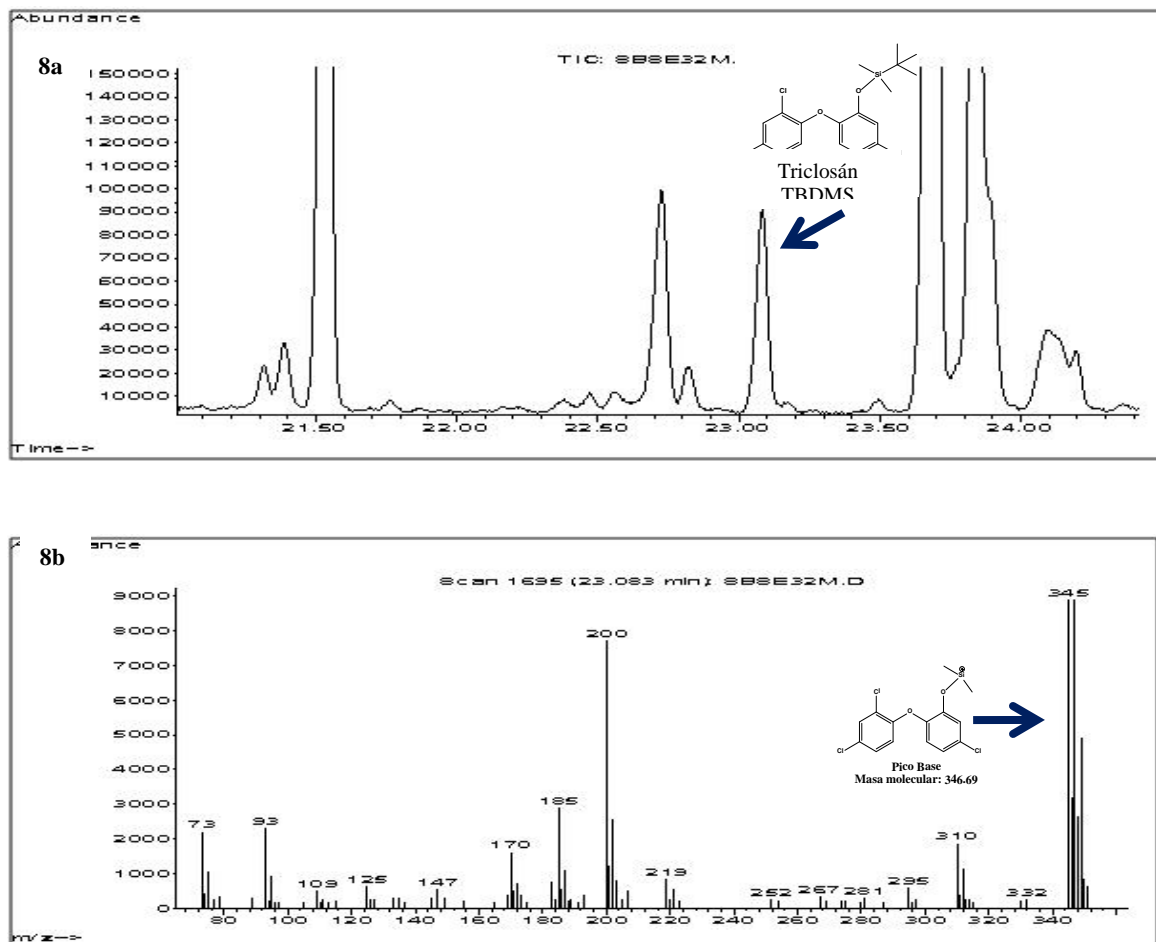
**Figura 6a.** Cromatograma iónico total ibuprofeno terbutildimetilsililado. **6b.**Espectro de masas del ibuprofeno terbutildimetilsililado.

La Figura 7a muestra el cromatograma iónico total del derivado del naproxeno TBDMS con tiempo de retención 22.67 minutos. La Figura 7b muestra el espectro de masas que presenta pocos iones abundantes observando el ion molecular a una relación m/z de 344, el pico base a m/z 287 el cual corresponde a la pérdida del terbutilo (m/z  $[M-57]^+$ ). El fragmento a m/z 185 corresponde a la pérdida 159 uma ( $[M-159]^+$ ).



**Figura 7a.** Cromatograma iónico total naproxeno terbutildimetilsililado. **7b.**Espectro de masas del naproxeno terbutildimetilsililado.

La Figura 8a, muestra el cromatograma iónico total del triclosán TBDMS con tiempo de retención 23.03 minutos. La Figura 8b, muestra el espectro de masas del derivado de triclosán con un patrón de fragmentación sencillo, El pico a  $m/z$  345 corresponde a la pérdida del terbutilo ( $m/z$   $[M-57]^+$ ); al tratarse de un compuesto que contiene tres cloros observamos la isotopía característica de  $[M-57]^+$ , en  $[[M-57]+2]^+$  ( $m/z$  347), en  $[[M-57]+4]^+$  ( $m/z$  349) y en  $[[M-57]+6]^+$  ( $m/z$  351). El ión molecular de relación  $m/z$  402 no se observa.



**Figura 8a.** Cromatograma iónico total triclosán terbutildimetilsililado. **8b.** Espectro de masas del triclosán terbutildimetilsililado.

## 6.2 Optimización

Para llevar a cabo una extracción eficiente por SBSE, fue necesario realizar la optimización de los parámetros para posteriormente proceder con la validación del método y finalmente el análisis de las muestras.

La optimización del método de extracción de los PPCP's se llevó a cabo de acuerdo a la metodología descrita en el punto 5.6.2 análisis por SBSE, con la variación de un tiempo de desorción de 60 minutos a temperatura ambiente. Estas condiciones se seleccionaron debido a que el tiempo y temperatura de desorción se evaluaron posteriormente.

### 6.2.1 Disolvente de extracción

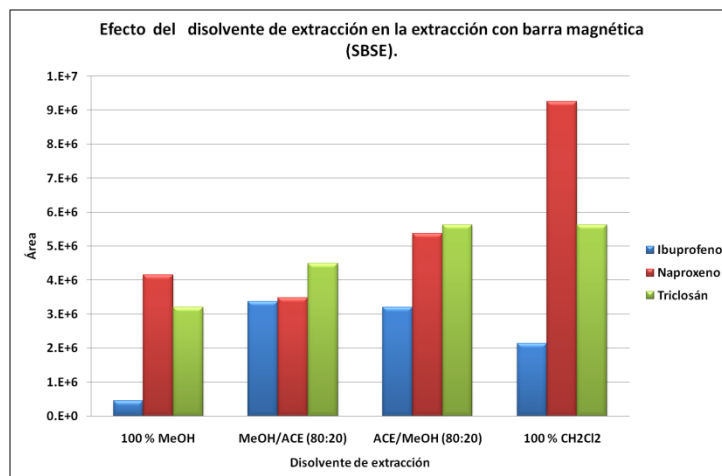
Los disolventes de extracción evaluados fueron: metanol, diclorometano, la mezcla de disolventes acetona/metanol (80:20) y metanol/acetona (80:20). La gráfica 1, muestra el efecto del disolvente de extracción utilizado sobre la respuesta obtenida en el C.G. al finalizar todo el proceso.

La extracción de ibuprofeno se favorece más utilizando como disolvente de extracción la mezcla de disolventes metanol/acetona (80:20), esto puede ser debido a la alta solubilidad del ibuprofeno en metanol.

La extracción de naproxeno se favorece más utilizando como disolvente de extracción diclorometano, esto puede ser debido al carácter menos polar del naproxeno en comparación con los otros dos analitos estudiados.

La extracción de triclosán se favorece más utilizando como disolvente de extracción la mezcla de disolventes acetona/metanol (80:20), esto puede ser debido a la gran solubilidad que presenta el triclosán en acetona.

Se seleccionó como disolvente de extracción la mezcla de disolventes acetona/metanol (80:20), tomando en cuenta que la metodología desarrollada tiene como objetivo la extracción de los tres analitos. La mezcla de disolventes acetona/metanol (80:20) favorece más la extracción de naproxeno y triclosán en comparación con la mezcla de disolventes metanol/acetona (80:20), aunque en esta última se observa una extracción de ibuprofeno ligeramente mayor.

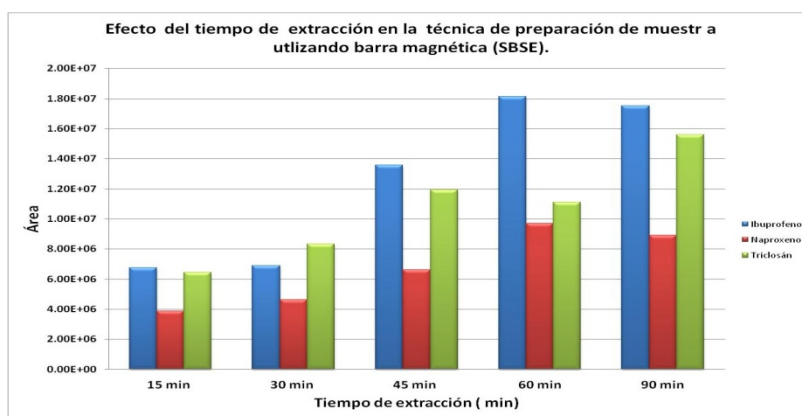


**Gráfica 1.** Efecto de la variación del disolvente de extracción, en la extracción con baño ultrasónico.

El disolvente de extracción, tiene como función romper las interacciones de los analitos estudiados con la matriz vegetal (lechuga orgánica) y mantenerlos solubles en el medio que se utilizará posteriormente para la extracción con la barra magnética.

### 6.2.2 Tiempo de extracción

El tiempo de extracción se evaluó a: 15, 30, 45, 60 y 90 minutos. En la gráfica 2 se observa el perfil de extracción; al aumentar el tiempo de extracción aumenta el área para cada analito hasta llegar al equilibrio en el cuál el área se mantiene constante.



Gráfica 2. Efecto del tiempo de extracción utilizando SBSE.

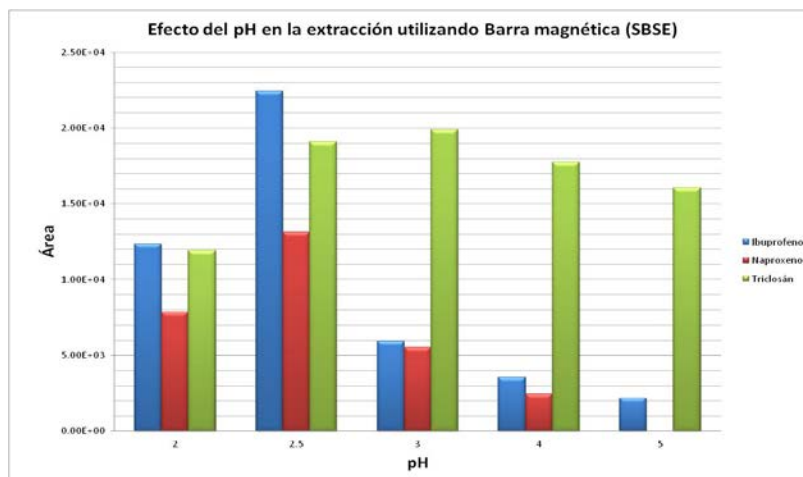
El tiempo de extracción relativo depende de la sensibilidad que se quiera alcanzar y no necesariamente se debe alcanzar el tiempo de equilibrio en el cual la fase polimérica de la barra magnética se satura. En este trabajo se seleccionó como tiempo de extracción óptimo 30 minutos, aunque no se alcanzó el tiempo de equilibrio sí se disminuye el tiempo de análisis.

También se observa en el perfil de extracción evaluado para el ibuprofeno y naproxeno, un incremento del área al aumentar el tiempo de extracción en el intervalo de 15 a 60 minutos y una ligera disminución del área en un tiempo de extracción de 90 minutos, esto nos indica la posibilidad de que en un tiempo de extracción de 60 minutos se haya alcanzado el estado de equilibrio. Para el triclosán, se observa un incremento del área al incrementar el tiempo

de extracción en un intervalo de 15 a 45 minutos, una ligera disminución del área a los 60 minutos y un incremento notable del área a los 90 minutos. Posiblemente el triclosán tiene interacciones muy fuertes con algunos sitios de la matriz biológica, las cuales requieren de mayor energía (mayor tiempo en el ultrasonido) para poder romperse.

### 6.2.3 Influencia del pH

La gráfica 3, muestra el efecto del pH en la extracción con barra magnética. Se evaluaron 5 valores de pH, 2, 2.5, 3, 4 y 5. Como se observa la máxima concentración de los analitos extraídos es a pH = 2.5, esto es probablemente debido a la forma en que se encuentran los analitos en disolución. Los analitos que se encuentren en forma molecular incrementan la extracción en comparación con los analitos que se encuentran en forma iónica. A pH = 2.5, el porcentaje de los 3 analitos en forma molecular es mayor que a pH más básico, como se observa en la gráfica 3.



**Gráfica 3.** Efecto del pH en la extracción con SBSE de Ibuprofeno, Naproxeno y Triclosán (1000 ng/g)

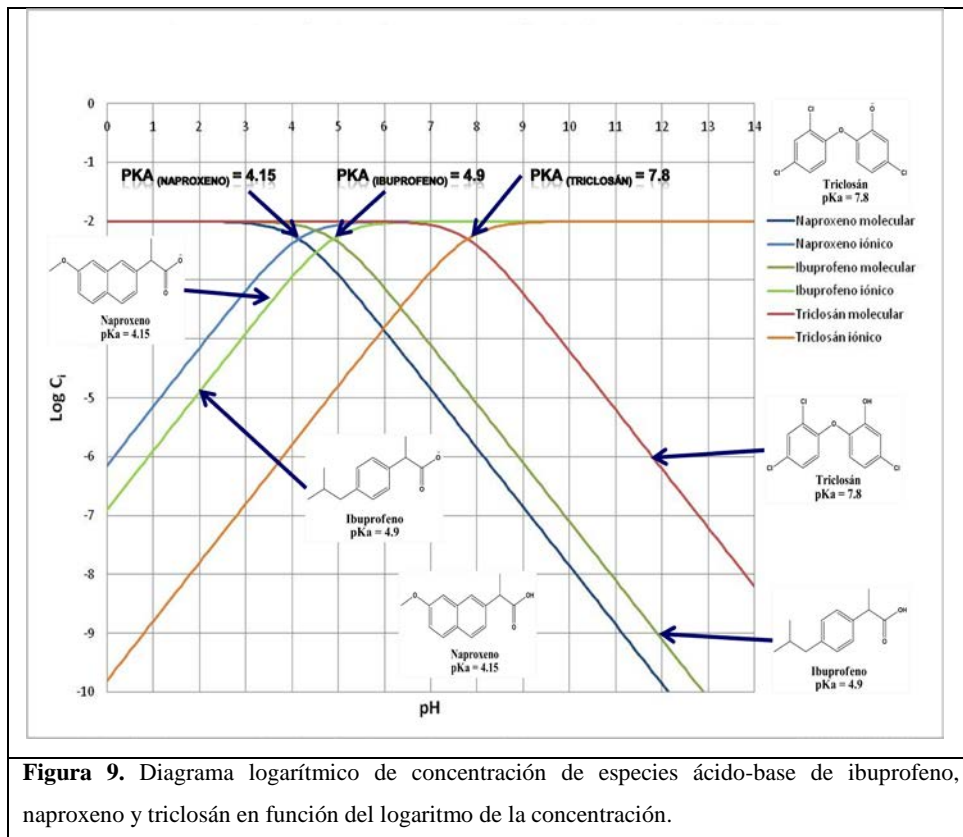
Al aumentar el pH por arriba del valor de pka, los analitos se encuentran en forma iónica, esto favorece la solubilidad en el medio de extracción y no la migración de éstos desde el medio de extracción a la fase polimérica de la barra magnética.

La forma molecular de analitos con propiedades ácido-base se favorece con valores de pH por debajo de su valor de pka.

Para un pH = 2.0, se observa una disminución del área de los tres analitos, esto puede ser debido al daño que sufre la fase polimérica de la barra magnética al trabajar a valores de pH < 2.0. Para incrementar la vida útil de la barra magnética y evitar daños a la fase polimérica, se recomienda trabajar en un intervalo de pH menor a 9.0 y mayor a 2.0.

La figura 9, muestra el diagrama logarítmico de concentración de las especies ácido-base ibuprofeno, naproxeno y triclosán en donde se observan sus valores de pka de 4.9, 4.15 y 7.8 respectivamente.

Para valores de pH > pka de cada analito predomina su forma iónica lo que implica una menor afinidad de los analitos por la fase polimérica de la barra magnética. Por lo contrario, para valores de pH < pka de cada analito predomina la forma molecular, lo que favorece una mayor afinidad de los analitos por la fase polimérica de la barra magnética. Esto se relaciona con la figura 9, para un pH = 2.5 la forma molecular de los tres analitos predomina, incrementando las interacciones de éstos con la fase polimérica de la barra magnética.



**Figura 9.** Diagrama logarítmico de concentración de especies ácido-base de ibuprofeno, naproxeno y triclosán en función del logaritmo de la concentración.

### 6.2.4 Temperatura y tiempo de desorción

La temperatura y tiempo de desorción se evaluaron a 15 y 30 minutos con una temperatura de 25°C, 40°C y 50°C,

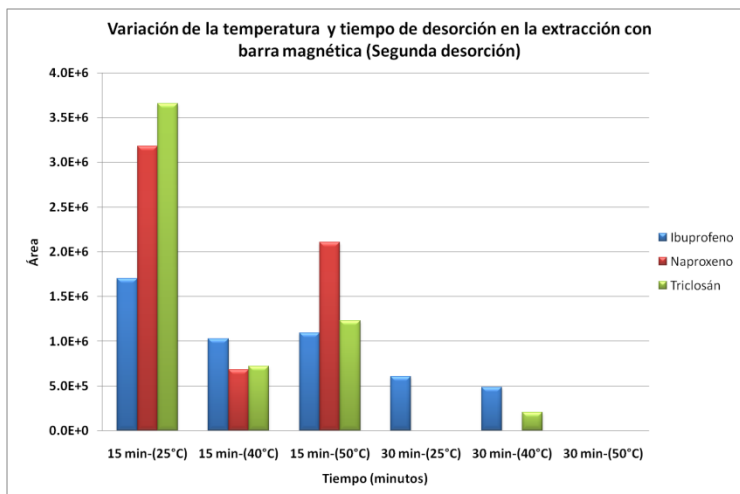
La temperatura y tiempo de desorción tienen como objetivo la desorción completa de los tres analitos, este parámetro se comprobó realizando una segunda desorción para cada temperatura y tiempo de desorción seleccionándose como condiciones óptimas en la desorción una temperatura de 50° C y un tiempo de 30 minutos (gráfica 4), en la cual no se mostró evidencia de la presencia de alguno de los tres analitos en estudio.

Para una temperatura y tiempo de desorción de 25°C, 40°C y 50°C por 15 minutos, se observa la presencia de los tres analitos. Esto indica una desorción incompleta de los tres analitos en la primera desorción.



Para una temperatura y tiempo de desorción de 25°C por 30 minutos, se observa una desorción completa de naproxeno y triclosán y una desorción incompleta de ibuprofeno.

Para una temperatura y tiempo de desorción de 40°C por 30 minutos, se observa una desorción completa de naproxeno y una desorción incompleta para ibuprofeno y triclosán.



**Gráfica 4.** Efecto de la temperatura y tiempo de desorción (segunda desorción) en la extracción con SBSE de Ibuprofeno, Naproxeno y Triclosán (1000 ng/g).

### 6.2.5 Fuerza iónica

La fuerza iónica se evaluó adicionando cloruro de sodio al medio de extracción en concentraciones de 0%, 25% y 50%, En la gráfica 5, se observa el efecto de la fuerza iónica en la extracción con barra magnética.

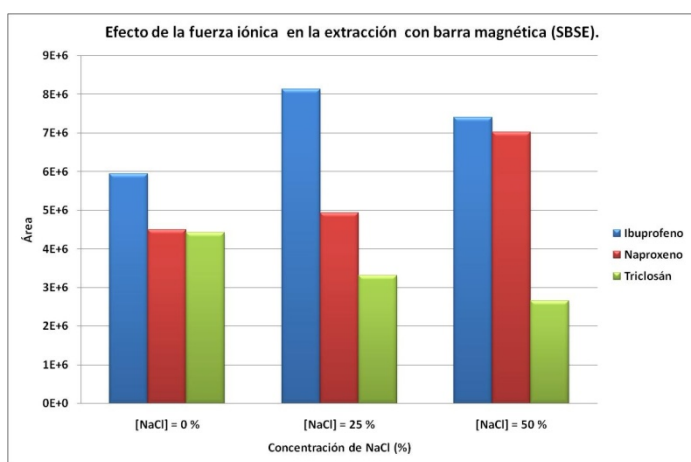
Para una concentración de cloruro de sodio al 25%, se favorece la extracción de ibuprofeno, esto puede ser debido a la polaridad del ibuprofeno que es un ácido.

Para una concentración de cloruro de sodio al 50%, se favorece la extracción de naproxeno, esto puede ser debido a la naturaleza polar del naproxeno que es un ácido.

Es posible que la adición de cloruro de sodio al medio de extracción rompa las interacciones de las moléculas de agua con los analitos polares favoreciendo así la migración de estos hacia la fase polimérica de la barra.

La adición de cloruro de sodio al medio de extracción, tiene un efecto negativo en la extracción del triclosán. Al aumentar la fuerza iónica del medio de extracción disminuye la respuesta, esto puede ser debido a la menor polaridad del triclosán en comparación con los otros dos analitos.

Se seleccionó no adicionar cloruro de sodio al medio de extracción debido a su efecto negativo sobre la fase polimérica de la barra magnética, disminuyendo la vida útil de ésta al depositarse en la fase polimérica de la barra e induciendo su desprendimiento, además de tener un efecto negativo en la extracción del triclosán.



**Gráfica 5.** Efecto de la fuerza iónica en la extracción con SBSE de Ibuprofeno, Naproxeno y Triclosán (1000 ng/g)

### 6.3 Condiciones óptimas de extracción

Antes de llevar a cabo la extracción con barra magnética, se realizó una extracción previa en un baño ultrasónico dejando sonicar la lechuga fortificada con solución de mezcla de estándares con el disolvente de extracción. Esto fue necesario por las fuertes interacciones que se tenían entre la lechuga y los analitos.

Después de evaluar los parámetros que afectan la extracción con barra magnética, las condiciones óptimas de extracción se presentan en la tabla 7.

**Tabla 7.** Condiciones óptimas de preparación de muestra

<b>Condiciones óptimas de extracción de la matriz biológica</b>	
Disolvente de extracción	Acetona/Metanol (80:20)
<b>Condiciones óptimas de extracción con barra magnética</b>	
pH	2.5
Tiempo de extracción	30 minutos
Tiempo de desorción	30 minutos
Temperatura de desorción	50° C
Fuerza iónica	Sin adición de NaCl

#### 6.4 Límites de detección

Los límites de detección se evaluaron experimentalmente con las condiciones óptimas de extracción. Los resultados se presentan en la tabla 8.

**Tabla 8.** Límites de detección experimentales

<b>Analito</b>	<b>Límite de detección</b>	<b>Iones (m/z)</b>
Triclosán	2.5 ng/g	347 y 200
Naproxeno	10 ng/g	344 y 287
Ibuprofeno	10 ng/g	320 y 263

#### 6.5 Linealidad

La linealidad fue evaluada por el método de estándar externo utilizando una curva de calibración, graficando la abundancia relativa de cada analito en función de la concentración. El análisis se realizó por triplicado y las abundancias relativas se adquirieron por extracto de iones.

En la tabla 9, se presentan las características de las rectas. La linealidad se evaluó con los coeficientes de correlación obtenidos en la gráfica de calibración. Un coeficiente de correlación igual a uno, nos indica un mejor ajuste a la línea recta entre la respuesta del equipo y la concentración. El ibuprofeno presenta un mayor ajuste a una línea recta con un coeficiente de correlación de  $R^2=0.9890$ , seguido del naproxeno con un coeficiente de correlación de  $R^2= 0.9830$  y el triclosán presenta un mejor ajuste a la línea recta con un coeficiente de correlación de  $R^2=0.9820$ .

Los efectos de matriz se evaluaron con la ordenada al origen (b), estos efectos son menores en el triclosán con una ordenada al origen de  $b=1502$  y mayores en el ibuprofeno con una ordenada al origen de  $b=10847$ . El triclosán presentó menores efectos de matriz con una ordenada al origen menor en comparación con el ibuprofeno y naproxeno. Esto quiere decir que existen menos interacciones entre la matriz vegetal (lechuga) y el triclosán, el ibuprofeno presenta mayores interacciones con la matriz presentando una ordenada al origen mayor en comparación con el naproxeno y el triclosán.

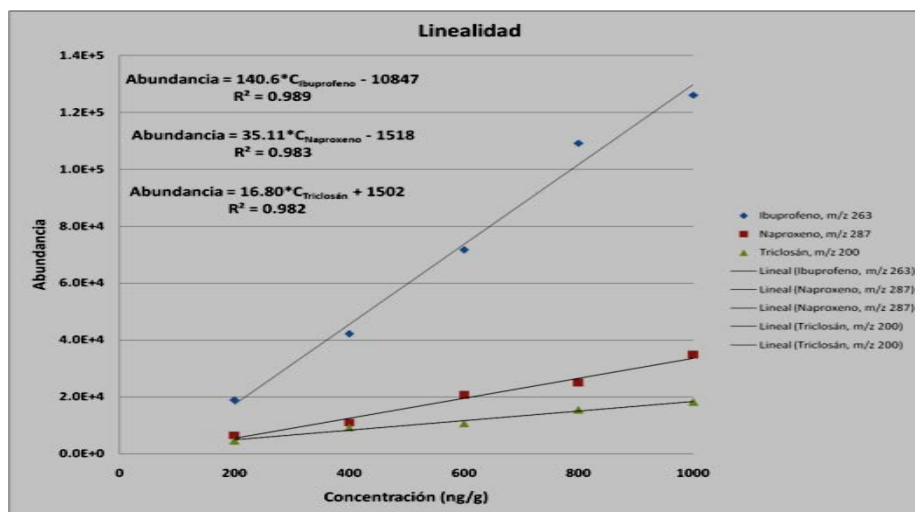
La sensibilidad del método para cada analito se evaluó con la pendiente obtenida en la curva de calibración, la mayor sensibilidad la presenta el ibuprofeno con una pendiente de  $m= 140.60$  y el triclosán presenta la menor sensibilidad con una pendiente de  $m=16.80$ . La sensibilidad nos indica la variación de la respuesta al variar la concentración del analito.

La precisión del método se evaluó calculando los coeficientes de variación (% C.V.) para cada analito, existe una mayor precisión en el triclosán con un coeficiente de variación  $< 12\%$ , seguida del ibuprofeno con un coeficiente de variación  $<14\%$  y el que presenta menor precisión es el naproxeno con un coeficiente de variación  $< 15\%$ .

En la figura 6, se presenta la curva de calibración para cada analito. Se observa una mayor pendiente (sensibilidad) para el ibuprofeno, seguido del naproxeno y por último el triclosán.

**Tabla 9.** Ecuación de la recta para cada analito

Analito	ión (m/z)	Coefficiente de correlación ( $R^2$ )	Pendiente (m)	Ordenada (b)	% C.V.
Ibuprofeno	263	0.9890	140.60	-10847	<14%
Naproxeno	287	0.9830	35.11	-1518	<15%
Triclosán	200	0.9840	16.80	1502	<12%


**Figura 10.** Curva de calibración de ibuprofeno, naproxeno y triclosán adquirido en modo SIM (monitoreo de ión selectivo).

## 6.6 Recobro

La exactitud se evaluó calculando los recobros del método utilizando los valores de la recta correspondiente presentados en la tabla 9. La tabla 10 muestra los recobros realizados por triplicado para cada analito, se observan recobros mayores al 97% para el ibuprofeno, recobros mayores al 67% para el naproxeno y recobros mayores al 89% para el triclosán. Para una concentración baja de 200 ng/g, el ibuprofeno presenta un recobro del 105.60% (independientemente que presenta el mayor efecto de matriz, lo que se esperaría un recobro menor a bajas concentraciones), mayor al que presenta el triclosán con un recobro del 89.63% y el naproxeno con un recobro del 71.35%, siendo el recobro menor para el naproxeno a esta concentración. Para concentraciones de 1000 ng/g, el triclosán presenta un

recobro de 99.49% mayor en comparación con el recobro que presenta el ibuprofeno con un recobro del 97.38% y el naproxeno presenta un recobro del 94.55% menor que los otros analitos a esta concentración. No se realizó recobro absoluto.

**Tabla 10.** Recobro del método (n=3)

<b>Analito</b>	<b>ión (m/z)</b>	<b>Concentración (ng/g)</b>	<b>% Recobro</b>
<b>Ibuprofeno</b>	263	200	<b>105.60</b>
		400	<b>94.26</b>
		600	<b>97.79</b>
		800	<b>106.66</b>
		1000	<b>97.38</b>
<b>Naproxeno</b>	287	200	<b>71.35</b>
		400	<b>67.74</b>
		600	<b>90.52</b>
		800	<b>83.24</b>
		1000	<b>94.55</b>
<b>Triclosán</b>	200	200	<b>89.63</b>
		400	<b>113.95</b>
		600	<b>90.98</b>
		800	<b>103.17</b>
		1000	<b>99.49</b>

## 6.7 Aplicación del método desarrollado

### 6.7.1 Análisis de matrices vegetales

Se analizaron cinco diferentes matrices que se tenían indicios que fueron regadas con aguas provenientes de efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales. Estas fueron adquiridas en las cercanías del mercado de Xochimilco. Se analizaron las siguientes muestras de vegetales de hoja verde: espinacas, epazote, cilantro, perejil y lechuga. Estas muestras se liofilizaron como indica el inciso 5.6.1 (preparación de muestra) y se

analizaron con el método optimizado siguiendo la metodología descrita en el inciso 5.6.2 (análisis por SBSE). El análisis se realizó en modo SIM y SCAN para cada muestra.

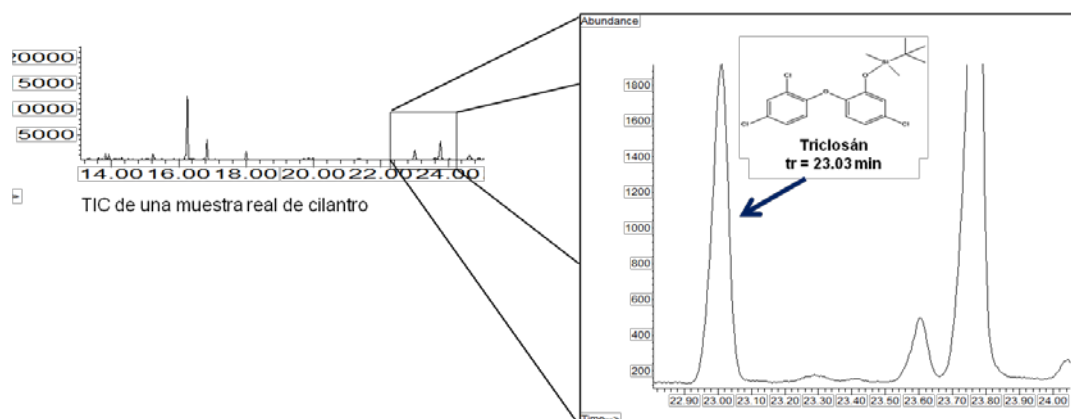
Se identificó triclosán en cilantro, perejil, espinaca y epazote en concentraciones menores a 5.0 ng/g (Tabla 11). La figura 7 muestra el cromatograma iónico total de una muestra real de cilantro analizada con el método optimizado mostrando la presencia de triclosán.

La presencia de triclosán en las muestras analizadas, puede ser debido a que el triclosán es empleado en la mayoría de los productos de higiene personal y éste es enviado al drenaje y llega a las plantas de tratamiento de aguas residuales, como no es eliminado se encuentra en los efluentes que son empleados posteriormente para el riego de vegetales.

**Tabla 11.** Matrices vegetales reales analizadas

Matriz	Analito		
	Triclosán	Naproxeno	Ibuprofeno
Lechuga	NI	NI	NI
Cilantro	NC	NI	NI
Perejil	NC	NI	NI
Epazote	NC	NI	NI
Espinacas	NC	NI	NI

NI: No identificado  
NC: No cuantificado (< 5 ng/g)



**Figura 11.** Cromatograma iónico total (TIC) de una muestra de cilantro analizado con el método optimizado, se observa la identificación de triclosán.

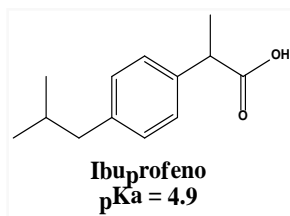


## 7. Conclusiones

- Se desarrolló y optimizó un método por SBSE-CG-EM para la identificación y cuantificación simultánea de 3 PPCP's: ibuprofeno naproxeno y triclosán en matrices vegetales.
- El método desarrollado se aplicó para el análisis de lechuga, cilantro, perejil, espinacas y epazote, por lo que se puede decir que este método es robusto para el análisis de vegetales de hoja verde.
- Se identificó la presencia de triclosán en cilantro, perejil, epazote y espinacas en concentraciones menores a 5.0 ng/g.

## 8. Anexo

### 8.1 Características químicas de los PPCP's estudiados.



Nombre: ácido  $\alpha$ -metil-4-(2-metilpropil)benzenacético; ácido p-isobutilhidratrópico; ácido 2-(4-isobutilfenil)-propiónico.

Estado físico: Sólido cristalino

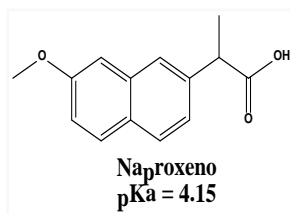
Fórmula mínima:  $C_{13}H_{18}O_2$

Peso molecular: 206.27 g / mol

Punto de fusión: 75-77°C

pka:  $4.41 \pm 0.10$

Solubilidad: Relativamente insoluble en agua, soluble en disolventes orgánicos.



Nombre: ácido (S)-6-Metoxi- $\alpha$ -metil-2-naftalenacético; ácido d-2-(6-metoxi-2-naftil)propiónico.

Estado físico: Sólido cristalino blanco inodoro.

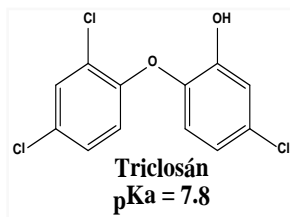
Fórmula mínima:  $C_{14}H_{14}O_2$

Peso molecular: 230.26 g / mol

Punto de fusión: 152-154°C

pKa:  $4.84 \pm 0.30$

Solubilidad: Liposoluble, prácticamente insoluble en agua con un pH menor a 4 y totalmente soluble en agua a pH mayores de 6.



Nombre: 5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxy)fenol; 2,4,4'-triclora-2-hidroxi-difenil éter.

Estado físico: Cristales

Fórmula mínima:  $C_{12}H_7Cl_3O_2$

Peso molecular: 289.53 g / mol

Punto de fusión: 55-60°C

pKa:  $7.80 \pm 0.35$

Solubilidad: Poco soluble en agua, se disuelve en presencia de bases. Soluble en etanol, cloroformo y disolventes orgánicos.

## 8.2 Linealidad del método

Para evaluar la linealidad del método se prepararon curvas de calibración para cada analito a cuantificar.

Para realizar la cuantificación se utilizaron los datos generados del análisis de regresión lineal, las curvas no se ajustaron a cero y la cuantificación se efectuó utilizando la ecuación de la recta obtenida en cada curva de calibración.

**Tabla 12.** Linealidad del método de SBSE-CG-EM para la cuantificación de PPCP's

PPCP	Ecuación de la recta	R <sup>2</sup>	Intervalo de concentración (ng/g)	Número de niveles
Ibuprofeno	$y = 176.8x - 25352$	0.976	200, 400, 600, 800, 1000	5
	$y = 118.3x - 1872$	0.998		
	$y = 126.9x - 9060$	0.979		
Naproxeno	$y = 35.96x - 2619$	0.954		
	$y = 35.15x - 555.7$	0.982		
	$y = 34.25x - 1380$	0.996		
Triclosán	$y = 18.94x + 756.3$	0.989		
	$y = 15.68x + 1649$	0.943		
	$y = 15.79x + 2100$	0.971		

Las concentraciones para cada nivel se prepararon de la siguiente manera:

Para preparar una disolución de 200 ng de ibuprofeno/g de lechuga, se partió de una solución madre con una concentración de 200 µg/mL de estándares. A partir de la solución madre, se preparó una disolución de estándares con una concentración de 0.02 µg/mL, tomando una alícuota de 5 µL y llevándola a un volumen final de 50 mL.

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$C_2 = \frac{C_1 V_1}{V_2} = \frac{\frac{200 \mu\text{g de ibuprofeno}}{\text{mL de metanol}} (0.005 \text{ mL})}{50 \text{ mL}} = \frac{0.02 \mu\text{g de ibuprofeno}}{\text{mL de metanol}}$$

Finalmente, se tomó una alícuota de 1 mL de la concentración de 0.02 µg de ibuprofeno/mL de metanol para fortificar 100 mg de lechuga liofilizada.

$$\frac{0.02 \mu\text{g de ibuprofeno}}{\text{mL de metanol}} \times \frac{\text{mL de metanol}}{100 \text{ mg de lechuga}} = \frac{0.0002 \mu\text{g de ibuprofeno}}{\text{mg de lechuga}}$$

$$\frac{0.0002 \mu\text{g de ibuprofeno}}{\text{mg de lechuga}} \times \frac{1000 \text{ ng}}{1 \mu\text{g}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = \frac{200 \text{ ng de ibuprofeno}}{\text{g de lechuga}}$$

Este mismo procedimiento se siguió para el naproxeno y triclosán.

### 8.3 Deducción de la ecuación del recobro teórico



$$K_{PDMS,a} = \frac{C_{PDMS}}{C_a} \quad (1)$$

Donde:

$K_{PDMS,a}$  = coeficiente de distribución del analito entre la fase polimérica y la fase acuosa

$C_{PDMS}$  = concentración del analito en la fase polimérica de la barra magnética

$C_a$  = concentración del analito en la fase acuosa

Cuando se alcanza el equilibrio, el rendimiento de la extracción se puede estimar a partir del balance de masas y el coeficiente de distribución.

$$m_{a,0} = m_{PDMS} + m_a \quad (2)$$

Si definimos  $\beta = \frac{V_a}{V_{PDMS}}$  y lo sustituimos en la ecuación (1), nos queda:

$$K_{PDMS,a} = \frac{C_{PDMS}}{C_a} = \frac{m_{PDMS}}{m_a} \times \frac{V_a}{V_{PDMS}} = \frac{m_{PDMS}}{m_a} \times \beta \quad (3)$$

Donde:

$m_{a,0}$  = masa inicial del analito en la fase acuosa

$m_{PDMS}$  = masa del analito en la barra magnética

$\beta$  = relación de volúmenes

Si despejamos  $m_{PDMS}$  de la ecuación (3), nos queda:

$$m_{PDMS} = \frac{K_{PDMS,a} * m_a}{\beta} \quad (4)$$

Dividiendo la ecuación (4) entre la ecuación (2), nos queda:

$$\frac{m_{PDMS}}{m_{a,0}} = \frac{K_{PDMS,a} * m_a}{\beta * (m_a + m_{PDMS})} \quad (5)$$

Sustituyendo (4) en (5) y realizando operaciones, obtenemos:

$$\begin{aligned} \frac{m_{PDMS}}{m_{a,0}} &= \frac{K_{PDMS,a} * m_a}{\beta * (m_a + K_{PDMS,a} * m_a / \beta)} = \frac{K_{PDMS,a} * m_a}{m_a * \beta * (1 + K_{PDMS,a} / \beta)} = \\ &= \frac{K_{PDMS,a}}{\beta * (1 + K_{PDMS,a} / \beta)} = \frac{K_{PDMS,a}}{\beta * (\beta + K_{PDMS,a} / \beta)} = \frac{K_{PDMS,a}}{\beta + K_{PDMS,a}} \end{aligned}$$

El recobro teórico se define como  $R = \frac{m_{PDMS}}{m_{a,0}}$

$$\mathbf{R} = \frac{m_{PDMS}}{m_{a,0}} = \frac{K_{PDMS,a}}{K_{PDMS,a} + \beta} \quad (6)$$

## 9. Referencias

1. Prieto, A., Basauri O., Usobiaga A., Fernández L.A., Etxebarria, N., Zuloaga, O., Stir-bar sorptive extraction: A view on method optimization, novel applications, limitations and potential solutions. *Journal of chromatography A.*, 1217, (2010), 2642-2666.
2. Barriada-Pereira M., Serodio P., González-Castro M. J., Nogueira, J. M. F., Determination of organochlorine pesticides in vegetable matrices by stir bar sorptive extraction with liquid desorption and large volume injection-gas chromatography–mass spectrometry towards compliance with European Union directives. *Journal of chromatography A.*, 1217, (2010), 119-126.
3. Concepto de, definición de. <http://conceptodefinicion.de/agua/>, Septiembre 2012
4. Gobierno federal, Estadísticas del agua en México, Comisión Nacional del Agua. Edición Marzo de 2011, México. Información disponible en la página web: <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGP-1-11-EAM2011.pdf> consultada en septiembre de 2012.
5. Castillo Escalante Ignacio, Problemas de Calidad del Agua en México, Instituto Nacional de Ecología, información disponible en la página web: <http://www2.ine.gob.mx/publicaciones/estudios/397/castillo.html> consultada en septiembre de 2012.
6. Echarri, L., Libro electrónico, Ciencias de la Tierra y del Medio Ambiente, Origen de la contaminación de las aguas, información disponible en la página web: <http://www.tecnun.es/asignaturas/Ecologia/Hipertexto/11CAgu/120ProcC.htm>.  
[septiembre 2012.](#)

7. Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/DSAPAS%20Edicion%202011.pdf>. Septiembre 2012.
8. Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. Norma Oficial Mexicana NOM-003-SEMARNAT-1997 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público. Diario Oficial de la Federación, 2003.
9. Tratamiento de aguas residuales, información disponible en el sitio web:[http://es.wikipedia.org/wiki/Tratamiento\\_de\\_aguas\\_residuales](http://es.wikipedia.org/wiki/Tratamiento_de_aguas_residuales), septiembre 2012
10. Ramos Osorio Sergio, Normatividad y Tratamiento de aguas residuales, Comisión Nacional del AGUA, SEMARNAT, 3 de Junio de 2010, información disponible en: <http://ftp.conagua.gob.mx/PlayasLimpias/memorias/Memorias6/Panel%203-Normatividad%20y%20Fomento/1.%20Lic.%20Sergio%20Ramos%20Osorio.pdf> consultado en Septiembre 2012.
11. Ramalho. R. S., Beltrán, D., J. y Soria. F. L., Tratamiento de aguas residuales. Ed. Reverte. México, 1992.
12. Jiménez Cisneros Blanca E. La contaminación ambiental en México: Causas, efectos y tecnologías apropiadas. Limusa, México, 2005.
13. Libros libres para un mundo libre, Ingeniería de aguas residuales: Pretratamiento, información disponible a partir del mes enero de 2011 en la página web:[http://es.wikibooks.org/wiki/Ingenier%C3%ADa\\_de\\_aguas\\_residuales/Pretratamiento](http://es.wikibooks.org/wiki/Ingenier%C3%ADa_de_aguas_residuales/Pretratamiento), consultada en septiembre del 2012.



14. Libros libres para un mundo libre, Ingeniería de aguas residuales: Tratamiento primario, información disponible a partir del 23 de marzo de 2011 en la página web: [http://es.wikibooks.org/wiki/Ingenier%C3%ADa\\_de\\_aguas\\_residuales/Tratamiento\\_primario](http://es.wikibooks.org/wiki/Ingenier%C3%ADa_de_aguas_residuales/Tratamiento_primario) consultada en septiembre del 2012.
15. Tratamiento de aguas residuales, información disponible en el sitio web: <http://fluidos.eia.edu.co/hidraulica/articulos/interesantes/tratamientoresiduales/tratamientoresiduales.html>, consultado en septiembre del 2012.
16. Ingeniería de Tratamiento de Aguas Residuales, Tratamientos fisicoquímicos y biológicos de aguas residuales, información disponible en la página web: <http://www.oocities.org/edrochac/residuales/tratamientobiologico4.pdf>, consultada en Septiembre de 2012.
17. Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 Protección ambiental, Lodos y biosólidos, Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. Diario Oficial de la Federación, 2003.
18. Bradley O., Stephen R., Review of ‘emerging’ organic contaminants in biosolids and assessment of international research priorities for the agricultural use of biosolids. *Environmental international*. 37, (2011), 226-247.
19. Petrovic M., Diaz A., Ventura F. y Barceló D., Occurrence and removal of estrogenic short chain ethoxynonylphenolic compound and their halogenated derivatives during drinking water production. *Environmental Science & Technology*. 27, (2003), 4442-4448.

20. Technology-based analytics and services for the global health community (IMS for HEALTHCARE INFORMATICS). The global use of medicines: outlook trough <http://www.imshealth.com>, septiembre 2012.
21. Alexander M. Aging, bioavailability and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environmental Science & Technology*. 34, (2000), 4259-65.
22. Dolliver H., Kumar K., Gupta S., Sulfamethazine uptake by plants from manure-amended soil. *Journal of Environmental Quality* . 36, (2007), 1224-30.
23. Thiele-Bruhn S., Pharmaceutical antibiotic compounds in soils a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 166, (2003), 145-67.
24. Bester K., Triclosan in a sewage treatment process-balances and monitoring data. *Water Research*. 37, (2003), 3891-6.
25. Sapkota A., Heidler J., Halden RU., Detection of triclocarban and two co-contaminating chlorocarbanilides in US aquatic environments using isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Environmental Research*. 103, (2007), 21-9.
26. Coogan MA., Edziyie RE., La Point TW., Venables BJ. Algal bioaccumulation of triclocarban, triclosan, and methyl-triclosan in a North Texas wastewater treatment plantreceiving stream. *Chemosphere*. 67, (2007), 1911-8.
27. Yang L-H., Ying G-G., Su H-C., Stauber JL, Adams MS, Binet MT. Growth-inhibiting effects of 12 antibacterial agents and their mixtures on the freshwater microbial GA pseudokirchneriellacapitata. *Environmental Toxicology and chemistry*. 27, (2008), 1201-8.

28. Ahn KC., Zhao B., Chen J., Cherednichenko G., Sanmarti E., Denison MS., In vitro biologic activities of the antimicrobials triclocarban, its analogs, and triclosan in bioassay screens: receptor-based bioassay screens. *Environmental Health Perspectives*. 116, (2008), 1203-10.
29. Kinney CA., Furlong ET., Kolpin DW., Burkhardt MR., Zaugg SD., Werner SL., Bioaccumulation of pharmaceuticals and other anthropogenic waste indicators in earthworms from agricultural soil amended with biosolid or swine manure. *Environmental Science Technology*. 42, (2008), 1863-70.
30. Lapen DR., Topp E., Metcalfe CD., LI H., Edwards M., Gottschall N., Pharmaceutical and personal care products in tile drainage following land application of municipal biosolids. *Science Total Environment*. 399, (2008), 50-65.
31. Dougherty J., Swarzenski P., Dinicola R., Reinhard M., Occurrence of herbicides and pharmaceutical and personal care products in surface water and groundwater around Liberty Bay, Puget Sound, Washington. *Journal of Environmental Quality*. 39, (2010), 1173-80.
32. Krishnan A., Starhis P., Permuth S., Tokes L. y Feldman D., Bisphenol A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flask during autoclaving. *Endocrine*. 132, (1993), 2279-2286.
33. Sohoni P. y Sumpter, J., Several environmental estrogens are also endrogens. *Journal Endocrinology*. 158, (1998), 327-339.
34. IEH. Environmental o estrogens: consequences to human health and wildlife, Institute Environmental. Health, Leicester, UK. (2005).

35. Hoeger B., Kollner B., Dietrich D. y Hitzfeld B., Water-borne diclofenac affects kidney and gill integrity and selected immune parameters in brown trout (*Salmo trutta f. fario*). *Aquatic Toxicology*. 75, (2005), 53-64.
36. McKinney J. y Waller C., Polychlorinated biphenyls as hormonally active structural analogues. *Environmental Health Perspective*. 102, (1994), 290-297.
37. Damstra T., Barlow S., Kavlock R. y Van Der Kraak G., Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors, An assessment prepared by an expert group on behalf of the World Health Organization, the International Labour Organisation, and the United Nations Environment Programme, International Programme on Chemical Safety. (2005).
38. Dirección General de Giras de la Jefatura del gobierno del Distrito Federal, <http://www.visitasguiadas.df.gob.mx/visitas/residuales/.html>, abril 2012.
39. A. Castillo, A. Peña., Identificación y cuantificación de PPCP'S en aguas residuales por microextracción en fase sólida-cromatografía de gases-espectrometría de masas (MEFS-CG-EM), (2009), pp. 4-29.
40. Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura, Agua-Cultura, información disponible en la página web: <http://www.unesco.org.uy/phi/aguaycultura/es/paises/mexico/pueblo-xochimilcas.html>, consultada en el mes de Agosto de 2012.
41. Rodríguez Ricardo, De la Chinampa a tu mesa, 2011, información disponible en el sitio web: <http://www.delachinampa.mx>, consultado en junio de 2012.

42. Ferrer Imma., García-Reyes Juan., F. Milagros Mezcuca., E. Michael Thurman., Amadeo R. Fernández-Alba., Multi-residue pesticide analysis in fruits and vegetables by liquid chromatography–time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1082, (2005), 81-90.
43. Ana Sanches-Silva, Raquel Send-García, Julia López-Hernández, Perfecto Paseiro-Losada, Determination of triclosan in foodstuffs. *Journal of Separation Science*. 28, (2005), 6572.
44. A. Medvedovici, A. Kot, F. David, P. Sandra. The Use of Supercritical Fluids in Environmental Analysis. *Supercritical Fluid Chromatography with Packed Columns 1998, Vol. 75*, 369-401, Ed. K.
45. M. Kawaguchi, R. Ito, K. Saito, H. Nakazawa. Novel stir bar sorptive extraction methods for environmental and biomedical analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 40, (2006), 500.
46. F. David, P. Sandra. Stir bar sorptive extraction for trace analysis. *Journal of Chromatography A*. 1152, (2007), 54.
47. Sanchez-Rojas F., Bosch-Ojeda C., Cano-Pavon J. M., A Review of Stir Bar Sorptive Extraction. *Chromatographia*. 69, (2009), 79.
48. Tobiszewski M., Mechlinska A., Zygmunt B., Namiesnik J., Green analytical chemistry in sample preparation for determination of trace organic pollutants. *Trends in Analytical Chemistry*. 28, (2009), 943.
49. C. Bicchi, C. Cordero, E. Liberto, P. Rubiolo, B. Sgorbini, F. David, P. Sandra, Dual-phase twisters: A new approach to headspace sorptive extraction and stir bar sorptive extraction. *Journal Chromatography A.*, 1094, (2005), 9.

50. H. Wijaya, D. Ulrich, R. Lestari, K. Schippel, G. Ebert., Identification of Potent Odorants in Different Cultivars of Snake Fruit Using Gass Chromatography-Olfactometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, (2005), 1637.
51. A. Buettner., Investigation of Potent Odorants and Afterodor Development in Two Chardonnay Wines Using the Buccal Odor Screening System (BOSS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, (2004), 2339.
52. A. Isogai, H. Utsunomiya, R. Kanda, H. Iwata, Changes in the Aroma Compounds of Sake during Aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, (2005), 4118.
53. Y. Hou, L. Yang, B. Wang, J. Xu, Y. Yang, Y. Yang, Q. Cao, X. Xie, *Sepu* 24 (2006) 601
54. R. M. Callejon, A. M. Troncoso, M. L. Morales, Analysis for chloroanisoles and chlorophenols in cork by stir bar sorptive extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta*.71, (2007), 2092.
55. A. Strube, F. Welle, *Dtsch. Lebensm. Rundsch.* 101 (2005) 92.
56. E. Coelho, R. Perestrelo, N. R. Neng, J. S. Camara, M. A. Coimbra, J. M. F. Nogueira, S. M. Rocha, Optimisation of stir bar sorptive extraction and liquid desorption combined with large volume injection-gas chromatography quadrupole mass spectrometry for the determination of volatile compounds in wines. *Analytica Chimica Acta*. 624, (2008), 79.
57. F. Luan, A. Mosandl, M. Gubesch, M. Wuest, J., Enantioselective analysis of monoterpenes in different grape varieties during berry ripening using stir bar

- sorptive extraction- and solid phase extraction enantioselective-multidimensional gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1112, (2006), 369.
58. E. Pfannkoch, J. Whitecavage, Elimination of non-volatile sample matrix components after GC injection using a thermal desorber and microvial insert. *Lc Gc North America*. (2003), 37.
59. P. serodio, J. M. F. Nogueira, Multi-residue Screening of Endocrine Disrupters Chemicals in Water Samples by Stir Bar Sorptive Extraction-Liquid Desorption-Capillary Gas Chromatography-Mass Spectrometry Detection. *Analytica Chimica Acta*. 517, (2004), 21.
60. F. Luan, A. Mosandl, M. Münch, M. Wüst, Metabolism of geraniol in grape berry mesocarp of *Vitis vinifera* L. cv. Scheurebe: demonstration of stereoselective reduction, E/Z-isomerization, oxidation and glycosylation. *Phytochemistry*, 66 (2005), 295.
61. G. Ruberto, D. M. Biondi, C. Barbagallo, R. Meli, F. Savoca, Constituents of stem and flower oils of *Helichrysum litoreum* Guss. *Flavour and Fragrance Journal*. 17, (2002), 32.
62. C. Yu, B. Hu J., Sol-gel polydimethylsiloxane/poly(vinylalcohol)-coated stir bar sorptive extraction of organophosphorus pesticides in honey and their determination by large volume injection GC. *Journal of Separation Science and Technology*. 32, (2009), 147.
63. C. Blasco, M. Fernandez, Y. Pico, G. Font, Comparison of solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction for determining six

- organophosphorus insecticides in honey by liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal Chromatography A*. 1030, (2004), 77.
64. L. Wennrich, P. Popp, G. Koller, J. Breuste, Dependence of the synthetic activity of nine immobilized lipases on water activity. *Journal of AOAC International*. 84, (2001), 1194.
65. C. Blasco, G. Font, Y. Pico, Comparison of microextraction procedures to determine pesticides in oranges by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 970, (2002), 201.
66. C. Yu, B. Hu, Sol–gel polydimethylsiloxane/poly(vinylalcohol)-coated stir bar sorptive extraction of organophosphorus pesticides in honey and their determination by large volume injection GC. *Journal of Separation Science and Technology*. 32, (2009), 147.
67. Zuin, V. G., Montero, L., Bauer, C., Popp, P., Stir bar sorptive extraction and high-performance liquid chromatography-fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Mate teas. *Journal of Chromatography A*. 1091, (2005), 2-10.
68. L. Wennrich, P. Popp, J. Breuste, Determination of organochlorine pesticides and chlorobenzenes in fruit and vegetables using subcritical water extraction combined with sorptive enrichment and CGC-MS. *Chromatographia*. 53, (2001), S380.
69. N. Ochiai, K. Sasamoto, S. Daishima, A.C. Heiden, A. Hoffmann, Determination of stale-flavor carbonyl compounds in beer by stir bar sorptive extraction with in-situ derivatization and thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 986, (2003), 101.



70. Salinas, M. R., Zalacain A., Pardo F., Alonso G. L., Stir bar sorptive extraction applied to volatile constituents evolution during *Vitis vinifera* ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, (2004), 4821-4827.
71. A. Tredoux, A. de Villiers, P. Majek, F. Lynen, A. Crouch, P. Sandra, Stir bar sorptive extraction combined with GC-MS analysis and chemometric methods for the classification of South African Wines according to the volatile composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, (2008), 4286.
72. C. R. Demyttenaere Jan, M. Morina Rosa, N. De Kimpe, P. Sandra, Use of headspace solid-phase microextraction and headspace sorptive extraction for the detection of the volatile metabolites produced by toxigenic *Fusarium* species. *Journal of Chromatography A*. 1027, (2004), 147.
73. Skoog D. A., Holler F. J., Mieman, T.A., *Principios de análisis instrumental*, Mc Graw Hill, 5<sup>a</sup> ed, Madrid, 2001.
74. Mc Nair, H. M. & Miller, J. M., *Basic Gas Chromatography*, editorial Jhon Wiley & Sons Inc., New York, 1998.
75. Palmer P. T., *Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, *Enciclopedia de Química Analítica, Teoría, Aplicaciones e Instrumental*, Universidad de San Francisco California, U.S.A., Vol. 13, pág. 11728.