



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**Optimización de la microextracción en
fase sólida (SPME) para la determinación
de BTEX y HAP's en matrices acuosas**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA

PRESENTA

STEFANI PAULIN MARTÍNEZ



Ciudad Universitaria, CDMX

Octubre, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



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: Profesora: **Nuria Esturau Escofet**

VOCAL: Profesora: **Xochiquétzal González Rodríguez**

SECRETARIO: Profesor: **José Elías Becerril Bravo**

1^{er.} SUPLENTE: Profesora: **Elizabeth Reyes López**

2° SUPLENTE: Profesora: **Claudia Inés Rivera Cárdenas**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**Laboratorio de Ingeniería Ambiental, Edificio 5 del Instituto de Ingeniería de la
Universidad Nacional Autónoma de México**

ASESOR DEL TEMA:

José Elías Becerril Bravo

SUSTENTANTE:

Stefani Paulin Martínez



El trabajo experimental fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM que cuenta con certificado de conformidad otorgado por el organismo acreditado Certificación Mexicana, S.C., por haber implementado y mantener un Sistema de Gestión de la Calidad de conformidad con los requisitos de la norma internacional ISO 9001:2015

No. de Certificado CMX C SGC 155 2017, válido en el período del 09 de noviembre de 2017 al 09 de noviembre de 2020

Este proyecto se realizó con el apoyo de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico UNAM a través del Programa de Apoyo a Proyectos para Innovar y Mejorar la Educación (PAPIME 2015)



ÍNDICE

I.	LISTA DE TABLAS	VIII
II.	LISTA DE FIGURAS.....	X
III.	LISTA DE ABREVIATURAS	XII
IV.	RESUMEN	XIV
1	INTRODUCCIÓN	1
2	OBJETIVOS.....	3
2.1	Objetivo general	3
2.2	Objetivos particulares.....	3
3	ANTECEDENTES	4
3.1	Contaminación del agua	4
3.1.1	Panorama general	4
3.1.2	Calidad del agua	4
3.2	Benceno, Tolueno, Etilbenceno y Xileno (BTEX)	6
3.2.1	Propiedades fisicoquímicas de BTEX.....	6
3.2.2	Usos de BTEX	7
3.2.3	Fuentes de BTEX como contaminantes	11
3.2.4	Toxicidad de los BTEX.....	12
3.2.5	Técnicas analíticas para la cuantificación de BTEX en matrices acuosas	14
3.2.6	Normatividad de BTEX	16
3.2.7	Concentraciones encontradas de BTEX en matrices acuosas.....	18
3.3	Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's)	21
3.3.1	Propiedades fisicoquímicas de HAP's	21



3.3.2	Usos de HAP's.....	23
3.3.3	Fuentes de HAP's.....	23
3.3.4	Toxicidad de HAP's.....	31
3.3.5	Técnicas analíticas para la cuantificación de HAP's en matrices acuosas.....	33
3.3.6	Normatividad de HAP's.....	33
3.3.7	Concentraciones encontradas de HAP's en matrices acuosas	37
3.4	Microextracción en fase sólida (SPME).....	40
3.4.1	Historia y fundamento de la microextracción en fase sólida.....	41
3.4.2	Dispositivo para microextracción en fase sólida.....	45
3.4.3	Variables involucradas en la microextracción en fase sólida.....	46
3.4.3.1	Tipo de extracción.....	47
3.4.3.2	Fase de extracción.....	49
3.4.3.3	Tiempo de extracción.....	51
3.4.3.4	Temperatura de extracción	54
3.4.3.5	Agitación.....	54
3.4.3.6	Fuerza iónica.....	55
3.4.3.7	pH.....	56
3.4.3.8	Volumen de extracción.....	56
3.4.3.9	Tiempo y temperatura de desorción.....	57
3.4.4	Cuantificación mediante la microextracción en fase sólida	58
3.4.5	Comparación con otras técnicas de preparación de la muestra.....	59
3.5	Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS) para el análisis de muestras ambientales	63
4	DESARROLLO EXPERIMENTAL	64
4.1	Material, reactivos y equipo	64
4.1.1	Reactivos	64
4.1.2	Estándares.....	64
4.1.3	Instrumentación y equipos	64
4.1.4	Muestras	65
4.2	Desarrollo del método para determinación de BTEX en muestras acuosas	66
4.2.1	Condiciones cromatográficas.....	66
4.2.2	Optimización de la microextracción en fase sólida para la determinación de BTEX en matrices acuosas	67
4.2.2.1	Fase de extracción.....	67



4.2.2.2	Optimización del tiempo, temperatura de extracción y porcentaje de NaCl	68
4.2.2.3	Determinación de la linealidad, precisión, límites de detección y cuantificación	70
4.3	Desarrollo del método para determinación de HAP's en muestras acuosas	70
4.3.1	Condiciones cromatográficas.....	70
4.3.2	Optimización de la microextracción en fase sólida para la determinación de HAP's en matrices acuosas	72
4.3.2.1	Tipo de extracción.....	72
4.3.2.2	Fase de extracción.....	72
4.3.2.3	Optimización del tiempo, temperatura de extracción y porcentaje de NaCl	73
4.3.2.4	Determinación de la linealidad, precisión, límites de detección y cuantificación	75
5	RESULTADOS.....	76
5.1	Desarrollo del método para la determinación de BTEX.....	76
5.1.1	Análisis cromatográfico.....	76
5.1.2	Optimización de SPME.....	78
5.1.2.1	Fase de extracción.....	78
5.1.2.2	Tiempo, temperatura y concentración de NaCl.....	79
5.1.2.3	Determinación de la linealidad, precisión, límite de detección y cuantificación	85
5.1.3	Análisis de muestras acuosas mediante el uso de la técnica HS-SPME-GC-MS para la determinación de BTEX.....	89
5.2	Desarrollo del método para la determinación de HAP's.....	93
5.2.1	Análisis cromatográfico.....	93
5.2.2	Optimización de SPME.....	95
5.2.2.1	Tipo de extracción.....	95
5.2.2.2	Fase de extracción.....	96
5.2.2.3	Tiempo, temperatura y concentración de NaCl.....	98
5.2.2.4	Determinación de la linealidad, precisión, límite de detección y cuantificación	109
5.2.3	Análisis de muestras acuosas mediante el uso de la técnica DI-SPME-GC-MS para la determinación de HAP's	114
6	CONCLUSIONES	116
7	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	118



I. Lista de tablas

Tabla 3-2 Producción mundial anual de BTEX.....	7
Tabla 3-1 Propiedades fisicoquímicas de BTEX	8
Tabla 3-3 Ingesta diaria estimada de BTEX.....	12
Tabla 3-4 Lugar de BTEX en la lista de sustancias prioritarias de la ATSDR.....	13
Tabla 3-5 Parámetros de algunos métodos de tratamiento de la muestra aplicadas en la determinación de BTEX.....	15
Tabla 3-6 Límites permisibles en mg L ⁻¹ de BTEX en distintos países	17
Tabla 3-7 Concentraciones en µg L ⁻¹ determinadas de BTEX en diferentes matrices acuosas	19
Tabla 3-8 Propiedades fisicoquímicas de los HAP's determinados	24
Tabla 3-9 Técnicas analíticas para la cuantificación de HAP's en matrices acuosas	34
Tabla 3-10 Clasificación de HAP's por la IARC.....	35
Tabla 3-11 Lugar de HAP's en la lista de sustancias prioritarias de la ASTDR	36
Tabla 3-12 Concentraciones en ng L ⁻¹ encontradas en diferentes matrices acuosas a lo largo del mundo	38
Tabla 3-13 Características de las fases de extracción comercialmente disponibles para SPME – GC.....	52
Tabla 3-14 Métodos de agitación usados comunmente en SPME.....	55
Tabla 3-15 Resumen comparativo entre microextracción en fase sólida (SPME), extracción en fase sólida (SPE) y extracción líquido-líquido (LLE)	60
Tabla 4-1 Iones fragmento seleccionados para BTEX para el análisis por SIM	67
Tabla 4-2 Niveles de las variables usadas en el diseño experimental	69
Tabla 4-3 Diseño experimental 2 ³ para la optimización de porcentaje de NaCl, tiempo y temperatura de extracción para el análisis de BTEX.....	69
Tabla 4-4 Iones fragmento seleccionados para HAP's para el análisis por SIM....	71
Tabla 4-5 Niveles de las variables usadas en el diseño experimental	74



Tabla 4-6 Diseño experimental para la optimización del porcentaje de NaCl, tiempo y temperatura de extracción para el análisis de HAP's.....	74
Tabla 5-1 Tiempo de retención para BTEX.....	77
Tabla 5-2 Variables óptimas para la determinación de BTEX por HS-SPME-GC-MS	85
Tabla 5-3 Ajuste lineal para BTEX	88
Tabla 5-4 Valores de precisión para BTEX	88
Tabla 5-5 Límites de detección y cuantificación para BTEX determinados por HS-SPME-GC-MS	89
Tabla 5-6 Resultados de las muestras acuosas analizadas por HS-SPME-GC-MS para la determinación de BTEX.....	91
Tabla 5-7 Tiempo de retención de HAP's.....	94
Tabla 5-8 Valores óptimos para la determinación de HAP's por DI-SPME-GC-MS	108
Tabla 5-9 Ajuste lineal para HAP's	109
Tabla 5-10 Valores de precisión para HAP's.....	113
Tabla 5-11 Límites de detección y cuantificación para HAP's determinados por DI-SPME-GC-MS	114
Tabla 5-12 Resultados de las muestras acuosas analizadas por DI-SPME-GC-MS para la determinación de HAP's	115



II. Lista de figuras

Figura 3-1 (a) Porcentaje de BTEX en gasolina, (b) porcentaje específico de BTEX en gasolina.	10
Figura 3-2 Arreglo molecular de los hidrocarburos aromáticos policíclicos	22
Figura 3-3 Emisiones promedio de las principales fuentes de HAP's	31
Figura 3-4 Diagrama esquemático de un dispositivo comercial para SPME.....	46
Figura 3-5 Esquema de una fase de extracción comercial para SPME	50
Figura 3-6 Efecto del tiempo en la microextracción en fase sólida	53
Figura 4-1 Programa de temperatura para la determinación de BTEX.....	67
Figura 4-2 Programa de temperatura para el análisis de HAP's	72
Figura 5-1 Cromatograma por barrido total de iones (SCAN) de BTEX extraídos por HS-SPME	76
Figura 5-2 Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) de BTEX extraídos por HS-SPME	77
Figura 5-3 Comparación del área cromatográfica obtenida con las diferentes fases de extracción evaluadas.....	78
Figura 5-4 Gráficos de Pareto estandarizados para BTEX derivados del diseño experimental	81
Figura 5-5 Gráficos de efectos principales para BTEX	82
Figura 5-6 Superficies de respuesta de BTEX	83
Figura 5-7 Gráfico de deseabilidad para BTEX.....	84
Figura 5-8 Curvas de calibración de 10 – 100 ng mL ⁻¹ para BTEX.....	86
Figura 5-9 Curvas de calibración de 100 - 850 ng mL ⁻¹ para BTEX.....	87
Figura 5-10 Cromatograma de BTEX extraídos por HS-SPME de una muestra de agua potable del manantial de Cerro Colorado, Hidalgo.....	90
Figura 5-11 Cromatograma de BTEX extraídos por HS-SPME de una muestra de agua potable de la alcaldía Venustiano Carranza de la Ciudad de México	90
Figura 5-12 Cromatograma por barrido total de iones (SCAN) de HAP's extraídos por DI-SPME	93



Figura 5-13 Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) de HAP's extraídos por DI-SPME.....	94
Figura 5-14 Evaluación del tipo de extracción de los HAP's.....	96
Figura 5-15 Comparación del área cromatográfica obtenida con las diferentes fases de extracción evaluadas.....	97
Figura 5-16 Gráficos de Pareto para HAP's derivados del diseño experimental.....	99
Figura 5-17 Gráficos de efectos principales para HAP's.....	102
Figura 5-18 Superficies de respuesta de los HAP's analizados.....	105
Figura 5-19 Gráfico de deseabilidad para HAP's.....	108
Figura 5-20 Curvas de calibración de 10 a 100 ng mL ⁻¹ de HAP's.....	110



III. Lista de abreviaturas

ATSDR Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (Agency for Toxic Substances and Disease Registry)

BTEX Benceno, tolueno, etilbenceno, o-xileno, m-xileno, p-xileno

CAR Carboxen

DAI Inyección acuosa directa (direct aqueous injection)

DI- Microextracción en fase sólida por inmersión directa (direct immersion
SPME solid-phase microextraction)

DLLME Microextracción líquido- líquido dispersiva (dispersive liquid-liquid
microextraction)

DVB Divinilbenceno

EPA Agencia de Protección ambiental

FID Detector de ionización de flama (flame ionization detector)

FLD Detector de fluorescencia (fluorescence detector)

GC Cromatografía de gases (gas chromatography)

HAP's Hidrocarburos aromáticos policíclicos

HMW Alto peso molecular (high molecular weight)

HPLC Cromatografía de líquidos de alta resolución (High-performance liquid
chromatography)

HS Espacio cabeza (headspace)

HS- Microextracción en fase sólida en espacio de cabeza (headspace solid-
SPME phase microextraction)

IARC Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (International
Agency for Research on Cancer)

LMW Bajo peso molecular (low molecular weight)

LPME Microextracción en fase líquida (Liquid-phase microextraction)

LVI Inyección de gran volumen (large volume injection)



MS	Espectrometría de masas (Mass spectrometry)
NC	No cuantificable
ND	No detectable
NR	No reportado
P&T	Purga y trampa
PA	Poliacrilato
PDMS	Polidimetilsiloxano
PID	Detector de fotoionización (photoionization detector")
POP's	Contaminantes orgánicos persistentes (Persistent organic pollutants)
SBSE	Extracción por sorción en barra (stir bar sorptive extraction)
SPE	Extracción en fase sólida
SPME	Microextracción en fase sólida
VOC's	Compuestos orgánicos volátiles
OMS	Organización Mundial de la Salud (World Health Organization)



IV. Resumen

En este trabajo se presenta la optimización de dos métodos analíticos basados en la técnica de microextracción en fase sólida (SPME) seguido del análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) para la determinación de hidrocarburos monoaromáticos (BTEX) e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's) en matrices acuosas. Los métodos se desarrollaron con la finalidad de implantarlos en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM para emplearlos en la evaluación de la calidad de agua potable y monitoreo de muestras ambientales.

Los hidrocarburos monoaromáticos analizados fueron benceno, tolueno, etilbenceno, o-xileno, m-xileno, p-xileno (BTEX) y un grupo de 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos que incluye: acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(g,h,i)perileno, benzo(k)fluoranteno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, fluoranteno, fluoreno, indeno(1,2,3-cd)pireno, naftaleno, 2-metilnaftaleno, fenantreno y pireno. Ambos grupos son considerados contaminantes ambientales.

La optimización de SPME se llevó a cabo evaluando las variables de tipo de extracción, fase de extracción, temperatura y tiempo de extracción, concentración de NaCl y tiempo de desorción. Además, se establecieron las condiciones del análisis cromatográfico necesario para llevar a cabo la determinación de ambos grupos de hidrocarburos.

Se usó un diseño experimental factorial 2^k con tres factores, para la optimización conjunta del tiempo de extracción, temperatura de extracción y concentración de NaCl. Se evaluaron los valores de linealidad, precisión, límites de detección y cuantificación para cada metodología.

Los métodos desarrollados se aplicaron a muestras de agua potable de la Ciudad de México y del Estado de Hidalgo, muestras de agua superficial del río Tula y de



agua residual de la planta de tratamiento de agua de Cerro de la Estrella. Los resultados del análisis de estas muestras se encuentran por debajo del límite de cuantificación o no se detectan, concluyendo que no hay presencia significativa de BTEX y HAP's en las mismas. Por otro lado, las muestras analizadas están por debajo del límite máximo permisible establecido para BTEX en agua potable por la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 modificación 2000 - Salud ambiental, agua para uso y consumo humano – límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.



1 Introducción

Recientemente se han incrementado las preocupaciones en torno a problemas relacionados con el agua. Debido al desarrollo industrial y crecimiento poblacional, se ha extendido la demanda de agua potable y también ha aumentado considerablemente la contaminación de agua superficial y subterránea. Existe una amplia lista de compuestos químicos considerados contaminantes y el número va en aumento, sin embargo, muchos de estos contaminantes se encuentran en concentraciones a niveles traza (del orden de ng L^{-1} – $\mu\text{g L}^{-1}$), lo que dificulta su detección y cuantificación, creando la necesidad de desarrollar metodologías analíticas con la sensibilidad adecuada para la determinación de estos.

Por otro lado, se ha demostrado que en muchas ocasiones las metodologías analíticas consumen tiempo y recursos, particularmente dicho gasto está concentrado en la preparación de la muestra, que es necesaria para su análisis instrumental. Derivado de este proceso se pueden generar una gran cantidad de residuos químicos que pueden presentar cierta toxicidad para el medio ambiente y para el ser humano.

Debido a lo anterior, las investigaciones se han centrado en el desarrollo de metodologías de extracción que reduzcan el uso de reactivos químicos, la producción de desechos y el tiempo de análisis, sin comprometer la sensibilidad del método. Siguiendo la filosofía de la química analítica verde, han surgido nuevas técnicas de extracción, entre ellas destaca la microextracción en fase sólida (SPME), que integra los pasos de extracción, concentración e introducción de la muestra en un único paso y dispositivo.

Entre los contaminantes presentes en agua se encuentran dos grandes grupos, los hidrocarburos monoaromáticos, de los que se sobresale el grupo BTEX, y los



hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's). Estos contaminantes poseen propiedades fisicoquímicas variadas, por lo que es necesario una técnica de extracción altamente sensible para poder llevar a cabo la identificación y cuantificación de estos grupos de contaminantes.

A pesar de los efectos nocivos a la salud que puede provocar la ingesta y la exposición a estos contaminantes, sólo algunos presentan un límite máximo permisible que se encuentra en el nivel de $\mu\text{g L}^{-1}$ establecido en la norma oficial mexicana de agua para uso y consumo humano NOM-127-SSA1-1994 (modificación 2000).

Los contaminantes estudiados pueden estar presentes en agua provenientes de fuentes naturales o fuentes antropogénicas, cada uno de ellos presenta diferente nivel de movilidad, bioacumulación y persistencia en el ambiente. Lamentablemente, los métodos de potabilización empleados habitualmente no son eficientes para la remoción de estos, por lo que pueden entrar en contacto con la población por distintas rutas de exposición.

En este trabajo se optimizaron metodologías analíticas para la determinación de BTEX y HAP's en matrices acuosas mediante el uso de microextracción en fase sólida (SPME) y análisis mediante cromatografía de gases acoplado a masas (GC-MS). La metodología desarrollada es apropiada para la evaluación del límite máximo permisible de BTEX establecido en la NOM-127-SSA1-1994 (modificación 2000).

Los métodos desarrollados requieren un volumen de muestra reducido (10 mL), no generan residuos químicos y presentan buenas características analíticas por lo que se implantaron en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM como métodos para la evaluación de la calidad de agua potable y monitoreo de muestras ambientales acuosas.



2 Objetivos

2.1 Objetivo general

Implementar metodologías analíticas en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental (LIA) del Instituto de Ingeniería de la UNAM, para la determinación de benceno, tolueno, etilbenceno, o-xileno, m-xileno, p-xileno (BTEX) y 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's) en matrices acuosas, mediante el uso de microextracción en fase sólida (SPME) seguido de cromatografía de gases acoplada a un detector selectivo de masas (GC-MS).

2.2 Objetivos particulares

- Optimizar los parámetros pertinentes en SPME para el análisis de BTEX y HAP's.
- Evaluar la linealidad, precisión, límites de detección y cuantificación, de ambos métodos.
- Aplicar los métodos desarrollados a muestras acuosas ambientales y de agua potable.



3 Antecedentes

3.1 Contaminación del agua

3.1.1 Panorama general

La disponibilidad de agua promedio anual en el mundo es de aproximadamente 1 386 billones de hm^3 , de los cuales el 97.5 % es agua salada y solo el 2.5 %, es decir, 35 billones de hm^3 es agua dulce, sin embargo, únicamente el 0.77 % se encuentra como agua dulce accesible para el ser humano (CONAGUA, 2018).

Mientras que durante el siglo XX la población a nivel mundial se triplicó, las extracciones de agua se sextuplicaron, aumentando la presión sobre los recursos hídricos (CONAGUA, 2018). Siguiendo con la tendencia de crecimiento poblacional y aunado al cambio climático, se proyecta que dicha presión sobre los recursos hídricos continúe en aumento.

El agua es necesaria de diversas formas en las actividades humanas; a nivel mundial el principal uso del agua es el agrícola, representado el 70 % de la extracción total. En México la cifra no es muy diferente, ya que el 76 % del agua extraída se usa en el ámbito agrícola, seguido del abastecimiento público con el 14.4 % y en menor cantidad el área industrial (4.9 %) y eléctrica (4.7 %) (CONAGUA, 2018).

3.1.2 Calidad del agua

La provisión de agua para el consumo humano en la cantidad y calidad necesaria incide directamente en la salud y bienestar de la población. La disponibilidad de agua no sólo depende de la cantidad sino también de la calidad del recurso; la baja



calidad del agua inhibe su empleo para diversos usos, eleva el costo de los sistemas de potabilización o en casos extremos los torna no aptos para su uso, aún cuando esté disponible en cantidad.

La calidad del agua se determina por medio de la caracterización física, química y biológica de muestras de agua y su comparación con normas o estándares de calidad establecidos para un uso específico (ANEAS, 2019).

Los avances científicos y tecnológicos han permitido el desarrollo de técnicas analíticas y procesos capaces de identificar, cuantificar e incluso remover una amplia lista de compuestos químicos (Jiménez Cisneros, 2001), además se han establecido un mayor número de parámetros de calidad para el agua y son cada vez más estrictos. A pesar del desarrollo de nuevas técnicas para el análisis de la calidad de agua, en México estas no se emplean de forma común ni forman parte de normas o políticas, por lo que nuestro país presenta algunas desventajas en comparación con estándares internacionales. Los indicadores usados actualmente en México suelen dar una idea optimista de la calidad del agua, no obstante, cuando se emplea un criterio más estricto, por ejemplo, estándares internacionales, muestran un panorama muy distinto.

El origen de la contaminación del agua es muy variado, sin embargo, se identifican como principales fuentes de contaminantes químicos los desechos urbanos e industriales, residuos provenientes de la agricultura y la minería, los derrames de sustancias tóxicas (accidentales o intencionales), derrames de petróleo, efluentes y residuos de plantas de tratamiento de agua, entre otros.

El acceso a agua libre de contaminantes químicos y microbiológicos es de vital importancia. Los riesgos a la salud asociados a compuestos químicos presentes en agua de consumo humano se deben principalmente a la capacidad de estos para producir efectos adversos después de períodos de exposición prolongados. Al evaluar los posibles efectos a la salud de compuestos químicos considerados como contaminantes presentes en agua se han propuesto valores máximos permisibles con la finalidad de vigilar la calidad del agua (OMS, 2011).



Actualmente, algunos países y organizaciones de protección ambiental han establecido listas de compuestos que constituyen una prioridad para el control de la calidad del agua. Los diferentes criterios establecidos provocaron que se definieran diferente número, tipo de compuestos y límites máximos permisibles en cada una de las listas. En México no se ha definido una lista oficial de sustancias tóxicas de atención prioritaria en cuerpos de agua (Jiménez Cisneros, 2001). Los límites máximos permisibles establecidos para agua potable de diferentes compuestos químicos se pueden encontrar en la NOM-127-SCFI-1994 modificación 2000 - Salud ambiental, agua para uso y consumo humano – límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.

3.2 Benceno, Tolueno, Etilbenceno y Xileno (BTEX)

Benceno, **Tolueno**, **Etilbenceno**, **o-Xileno**, **m-Xileno** y **p-Xileno** son hidrocarburos monoaromáticos pertenecientes al conjunto de compuestos aromáticos volátiles (VOC's, por sus siglas en inglés). La abreviación **BTEX** hace referencia a este grupo de compuestos químicos.

Estos hidrocarburos presentan gran potencial como contaminantes debido a su alta concentración en gasolina, uso en una amplia gama de productos de consumo, solubilidad en agua y efectos nocivos para la salud. Por tal motivo se han encontrado en múltiples matrices ambientales (aire, agua, suelos y sedimentos).

3.2.1 Propiedades fisicoquímicas de BTEX

BTEX pertenece a un grupo de compuestos denominados VOC's que se caracterizan por presentar alta volatilidad a condiciones ambientales. En general poseen propiedades fisicoquímicas y toxicológicas que los convierte en blancos de monitoreo ambiental (Chary & Fernandez-Alba, 2012). Particularmente BTEX son compuestos monoaromáticos considerados (especialmente el benceno) como especies no reactivas, sin embargo, bajo algunas condiciones pueden llevar a cabo reacciones de hidrogenación y sustitución (Moothi, 2017). En general presentan la habilidad de penetrar membranas biológicas y acumularse en tejidos grasos.



En la Tabla 3-2 se enlistan las principales propiedades fisicoquímicas de BTEX, si bien son compuestos hidrofóbicos, pequeñas cantidades pueden disolverse en agua debido a su bajo coeficiente octanol-agua, siendo el benceno el compuesto más soluble en agua de esta serie. La solubilidad en agua permite el movimiento y distribución de estos compuestos químicos en agua y en comparación con otros hidrocarburos tienen la capacidad de migrar eficientemente a agua subterránea (Alberici, Zampronio, Poppi, & Eberlin, 2002).

BTEX presentan una constante de Henry moderadamente baja, este valor describe el movimiento del compuesto del agua al aire y viceversa; altos valores de esta constante significan que el compuesto tendrá mayor preferencia por la fase gas, por el contrario, valores bajos indican que el compuesto permanecerá en la fase acuosa (Mitra & Roy, 2011). El o-xileno es el compuesto que tiene mayor tendencia a permanecer en la fase acuosa en comparación con los otros compuestos, por lo tanto es más persistente en ambientes acuosos.

3.2.2 Usos de BTEX

BTEX son compuestos químicos de gran importancia para la industria, tienen una elevada producción mundial anual (Tabla 3-1) y son componentes naturales de la gasolina, por estas razones son contaminantes ambientales comunes.

Tabla 3-1 Producción mundial anual de BTEX

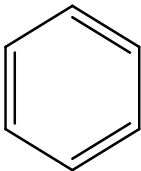
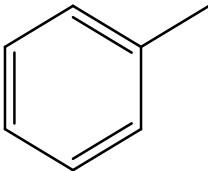
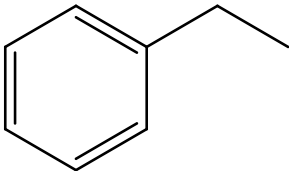
Compuesto	Producción anual mundial (millones de toneladas)
Benceno	8 – 10
Tolueno	5 – 10
Etilbenceno	5 – 10
Xilenos¹	10 – 15

Fuente: (Leusch & Bartkow, 2010)

¹ Mezcla de o-xileno, m-xileno, p-xileno



Tabla 3-2 Propiedades fisicoquímicas de BTEX

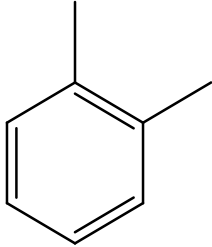
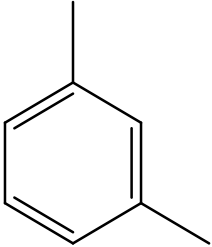
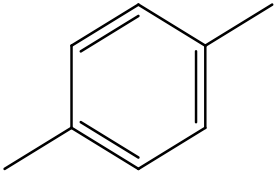
	Benceno	Tolueno	Etilbenceno
Estructura química			
Fórmula química	C ₆ H ₆	C ₇ H ₈	C ₈ H ₁₀
CAS NR	71-43-2	108-88-3	100-41-4
Peso molecular (g mol⁻¹)	78.112	92.139	106.165
Punto de fusión (°C)	5.558	-94.9	-94.95
Punto de ebullición (°C)	80.08	110.6	136.2
Densidad (g cm⁻³ a 20°C)	0.8756	0.8623	0.8626
Solubilidad en agua (mg L⁻¹ a 25 °C)	1770	530	169
Presión de Vapor (Pa a 25 °C)	13100	3800	1280
H (Pa m³ mol⁻¹ a 25 °C)	556	612	583
Log K_{ow} a 25 °C	2.13	2.73	3.15

Fuentes: (Haynes, 2014; Ma, Mackay, Chi Lee, & Ying Shiu, 2006)

CAS NR: Número de Registro CAS; H: Constante de Henry; Log K_{ow}: logaritmo de la coeficiente octanol-agua



Continuación Tabla 3-2 Propiedades fisicoquímicas de BTEX

	o-Xileno	m-Xileno	p-Xileno
Estructura química			
Fórmula química	C ₈ H ₁₀	C ₈ H ₁₀	C ₈ H ₁₀
CAS NR	95-47-6	108-38-3	106-42-3
Peso molecular (g mol⁻¹)	106.165	106.165	106.165
Punto de fusión (°C)	-25.16	-47.85	13.3
Punto de ebullición (°C)	144.5	139.1	138.3
Densidad (g cm⁻³ a 20°C)	0.8802	0.8698	0.86104
Solubilidad en agua (mg L⁻¹ a 25 °C)	173	160	180
Presión de Vapor (Pa a 25 °C)	885	1110	1180
H (Pa m³ mol⁻¹ a 25 °C)	372	665	669.1
Log K_{ow} a 25 °C	3.12	3.20	3.15

Fuentes: (Haynes, 2014; Ma et al., 2006)

CAS NR: Número de Registro CAS; H: Constante de Henry; Log K_{ow}: logaritmo de la coeficiente octanol-agua



Su principal uso es en la industria de combustibles fósiles; se recuperan durante la extracción de petróleo y se usan durante el proceso de refinado de productos derivados del mismo. También son importantes en la manufactura de pinturas, plásticos, insecticidas, adhesivos, tintas, detergentes, desengrasantes, colorantes, explosivos, barnices, resinas, productos farmacéuticos, cosméticos y de cuidado personal. Minoritariamente se usan en la industria agrícola, textil y del cuero y como intermediarios y disolventes en la industria química (Bolden, Kwiatkowski, & Colborn, 2015; Moothi, 2017). Es claro que BTEX se encuentran como componentes de muchos productos de uso diario.

El contenido de BTEX en el petróleo depende del lugar, tipo y método de producción. De acuerdo con Leusch y Bartkow (2010) en el petróleo crudo el benceno representa el 1-2 %, el tolueno 5-8 %, el etilbenceno 1-2 % y los xilenos 7-10 %, mientras que Serrano y Gallego (2004) indican que en gasolina el contenido total de BTEX es de aproximadamente 18 % (m/m) y de ese contenido el benceno constituye el 11 %, el tolueno 26 %, el etilbenceno 11 %, el o-xileno 12 %, el m-xileno 31 % y el p-xileno 9% (todos los porcentajes se expresan en % m/m).

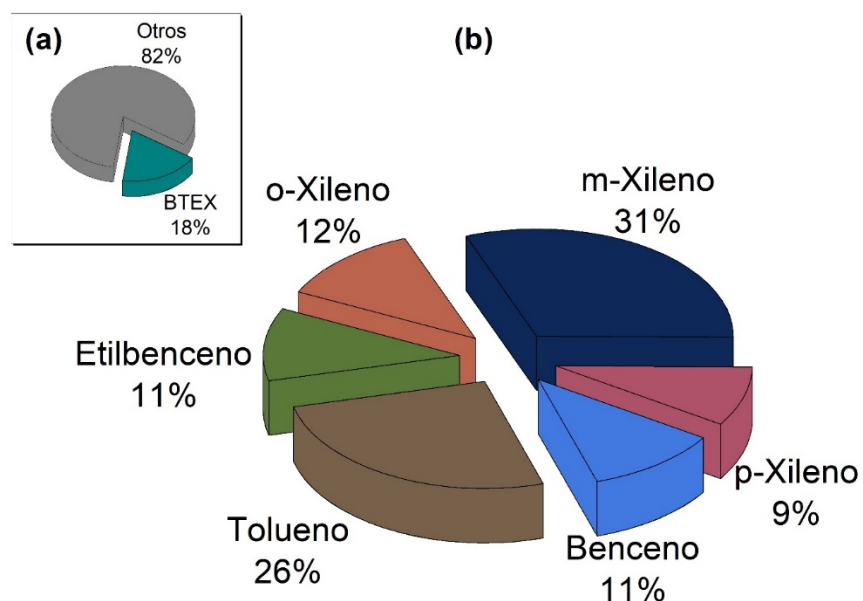


Figura 3-1 (a) Porcentaje de BTEX en gasolina, (b) porcentaje específico de BTEX en gasolina.



3.2.3 Fuentes de BTEX como contaminantes

Hay fuentes naturales de BTEX, como las emisiones de gas volcánico e incendios forestales (Leusch & Bartkow, 2010), sin embargo, existe una gran preocupación porque el uso industrial masivo de BTEX provoca que se encuentren abundantemente en el ambiente y en otras fuentes, como en efluentes de industrias petroquímicas, petroleras y del gas. Debido a su presencia en una gran variedad de productos de consumo, hay un incremento en la concentración de estos compuestos en agua residual y residuos sólidos municipales (Moothi, 2017).

La mayor fuente antropogénica de BTEX en el ambiente son las emisiones provocadas por la combustión de gasolina y otros combustibles fósiles en vehículos y motores; sólo del 5 al 10 % de las emisiones de BTEX a la atmósfera provienen de fuentes no móviles. Las pérdidas durante procesos de refinación de petróleo, derrames y el humo de cigarro también son fuentes importantes de emisiones de BTEX (Bolden et al., 2015; Leusch & Bartkow, 2010).

BTEX muestra cierta persistencia en el aire y son precursores de otros contaminantes ambientales como ozono troposférico, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's) y partículas ultra finas (Bolden et al., 2015). Una vez que están presentes en el aire pueden migrar al agua mediante su transporte a través de lluvia (Moothi, 2017).

Por otro lado, los BTEX puede entrar al suelo, sedimento y agua subterránea por medio de derrames accidentales o fugas de combustibles y productos derivados del petróleo y/o por la disposición inadecuada de residuos industriales que los contengan (Flórez Menéndez, Fernández Sánchez, Sánchez Uría, Fernández Martínez, & Sanz-Medel, 2000). En derrames, los BTEX pueden ser transportados por largas distancias causando su persistencia en agua y suelo (Moothi, 2017)

En particular las fuentes de contaminación en agua incluyen descargas de efluentes industriales (como consecuencia de una mala regulación ambiental) derrames accidentales de gasolina y fugas en los tanques subterráneos de almacenamiento (Moothi, 2017). Cuando la gasolina entra en contacto con agua, los BTEX



representan el 90 % de los componentes de la fracción soluble en agua de la gasolina (Mitra & Roy, 2011), por lo que pueden encontrarse en agua superficial y subterránea en sitios contaminados, en la vecindad de derrames de petróleo o en yacimientos de agua que se encuentren cercanos a depósitos de gas natural, carbón o petróleo (Moothi, 2017). Una vez en el agua subterránea, tienen la capacidad de migrar rápidamente lejos del sitio de derrame (Gaines, Ledford, & Stuart, 1998). Por ejemplo, el benceno puede encontrarse a 0.8 ng L^{-1} en agua marina vecina a depósitos de gas y petróleo (Leusch & Bartkow, 2010).

3.2.4 Toxicidad de los BTEX

La exposición a BTEX se lleva a cabo principalmente por la respiración de aire contaminado, particularmente en áreas con mucho tráfico, estaciones de petróleo y cerca de fumadores (el humo de cigarro puede contribuir con la mitad de la exposición diaria total) (Leusch & Bartkow, 2010), sin embargo, también puede ocurrir por derrames en la piel, ingesta de agua potable o alimentos contaminados, por la ducha o lavandería (por la volatilización de BTEX) (Mitra & Roy, 2011). Por otro lado, existen reportes de bioacumulación de BTEX en organismos marinos, incluso a bajas concentraciones (Moothi, 2017). En la Tabla 3-3 se muestra una estimación de la ingesta diaria de un ser humano promedio a través de distintas rutas de exposición (Leusch & Bartkow, 2010).

Tabla 3-3 Ingesta diaria estimada de BTEX

	Benceno ($\mu\text{g/d}$)	Tolueno ($\mu\text{g/d}$)	Etilbenceno ($\mu\text{g/d}$)	Xilenos ($\mu\text{g/d}$)
Respiración	90 – 1300	2 – 12000	2 – 3600	70 – 2000
Fumar cigarros	1800	2000	40	Hasta 190
Comida	Hasta 250	Hasta 64	NA	NA
Agua potable	Hasta 10	Hasta 43	Hasta 20	Hasta 24

Fuente: (Leusch & Bartkow, 2010)

Los efectos nocivos a la salud relacionados con la exposición a BTEX son irritación en la piel y de otros órganos, problemas en el sistema nervioso central (SNC), por



ejemplo, cansancio, mareos, dolor de cabeza, somnolencia, pérdida de la coordinación y efectos en el sistema respiratorio (irritación de ojos y nariz). La exposición prolongada a estos compuestos también puede causar daño grave en hígado, riñones y sistema sanguíneo, morfología anormal de espermias, número y actividad reducida de los mismos y alteraciones en anticuerpos y células inmunes (Bolden et al., 2015; Mitra & Roy, 2011; Moothi, 2017).

La exposición a BTEX a las concentraciones encontradas en el ambiente ocasionan anomalías en el espermia, reducción del crecimiento fetal, enfermedades cardiovasculares, disfunción respiratoria, asma, sensibilización a antígenos comunes entre otros. Algunos estudios sugieren que pueden tener propiedades como disruptores endocrinos (sobre todo en las etapas prenatales y de desarrollo infantil), incluso a niveles por debajo de las concentraciones seguras establecidas por la EPA, sin embargo, no se han llevado a cabo estudios *in vivo* para demostrar esto (Bolden et al., 2015).

Por sus efectos en la salud, los BTEX están enlistados como sustancias prioritarias por la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades de EU (ATSDR por sus siglas en inglés). En la siguiente tabla se muestra el lugar que ocupan BTEX en dicha lista (ATSDR, consultado en 2019 en <https://www.atsdr.cdc.gov>).

Tabla 3-4 Lugar de BTEX en la lista de sustancias prioritarias de la ATSDR

Compuesto	Lugar de la lista
Benceno	6
Tolueno	74
Etilbenceno	132
Xilenos²	65

Consultado en <https://www.atsdr.cdc.gov>

² Mezcla de los isómeros del xileno



3.2.5 Técnicas analíticas para la cuantificación de BTEX en matrices acuosas

Una metodología analítica es un proceso que consta de varios pasos, como son: muestreo, tratamiento de la muestra (pre-concentración, extracción y limpieza), análisis instrumental y análisis de resultados. El diseño de una metodología debe tomar en cuenta varios aspectos importantes, por ejemplo, el propósito de la metodología, propiedades fisicoquímicas y nivel de concentración del o los analitos, naturaleza de la matriz, el equipo disponible y el número de muestras que serán analizadas. Debido a lo anterior existe una necesidad latente de desarrollar métodos analíticos rápidos, confiables, sensibles y exactos.

En el caso del análisis de muestras ambientales se requieren métodos que permitan cuantificar compuestos a concentraciones menores a los niveles máximos permitidos por las agencias ambientales y gubernamentales, esto conduce a una problemática, ya que las matrices ambientales suelen ser complejas, haciendo que la preparación de la muestra sea el paso que consume más tiempo y recursos. Existen técnicas analíticas para la preparación de la muestra que se aplican ampliamente al análisis de muestras ambientales; generalmente estas técnicas están acompañadas de análisis por cromatografía de gases con el detector adecuado.

Para el análisis de BTEX se han desarrollado múltiples métodos de análisis en todo tipo de muestras ambientales (agua, aire, suelo, sedimentos), los métodos más comunes incluyen purga y trampa (P&T), espacio de cabeza (HS) o inyección acuosa directa (DAI) aunados a cromatografía de gases (Arambarri, Lasa, Garcia, & Millán, 2004). Los métodos convencionales para analizar BTEX son confiables y tienen buenos parámetros analíticos, pero en general son técnicas complejas que implican una labor intensiva, consumen tiempo, requieren un muestreo complicado y equipo especializado (habitualmente caro). Esto provoca que el monitoreo de la calidad de agua mediante estas técnicas no esté al alcance de todos, por lo que puede provocar una calidad del agua pobre (Baimatova et al., 2016).



En la Tabla 3.5 se muestran algunas técnicas de preparación de la muestra que son empleadas para la determinación de BTEX en matrices ambientales acuosas. Si bien la mayoría proporciona los límites de detección adecuados, existen algunas otras características que las vuelve deficientes, por ejemplo, el tiempo que consumen o la clase y cantidad de reactivos que son necesarios, así como los residuos que son producidos.

Tabla 3-5 Parámetros de algunos métodos de tratamiento de la muestra aplicadas en la determinación de BTEX

Método	Límites de detección ng mL⁻¹	Precisión (% CV)	Linealidad ng mL⁻¹	Referencia
HS	1 – 2	4 – 5	10 – 8000	(Flórez Menéndez et al., 2000)
DI – SPME	0.2 – 1	4 – 8	2 – 2000	(Flórez Menéndez et al., 2000)
HS – SPME	0.08 – 0.6	3 – 7	0.8 – 2000	(Flórez Menéndez et al., 2000)
HS-SPME GC-FID	0.07 – 0.02	2.6 - 8.5	NR	(Arambarri et al., 2004)
HS GC-PID-FID	0.22 – 7.48	5.62 – 8.19	0.50 – 250	(Cavalcante, de Andrade, Marins, & Oliveira, 2010)
P&T GC-MS	0.05 – 0.1	NR	NR	(Nikolaou, Golfinopoulos, Kostopoulou, Kolokythas, & Lekkas, 2002)
HS GC-PID-FID	0.11 – 0.51	0.01 – 24.6	1 – 400	(Fernandes, Gouveia, Grassi, Crespo, & Giovanela, 2014)
DAI-GC-MS	0.14 – 3.1	12 – 31	3 – 520	(Aeppli, Berg, Hofstetter, Kipfer, & Schwarzenbach, 2008)
HS-SPME GC-FID	0.05-0.28	2.78 – 4.23	2 – 200	(Gaujac, Emídio, Navickiene, Ferreira, & Dórea, 2008)



Continuación Tabla 3-5 Parámetros de algunos métodos de tratamiento de la muestra aplicadas en la determinación de BTEX

Método	Límites de detección ng mL⁻¹	Precisión (% CV)	Linealidad ng mL⁻¹	Referencia
DAI GC-FID	0.6 – 1.1	NR	5 – 5000	(Kubinec et al., 2005)
HF-LPME GC-FID	6 – 30	2.02 – 4.61	50 – 20000	(Sarafraz-Yazdi, Amiri, & Es'haghi, 2008)
SPE-DLLME GC-FID	0.5 - 1.1	1.4 – 1.9	5 – 1100	(Khajeh, Azarsa, & Rakhshanipour, 2015)
LPME GC-FID	0.002 – 0.01	3.94 – 6.41	0.10 – 300	(Faraji, Tajbakhsh, & Helalizadeh, 2012)
AA-DLLME	6.0 – 9.0	2.79 – 5.87	50 – 2600	(Rahmani, Kaykhahi, Safari, Ansari, & Nasab, 2017)
UA-DLLME	20.0-30.0	2.63 – 5.29	150 – 1400	(Rahmani et al., 2017)
VA-DLLME	2.0 – 5.6	1.75-4.80	10 – 1200	(Rahmani et al., 2017)
HS-SPME GC-FID	0.015 – 0.16	2.9 – 11.0	0.027 – 3.8	(Almeida & Boas, 2004)

NR: no reportado

3.2.6 Normatividad de BTEX

La calidad del agua potable es de suma importancia y la legislación ha establecido niveles máximos permisibles para un gran número de compuestos. El número de contaminantes que debe ser monitoreado es cada vez mayor y los límites máximos permisibles son más estrictos. La contaminación de sistemas acuáticos por



hidrocarburos aromáticos se ha convertido en un problema de salud pública importante.

Los BTEX son de gran interés desde el punto de vista ambiental, por su toxicidad, presencia y movilidad en el ambiente (Fernandes et al., 2014). Agencias ambientales y gubernamentales han establecido niveles máximos permisibles para estos compuestos y se han incluido en listas de prioridad, por ejemplo, los BTEX son considerados contaminantes prioritarios por la EPA.

Los límites permisibles para el tolueno, el etilbenceno y los xilenos son más grandes que para benceno debido a que su fuerte olor los hace fácilmente detectables (Moothi, 2017). En la Tabla 3-6 se presentan los límites máximos permisibles establecidos en México y otros países para BTEX en agua potable.

Tabla 3-6 Límites permisibles en mg L⁻¹ de BTEX en distintos países

País/ organización	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	Xilenos	Referencia
México	0.01	0.3	0.7	0.5	NOM-127-SSA1-1994 Modificación - 2000
EU	0.005	1	0.7	10	National Primary Drinking Water Regulation, EPA
WHO	0.01	0.7	0.3	0.5	Guías para la calidad del agua de consumo humano, 2011
Canadá	0.005	0.06	0.14	0.09	Guidelines for Canadian Drinking Water Quality
Brasil	0.005	0.17	0.2	0.3	Fernandes et al., 2014



3.2.7 Concentraciones encontradas de BTEX en matrices acuosas

Debido a la preocupación ambiental que representa la presencia de BTEX en el ambiente se han realizado análisis cuantitativos en el mundo en diferentes matrices acuosas (agua potable, ríos, lagos, agua subterránea, etc.). Por ejemplo, según ATSDR el benceno se detectó en aproximadamente 40 % de muestras de agua superficial, en un intervalo de concentraciones de hasta 100 ng mL⁻¹; hace más de 10 años, el tolueno se detectó en un nivel mínimo de 0.2 ng mL⁻¹ en 10 de 931 muestras de agua subterránea y superficial en fuentes usadas para abastecimiento de agua potable en E.U.A.; xilenos se han detectado en el 5 % de las muestras de agua subterránea y en agua potable de E.U.A. en concentración menor o igual a 2 ng mL⁻¹ (Registry Agency for Toxic Substances and Disease, 2007a, Registry Agency for Toxic Substances and Disease, 2015 Registry Agency for Toxic Substances and Disease, 2007b).

La presencia de BTEX en agua subterránea es preocupante, en especial en regiones vulnerables cuya fuente directa de agua es agua de pozo sin purificar. No obstante, su presencia en agua potable es un indicio de su ubicuidad, estabilidad e ineficiencia de los sistemas de potabilización; además representan un riesgo a la salud que puede no ser evidente inmediatamente.



Tabla 3-7 Concentraciones en $\mu\text{g L}^{-1}$ determinadas de BTEX en diferentes matrices acuosas

Matriz acuosa	Ríos³	Lagos	Agua residual	Agua subterránea	Río
País (año)	Grecia (1998-1999)	Grecia (1998-1999)	Grecia (1998-1999)	Canadá (2001)	España (2003)
Benceno	ND	ND	ND-5.90	19.8	ND-0.07
Tolueno	ND-6.70	ND	ND-13.70	7.30	ND-0.26
Etilbenceno	ND	ND	ND-19.80	36.08	ND-0.06
m-,p-Xileno	ND	ND	ND-36.40	36.68	ND-0.05
o-Xileno	ND	ND	ND-5.80	54.79	ND-0.05
Referencia	(Nikolaou et al., 2002)	(Nikolaou et al., 2002)	(Nikolaou et al., 2002)	(Wang, Li, Fingas, Sigouin, & Ménard, 2002)	(Arambarri et al., 2004)

³ El muestreo se realizó de octubre de 1998 a septiembre de 1999 en 10 ríos, 7 lagos, 3 golfos y cuatro plantas de tratamiento de agua residual todo en Grecia



Continuación Tabla 3-7 Concentraciones en µg L-1 determinadas de BTEX en diferentes matrices acuosas

Matriz acuosa	Agua subterránea	Agua mar	Agua potable	Agua pluvial
País (año)	Taiwán (2006)	Brazil (2009)	Portugal (2013)	Beijing China (2016)
Benceno	15.2	ND-2.81	ND	0.026 – 0.054
Tolueno	35.2	ND-4.07	<0.16 – 0.51	0.020 – 0.042
Etilbenceno	7.4	ND-6.37	<0.03-0.63	0.584-0.590
m-,p-Xileno	12.1	ND-1.91	<0.06-2.49	0.557-0.622
o-Xileno	4.0	0.18-6.80	<0.04-1.40	0.010-0.018
Referencia	(Lee, Chang, & Dou, 2007)	(Cavalcante et al., 2010)	(Almeida & Boas, 2004)	(H. Li et al., 2018)



3.3 Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's)

Los **Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos** (HAP's o PAH's) también llamados hidrocarburos aromáticos polinucleares (PNA's) son un complejo y extenso grupo de compuestos químicos lipofílicos, no polares, cuya estructura está compuesta de al menos dos anillos de benceno. Este grupo de compuestos pertenece a los contaminantes orgánicos persistentes (POP's) que se han encontrado en diferentes matrices ambientales y se ha demostrado que pueden causar efectos adversos a la salud y al medio ambiente (Archambault, Prochazka, Cope, Shea, & Lazaro, 2017). Se han caracterizado cientos de HAP's, sin embargo, uno de los más notables es el benzo(a)pireno (BaP) ya que fue el primer carcinogénico descubierto. El BaP frecuentemente se usa como un marcador de la exposición a HAP's (Abdel-Shafy & Mansour, 2016; Boffetta, Jourenkova, & Gustavsson, 1997).

Los HAP's provienen de una amplia variedad de fuentes, tanto antropogénicas como naturales. Actualmente el uso excesivo de combustibles fósiles ha provocado que se encuentren como contaminantes en el ambiente con niveles de concentración cada vez mayores (Feng, Hu, Li, Liu, & Sun, 2016), esto aunado a sus propiedades mutagénicas y carcinogénicas, provoca que su monitoreo ambiental sea de suma importancia.

Se ha identificado un grupo de 17 HAP's de mayor interés por el impacto adverso que pueden causar en los ecosistemas y en la salud humana. Debido a esto, son considerados un grupo de contaminantes prioritarios por agencias de salud y ambientales a nivel mundial. Además, ya que invariablemente se presentan como mezclas complejas de dos o más compuestos su monitoreo y control es más difícil.

3.3.1 Propiedades fisicoquímicas de HAP's

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos son compuestos orgánicos constituidos únicamente por átomos de carbono e hidrógeno, cuya estructura (Figura 3-2) consiste en dos o más anillos de benceno fusionados que comparten un par de átomos de carbono y pueden presentar distintos arreglos moleculares (Abdel-Shafy



& Mansour, 2016). Este grupo abarca cientos de compuestos que comparten características estructurales generales.

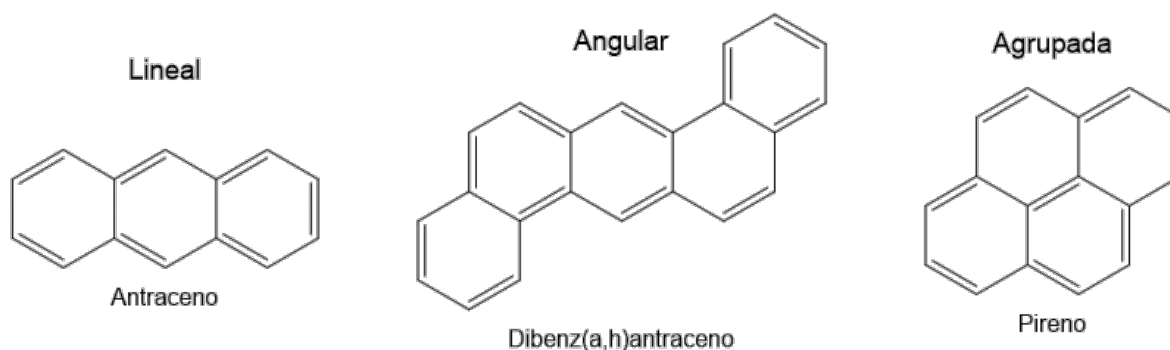


Figura 3-2 Arreglo molecular de los hidrocarburos aromáticos policíclicos

Los HAP's de hasta 3 anillos fusionados son conocidos como HAP's de bajo peso molecular (LWM por sus siglas en inglés) y aquellos que contienen más anillos son llamados HAP's de alto peso molecular (HMW por sus siglas en inglés). Los HAP's de bajo peso molecular (presión de vapor más alta) tienden a estar más concentrados en la fase vapor mientras los de alto peso molecular se encuentran asociados con partículas de materia orgánica ($< 2.5 \mu\text{m}$), por ejemplo, presentes en entornos acuáticos tienden a adsorberse en partículas suspendidas y sedimentos, por lo que son más resistentes a la degradación bacteriana (Beyer, Jonsson, Porte, Krahn, & Ariese, 2010). Referente a la toxicidad se ha demostrado que los HAP's de LMW presentan una toxicidad aguda y pueden reaccionar con otros contaminantes atmosféricos para dar lugar a compuestos más tóxicos, mientras que los de HMW muestran un alto potencial carcinogénico y mutagénico (X. Li et al., 2011).

En general presentan altos puntos de fusión y ebullición, baja presión de vapor, ligera solubilidad en agua y alta solubilidad en disolventes orgánicos. En condiciones ambientales la mayoría de estos compuestos son sólidos incoloros, blancos o ligeramente amarillos. Su estructura les confiere gran estabilidad por lo que son resistentes al calor y persistentes en el ambiente (Abdel-Shafy & Mansour, 2016; Bojes & Pope, 2007). En la Tabla 3-8 (Ma et al., 2006) se enlistan las



propiedades fisicoquímicas de los HAP's que se determinaron en el presente trabajo, entre paréntesis se presenta las abreviaturas de cada compuesto.

3.3.2 Usos de HAP's

Los HAP's no se usan comúnmente en la industria, pero existe un pequeño número de usos para algunos de ellos. Principalmente se emplean como intermediarios en la síntesis de productos farmacéuticos y agrícolas, productos de fotografía, lubricantes y otras industrias químicas. A continuación, se mencionan algunos usos para HAP's específicos (Abdel-Shafy & Mansour, 2016; Mumtaz & George, 1996):

- Acenafteno: manufactura de pigmentos, plásticos, insecticidas, fungicidas, productos farmacéuticos y tintes.
- Antraceno: diluyente en productos para madera y manufactura de tintes, pigmentos y fibras sintéticas. También se usa en investigación de semiconductores orgánicos y en la síntesis de amsacrina un agente quimioterapéutico.
- Fluoranteno: manufactura de agroquímicos, tintes y productos farmacéuticos.
- Fluoreno: manufactura de farmacéuticos, pigmentos, tintes, pesticidas y plástico termoestable.
- Fenantreno: manufactura de resinas, pesticidas, explosivos y se usa en investigación biológica.
- Pireno: manufactura de pigmentos.

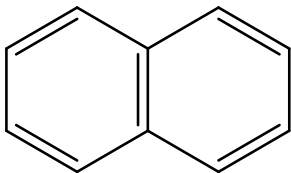
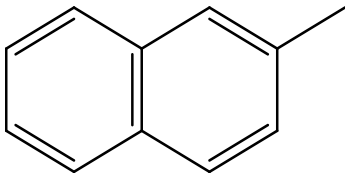
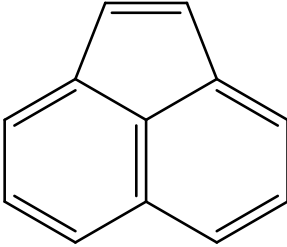
Además, se pueden encontrar contenidos en asfalto y en productos del campo electrónico, plástico funcional y cristales líquidos.

3.3.3 Fuentes de HAP's

Como se mencionó anteriormente, la producción comercial de HAP's no es una fuente significativa de estos en el ambiente, sin embargo, son productos de procesos industriales comunes y minoritariamente de fuentes naturales.



Tabla 3-8 Propiedades fisicoquímicas de los HAP's determinados

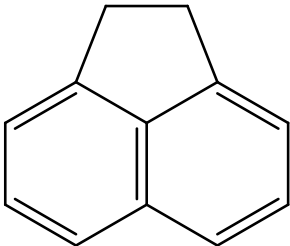
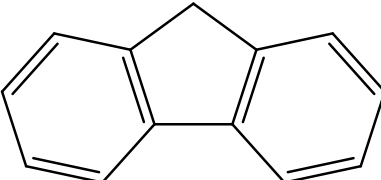
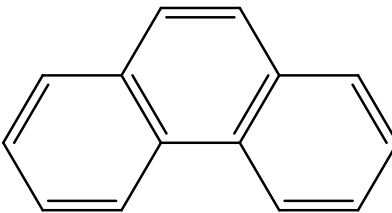
	Naftaleno (NAF)	2-metilnaftaleno (MNAF)	Acenaftileno (ACEL)
Estructura química			
Fórmula química	C ₁₀ H ₈	C ₁₁ H ₁₀	C ₁₂ H ₈
CAS NR	91-20-3	91-57-6	208-96-8
Peso molecular (g mol⁻¹)	128.171	142.197	152.192
Punto de fusión (°C)	80.26	34.6	91.8
Punto de ebullición (°C)	217.9	241.1	280
Densidad (g cm⁻³ a 20°C)	1.0253	1.0058	0.899
Solubilidad en agua (mg L⁻¹ a 25 °C)	34.8	27.3	16.1
Presión de Vapor (Pa a 25 °C)	37.0	9.33	0.90
H (Pa m³ mol⁻¹ a 25 °C)	57.0	62.0	11.40
Log K_{ow} a 25 °C	3.77	3.86	3.67

Fuente: (Ma et al., 2006)

CAS NR: Número de Registro CAS; H: Constante de Henry; Log K_{ow}: logaritmo de la coeficiente octanol-agua

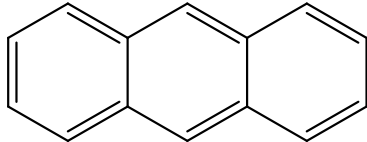
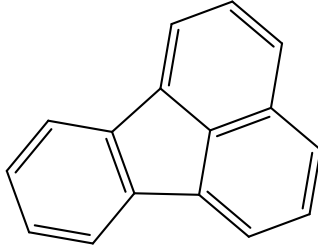
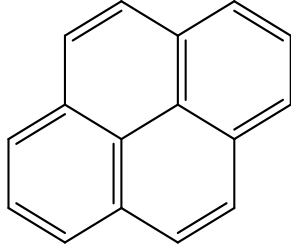


Continuación Tabla 3-8 Propiedades fisicoquímicas de los HAP's determinados

	Acenafteno (ACE)	Fluoreno (FLU)	Fenantreno (FEN)
Estructura química			
Fórmula química	C ₁₂ H ₁₀	C ₁₃ H ₁₀	C ₁₄ H ₁₀
CAS NR	83-32-9	86-73-7	85-01-8
Peso molecular (g mol⁻¹)	154.207	166.218	178.229
Punto de fusión (°C)	93.4	144.77	99.24
Punto de ebullición (°C)	279	295	340
Densidad (g cm⁻³ a 20°C)	1.222	1.203	1.174
Solubilidad en agua (mg L⁻¹ a 25 °C)	3.88	2.23	1.20
Presión de Vapor (Pa a 25 °C)	0.428	0.407	0.0966
H (Pa m³ mol⁻¹ a 25 °C)	16.20	6.50	3.61
Log K_{ow} a 25 °C	3.92	4.18	4.50

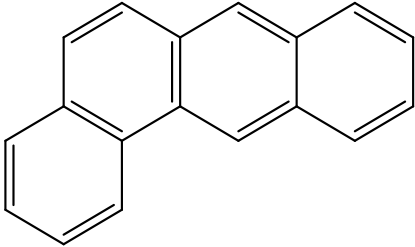
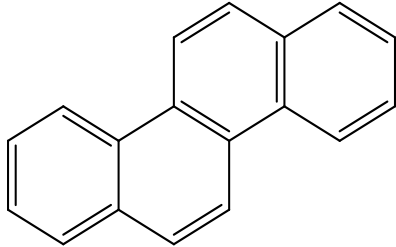
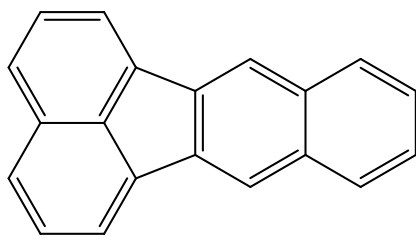


Continuación Tabla 3-8 Propiedades fisicoquímicas de los HAP's determinados

	Antraceno (ANT)	Fluoranteno (FLT)	Pireno (PIR)
Estructura química			
Fórmula química	C ₁₄ H ₁₀	C ₁₆ H ₁₀	C ₁₆ H ₁₀
CAS NR	120-12-7	206-44-0	129-00-0
Peso molecular (g mol⁻¹)	178.229	202.250	202.250
Punto de fusión (°C)	215.76	110.19	150.62
Punto de ebullición (°C)	339.9	384	404
Densidad (g cm⁻³ a 20°C)	1.28	1.252	1.271
Solubilidad en agua (mg L⁻¹ a 25 °C)	0.070	0.2289	0.150
Presión de Vapor (Pa a 25 °C)	0.0922	0.00598	0.00073
H (Pa m³ mol⁻¹ a 25 °C)	3.30	1.96	1.21
Log K_{ow} a 25 °C	4.45	5.16	4.79



Continuación Tabla 3-8 Propiedades fisicoquímicas de los HAP's determinados

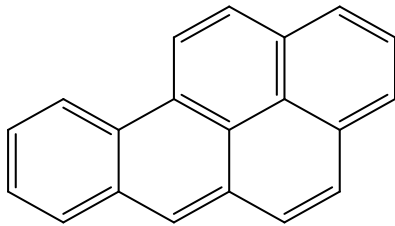
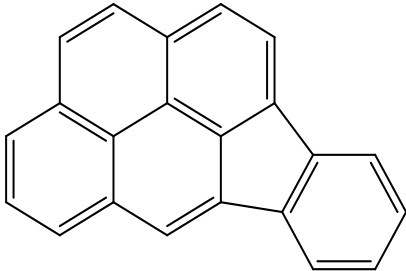
	Benz(a)antraceno (BAA)	Criseno (CRI)	Benzo(k)fluoranteno (BKF)
Estructura química			
Fórmula química	C ₁₈ H ₂₂	C ₁₈ H ₂₂	C ₂₀ H ₁₂
CAS NR	56-55-3	218-01-9	207-08-9
Peso molecular (g mol⁻¹)	228.288	228.288	252.309
Punto de fusión (°C)	160.5	255.5	217
Punto de ebullición (°C)	438	448	480
Densidad (g cm⁻³ a 20°C)	1.2544	1.274	1.286§
Solubilidad en agua (mg L⁻¹ a 25 °C)	0.0130	0.0019	0.00109
Presión de Vapor (Pa a 25 °C)	2.51×10 ⁻⁴	2.11×10 ⁻⁶	8.96×10 ⁻⁶
H (Pa m³ mol⁻¹ a 25 °C)	0.813	0.53	0.0422
Log K_{ow} a 25 °C	5.79	5.78	6.11

Fuente: (Ma et al., 2006)

CAS NR: Número de Registro CAS; H: Constante de Henry; Log K_{ow}: logaritmo de la coeficiente octanol-agua



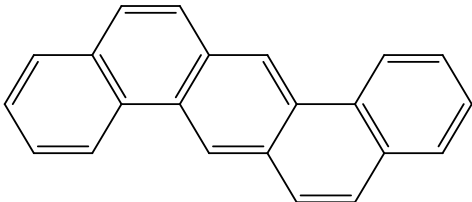
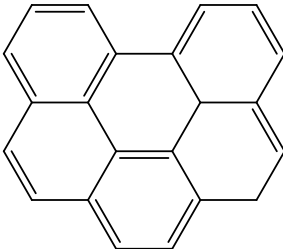
Continuación Tabla 3-8 Propiedades fisicoquímicas de los HAP's determinados

	Benzo(b)fluoranteno (BBF)	Indeno(1,2,3-cd)pireno (IND)
Estructura química		
Fórmula química	C ₂₀ H ₁₂	C ₂₂ H ₁₂
CAS NR	205-99-2	193-39-5
Peso molecular (g mol⁻¹)	252.309	276.330
Punto de fusión (°C)	168	162
Punto de ebullición (°C)	481	536
Densidad (g cm⁻³ a 20°C)	1.286 [§]	1.378 [§]
Solubilidad en agua (mg L⁻¹ a 25 °C)	0.00109	0.00019
Presión de Vapor (Pa a 25 °C)	7.55×10 ⁻⁶	1.33×10 ⁻⁷
H (Pa m³ mol⁻¹ a 25 °C)	0.0485	0.0285
Log K_{ow} a 25 °C	5.78	6.72

[§] Calculado a 20 °C y 760 Torr, fuente: <https://scifinder.cas.org>



Continuación Tabla 3-8 Propiedades fisicoquímicas de los HAP's determinados

	Dibenz(a,h)antraceno (DBA)	Benzo(g,h,i)perileno (BGP)
Estructura química		
Fórmula química	C ₂₂ H ₁₄	C ₂₂ H ₁₂
CAS NR	53-70-3	191-24-2
Peso molecular (g mol⁻¹)	278.346	276.330
Punto de fusión (°C)	269.5	272.5
Punto de ebullición (°C)	524	525
Densidad (g cm⁻³ a 20°C)	1.282**	1.3
Solubilidad en agua (mg L⁻¹ a 25 °C)	0.00056	0.000137
Presión de Vapor (Pa a 25 °C)	2.51×10 ⁻⁷	4.28×10 ⁻⁷
H (Pa m³ mol⁻¹ a 25 °C)	0.0076	0.0278
Log K_{ow} a 25 °C	6.50	6.63

** Valor experimental obtenido de <https://scifinder.cas.org>



En general los HAP's se forman en la producción de acero, asfalto, durante el cracking de petróleo, en procesos de generación de calor, incineración controlada, máquinas de combustión y procesos químicos generales. La principal fuente de HAP's es la combustión incompleta de materia orgánica, incluyendo derivados de petróleo, carbón, gas natural, biomasa y residuos domésticos (X. Li et al., 2011).

Se pueden clasificar tres tipos de fuentes de HAP's: pirogénicos, petrogénicos y biológicos. Los HAP's formados durante la pirólisis (pirogénicos) se forman cuando sustancias orgánicas se incineran a altas temperaturas (350 – 1200 °C) y bajo condiciones de poco o nulo oxígeno, ejemplos de estos procesos son el cracking de petróleo y la combustión incompleta de combustibles fósiles en automóviles y en sistemas de calefacción; estos HAP's son encontrados en mayores concentraciones en áreas urbanas por el elevado uso de automóviles. Los HAP's petrogénicos se forman a temperaturas bajas (100 – 150 °C) durante procesos como la maduración de petróleo, cabe señalar que el petróleo crudo contiene en promedio entre 0.2 y 7 % de HAP's totales, en su mayoría de bajo peso molecular. Los HAP's petrogénicos son populares debido al alto transporte, almacenamiento y uso de petróleo crudo y productos derivados del mismo. Por último, los HAP's pueden provenir de fuentes biológicas, ya que algunas plantas, bacterias y algas los sintetizan o pueden ser formados durante la degradación de materia vegetal (Abdel-Shafy & Mansour, 2016; Iqbal, Overton, & Gisclair, 2008). Adicionalmente, HAP's se originan durante actividad volcánica y el humo de cigarro, este último contiene benzo(a)pireno y una variedad de más de 40 hidrocarburos aromáticos policíclicos (Maghsoudi & Noroozian, 2012; Suess, 1976). En la Figura 3-3 se muestran las principales fuentes de HAP's.

Se ha demostrado que se puede identificar la fuente de mezclas específicas de HAP's, así se pueden reconocer mezclas que provienen de carbón, madera o petróleo. Esto se debe al contenido de HAP's con cadenas alquiladas y al número de anillos de 5 miembros. Aquellas mezclas de HAP's que provienen del petróleo contienen un mayor número de anillos de 5 miembros y cadenas alquiladas, por el contrario, las mezclas formadas a altas temperaturas tienden a producir HAP's con



menos cadenas alquiladas y menos anillos de 5 miembros ya que pirogénicamente se forman los anillos más estables, es decir, los de 6 miembros. En general, se ha encontrado que las mezclas pirogénicas son más tóxicas que las petrogénicas (Abdel-Shafy & Mansour, 2016; Beyer et al., 2010). La identificación de las fuentes de contaminación de HAP's es de suma importancia porque permite emprender acciones de prevención o disminución de la contaminación por estos compuestos.

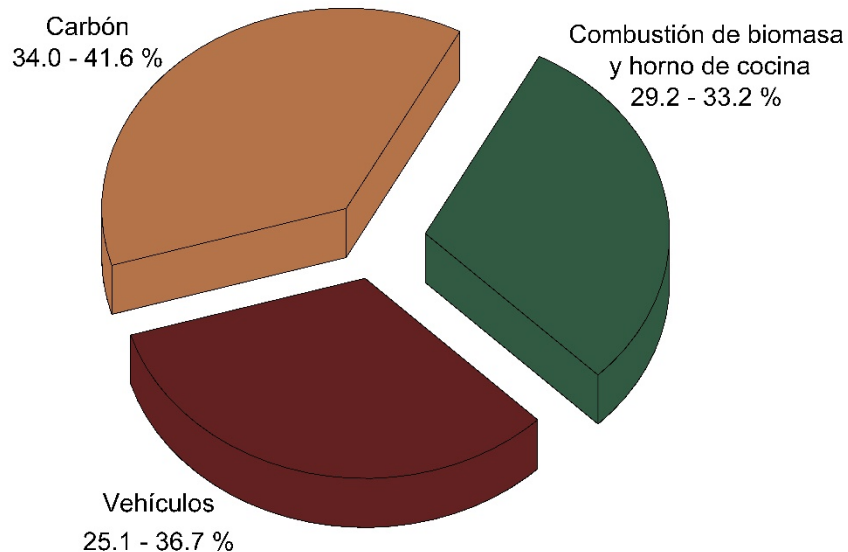


Figura 3-3 Emisiones promedio de las principales fuentes de HAP's

3.3.4 Toxicidad de HAP's

La toxicidad de HAP's depende del tiempo de exposición, concentración y de los compuestos presentes en la mezcla a la que se es expuesto, además, se puede ver influenciado por el estado de salud pre-existente de la persona, siendo la población adulta e infantil la más afectada. Algunos HAP's tienen propiedades carcinogénicas, mutagénicas y teratogénicas por lo que significan una amenaza a la salud humana y del ambiente. Entre los efectos nocivos destaca el aumento en el riesgo de cáncer de pulmón.

La ruta de exposición puede ser por inhalación, ingesta o contacto dérmico, incluso puede ser por más de una ruta a la vez. Estos compuestos siempre se presentan como una mezcla compleja de varios de ellos, lo que incrementa los riesgos a la salud. La gravedad de los efectos nocivos observados es dependiente de la forma



de exposición; el humo de tabaco y aire urbano son las mayores fuentes de exposición por inhalación mientras que la mayor ingesta de estos compuestos se debe a agua potable contaminada y comida cocinada mediante procesos como ahumado (Boffetta et al., 1997).

En general, la exposición a corto plazo a mezclas de HAP's pueden causar irritación ocular y de la piel, náuseas, vómito, diarrea y confusión. La exposición a largo plazo causa efectos más severos como la reducción de la función inmune, cataratas, daño en riñones e hígado, problemas respiratorios, síntomas de asma y anomalías en el funcionamiento de los pulmones, la exposición dérmica frecuente puede causar enrojecimiento e inflamación (Abdel-Shafy & Mansour, 2016).

El cáncer en piel, pulmones y vejiga en humanos se han asociado con exposición a benzo(a)pireno, criseno, indeno(1,2,3-cd)pireno y benzo(b)fluoranteno (Chen & Liao, 2006). De la misma forma el benzo(a)antraceno y el criseno se han clasificado como carcinogénicos pero con menor potencia (Nisbet & LaGoy, 1992). Ciertas investigaciones muestran valores detectables de HAP's en la mayoría de los órganos internos; debido a su lipofilicidad se concentran más en órganos con alto contenido adiposo.

Por otro lado, los metabolitos de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (epóxidos y dihidrodioles) son compuestos altamente reactivos y tóxicos. Tienen la capacidad de unirse a proteínas celulares y formar aductos con el ADN. Este fenómeno puede causar interrupciones bioquímicas y daño celular, lo que conduce a malformaciones durante el desarrollo, mutaciones, tumores y cáncer (Abdel-Shafy & Mansour, 2016).

Se ha observado toxicidad de HAP's de moderada a aguda en organismos acuáticos y mamíferos; ambos los pueden absorber por rutas de inhalación, ingesta y/o contacto dérmico. Así mismo, las plantas pueden absorber HAP's del suelo a través de sus raíces y algunas son capaces de sintetizar HAP's que tienen una función como hormonas de crecimiento. Algunos animales acuáticos pueden bioacumular y bioconcentrar HAP's con factores de bioconcentración muy altos, de 1000 a 100000 (Archambault et al., 2017).



3.3.5 Técnicas analíticas para la cuantificación de HAP's en matrices acuosas

La contaminación de los abastecimientos de agua es un problema global. Contaminantes como los hidrocarburos aromáticos policíclicos añaden complejidad a su cuantificación en matrices acuosas debido a su amplio rango de propiedades fisicoquímicas, así como a las bajas concentraciones en las que se encuentran. Debido a la toxicidad de estos, es necesario encontrar técnicas analíticas sensibles para monitorear su presencia en matrices ambientales con el fin de estudiar el destino e impacto de estos.

Se han desarrollado múltiples técnicas para la cuantificación de HAP's en matrices ambientales (sedimentos, suelos, aire y agua) en la Tabla 3-9 se presentan algunos parámetros analíticos para métodos desarrollados para su determinación en matrices acuosas. Los bajos niveles de concentración de HAP's en agua requiere la concentración de las muestras antes del análisis instrumental, estas técnicas de concentración deben ser eficientes, selectivas y sensibles además de que se ha buscado que tengan un bajo impacto ambiental, siguiendo la filosofía de la química analítica verde.

3.3.6 Normatividad de HAP's

Como consecuencia de la industrialización, urbanización y crecimiento poblacional y debido a su potencial de bioacumulación, persistencia, toxicidad y capacidad para transportarse largas distancias, los HAP's son un grupo prioritario para la comunidad científica, agencias ambientales y gubernamentales, provocando que se desarrolle una normatividad en la que se incluya este grupo y se establezcan valores máximos permisibles en gran variedad de productos y matrices ambientales.



Tabla 3-9 Técnicas analíticas para la cuantificación de HAP's en matrices acuosas

Método	Límites de detección (ng L⁻¹)	Precisión (%CV)	Linealidad (µg L⁻¹)	Referencia
LVI-GC-MS	21.5 – 211.0	2.8 – 13.7	NR	(Aragón, Toledano, Vázquez, Villén, & Cortés, 2015)
SPME-GC-FID	0.7 – 20	5.6 – 8.6	0.017 – 100	(Amiri & Ghaemi, 2016)
ST-SPME-GC-MS	0.1 – 3.2	0.6 – 7.1	0.01 – 10	(Y. Zhang, Wu, Yan, & Guan, 2016)
SPME-GC-MS	1 – 29	NR	0.01-10	(King, Readman, & Zhou, 2004)
SBSE-HPLC-FLD	0.2-1.5	3.2 – 12.8	NR	(Bourdat-Deschamps, Daudin, & Barriuso, 2007)
SPE-HPLC	0.6 – 5.0	3.6 – 41.1	NR	(Niehus, Popp, Bauer, Peklo, & Zwanziger, 2002)
SBSE-GC-MS	0.14-1200	1 – 48	NR	(Roy, Vuillemin, & Guyomarch, 2005)
SPME-GC-MS	2.67 – 16.03	4.33 – 13.45	5-200	(Anil, Öztürk, Alagha, & Ergenekon, 2012)

NR: no reportado

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos han sido clasificados por varias agencias ambientales y de salud, por ejemplo, la EPA ha clasificado 16 HAP's como contaminantes prioritarios. En la Tabla 3-10 (Feng et al., 2016) se muestra la clasificación de los HAP's realizada por la IARC.



Tabla 3-10 Clasificación de HAP's por la IARC

Compuesto	Grupo
Naftaleno	2B
Acenaftileno	2A
Acenafteno	3
Fluoreno	3
Fenantreno	3
Antraceno	3
Fluoranteno	3
Pireno	3
Benz(a)antraceno	2B
Criseno	2B
Benzo(b)fluoranteno	2B
Benzo(k)fluoranteno	2B
Benzo(b)pireno	1
Dibenz(ah)antraceno	2A
Benzo(ghi)perileno	3
Indeno(123 cd)pireno	2B

1: carcinogénico para humanos

2A: probable carcinogénico para humanos

2B: Posible carcinogénico para humanos

3: No clasificable como carcinogénico para humanos

En la lista de sustancias prioritarias de la ASTDR el grupo de hidrocarburos aromáticos policíclicos se encuentra en el lugar 9, sin embargo, otros compuestos se encuentran enlistados individualmente como:



Tabla 3-11 Lugar de HAP's en la lista de sustancias prioritarias de la ASTDR

HAP	Lugar de la lista
Benzo(a)pireno	8
Benzo(b)fluoranteno	10
Dibenz(a,h)antraceno	15
Benzo(a)antraceno	38
Benzo(k)fluoranteno	61
Benzofluoranteno	73
Naftaleno	81
Criseno	141
2-metilnaftaleno	161
Acenafteno	171
Indeno(1,2,3-cd)pireno	176
Benzopireno	230
Fenantreno	252
Pireno	260

La EPA ha clasificado al benz(a)antraceno, benz(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, criseno, dibenz(a,h)antraceno e indeno(1,2,3-cd)pireno como probables carcinogénicos. En el 2000 estableció criterios de la calidad de agua ambiental para proteger la salud humana de los efectos carcinogénicos de la exposición a HAP's. Desarrolló un nivel máximo para el benzo(a)pireno de 0.2 ng mL^{-1} , sin embargo, el objetivo de estos criterios es llegar a un nivel no detectable (concentración cero para HAP's carcinogénicos en matrices acuosas ambientales). Cabe señalar que el benzo(a)pireno se usa como indicador del riesgo total de hidrocarburos aromáticos policíclicos porque es el más carcinogénico. La WHO ha establecido un valor máximo permisible para el benz(a)pireno de 0.7 ng mL^{-1} (WHO 2018).



3.3.7 Concentraciones encontradas de HAP's en matrices acuosas

Debido a las diferencias en las propiedades fisicoquímicas que presentan los compuestos de este grupo, cada hidrocarburo se distribuye en diferente medida entre la fase vapor y otras fases, como la fase acuosa. La atmósfera recibe la mayor descarga de HAP's por lo que es el mayor medio de dispersión de estos, permitiéndoles llegar a todas las otras matrices ambientales.

La combustión incompleta de materia orgánica es la mayor fuente de HAP's, una vez emitidos a la atmósfera, estos compuestos se encuentran repartidos entre la fase vapor y en fase sólida (adsorbidos a partículas) y se depositan continuamente en suelos y agua por procesos de deposición, ya sea secos o húmedos (Abdel-Shafy & Mansour, 2016).

Según la OMS el nivel de HAP's en agua subterránea no contaminada se encuentra usualmente en un intervalo entre 0-5 ng L⁻¹, concentraciones en agua subterránea contaminada pueden exceder los 10 µg L⁻¹, el intervalo típico de la suma de las concentraciones de HAP's en agua potable esta entre 1 ng L⁻¹ y 11 µg L⁻² (WHO, 2004)



Tabla 3-12 Concentraciones en ng L⁻¹ encontradas en diferentes matrices acuosas a lo largo del mundo

Matriz	Agua de lago	Agua subterránea	Agua de lluvia	Agua de río	Agua potable	Agua de río	Agua de lluvia	Agua de río
País	México (1996)	Alemania (2000)	Alemania (2001)	USA 2004	Egipto 2005	China (2006)	Francia (2006)	Pakistán 2007-2009
NAF	10	3.7	NR	2.5	5	281	1.9	394
ACEL	10	NR	NR	4.1	17.5	14	NR	53.9
ACE	20	NC	546	18.1	67.6	6.21	NC	50.1
FLU	20	3.8	687	3.8	27.3	36.5	5.6	106.0
FEN	20	1.2	2202	38.6	36	134	28.1	229.0
ANT	30	<0.2	114	23.2	37.6	20	NC	62.6
FLT	90	0.3	244	22.8	8.2	24.1	22.5	37.5
PIR	170	0.4	100	50.2	54.8	12	17.3	71.3
BAA	70	<0.2	3.4	13.6	37.3	1.18	3.1	2.97
CRI	40	<0.3	10.5	12.4	95.6	1.38	7	3.33
BBF	40	<0.4	8.51	11.3	236	0.82	8.6	0.59
BKF	50	<0.2	5.46	9.9	279	0.36	3.5	1.12
BAP	40	<0.2	7.35	20.5	ND	0.32	3	0.66
DBA	Nd	<0.8	6.16	NC	ND	0.12	NC	0.02
BGP	60	<1.4	16.7	2.3	ND	0.22	4.5	1.17
IND	70	<2.0	7.02	2.2	ND	0.32	ND	0.01
Referencia	(Elizalde-González, 2003)	(Popp et al., 2001)	(Niehus et al., 2002)	(S. Zhang et al., 2007)	(Badawy & Emababy, 2010)	(Feng et al., 2016)	(Bourdat-Deschamps et al., 2007)	(Farooq et al., 2011)



Continuación Tabla 3-12 Concentraciones en ng L-1 encontradas en diferentes matrices acuosas a lo largo del mundo⁶

Matriz	Agua de río	Agua superficial	Agua superficial	Agua de río	Agua potable	Agua superficial	Agua Subterránea
País	China 2009	China 2009	China (2010)	Hungría 2011	Irán 2012	China (2013)	China (2013)
NAF	15.8	88.6	160.18	23.83	4.6	6.37	11.99
ACEL	4.6	8.6	NR	2.21	ND	1.38	1.51
ACE	4.4	3.4	16.34	3.04	ND	9.78	8.34
FLU	16.7	13.5	41.01	7.38	ND	36.18	24.47
FEN	35.0	48.1	71.75	25.13	ND	41.84	28
ANT	4.3	44.2	14.18	2.25	ND	29.83	21.17
FLT	8.6	22.6	27.26	6.42	ND	16.64	4.09
PIR	6.1	16.6	27.29	9	ND	52.59	26.69
BAA	2.0	4.0	4.84	0.71	2.29	1.49	1.91
CRI	1.1	4.5	4.15	1.08	27.35	4.42	7.61
BBF	0.4	3.0	6.62	0.33	2.15	1.37	1.47
BKF	0.1	2.0	4.35	0.21	11.21	1.46	1.86
BAP	0.3	1.8	9.43	0.17	1.33	2.94	2.29
DBA	0.1	ND	10.36	0.08	6.09	15.62	21.55
BGP	3	2.5	13	0.25	3.24	1.33	2.16
IND	0.1	1.6	12.2	0.29	19.7	2.47	2.49
Referencia	(Cao et al., 2010)	(Liu, Shen, Chen, Ren, & Li, 2013)	(Guo et al., 2012)	(Nagy et al., 2013)	(Karyab et al., 2013)	(J. Li et al., 2017)	(J. Li et al., 2017)

⁶ NR: no reportado. NC: no cuantificable. ND: no determinado



3.4 Microextracción en fase sólida (SPME)

La microextracción en fase sólida (SPME por sus siglas en inglés), es una técnica de preparación de la muestra que usa una fibra de sílice fundida recubierta en el exterior con una fase estacionaria que actúa como la fase de extracción. Los analitos presentes en la muestra son directamente extraídos en el recubrimiento extractante, posteriormente la fase se remueve de la muestra y los analitos se desorben para su análisis instrumental. En SPME los pasos convencionales de la preparación de la muestra, como son la extracción, concentración y transferencia al equipo de análisis instrumental, son integradas en un paso y dispositivo e incluso se pueden incluir los pasos de muestreo y derivatización, lo que simplifica el procedimiento de preparación de la muestra, reduce el tiempo y costos de análisis. (Menendez, Sanchez, Uria, Martinez, & Sanz-Medel, 2000; Vas & Vékey, 2004; Z. Zhang & Pawliszyn, 1993)

Un método analítico involucra varios pasos, incluyendo el muestreo, preparación de la muestra (separación de los analitos de la matriz, concentración y de ser necesario derivatización de los mismos y limpieza para eliminar interferentes), separación, detección y análisis de los resultados. La preparación de la muestra es un paso crucial en una metodología analítica, ya que tiene una gran influencia en la confiabilidad y exactitud del resultado, encuestas muestran que más del 80 % del tiempo de análisis es usado en el muestreo y en la preparación de la muestra (Vas & Vékey, 2004).

Las técnicas convencionales de preparación de la muestra involucran múltiples pasos, lo que puede introducir errores y pérdidas (en especial si se trata de analitos volátiles) y usan disolventes, por lo tanto, generan residuos químicos que significan una carga ambiental y costos extra. SPME surgió como una propuesta que reduce estas desventajas y sigue la filosofía de la química analítica verde.

En el caso de matrices acuosas se debe tomar en cuenta que el método debe ser capaz de minimizar las pérdidas de los analitos debido a la volatilización por el manejo de muestras, por lo que los métodos deben contar con pocos pasos, además de proporcionar límites de detección suficientemente bajos para detectar



estos contaminantes en concentraciones en el intervalo de ng L^{-1} o $\mu\text{g L}^{-1}$. Elegir un método apropiado de preparación de la muestra es un paso decisivo ya que se compromete la sensibilidad, selectividad y confiabilidad del método (Chary & Fernandez-Alba, 2012).

Esta técnica se ha empleado en conjunto con cromatografía de gases (GC) y cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), para la determinación de una amplia variedad de compuestos químicos, en general compuestos orgánicos volátiles o semivolátiles, en muestras ambientales, biológicas y alimenticias.

3.4.1 Historia y fundamento de la microextracción en fase sólida

La microextracción en fase sólida es una técnica de preparación de la muestra que no usa disolventes, es simple y eficiente, proporciona alta sensibilidad, linealidad, repetitividad y bajos límites de detección (ng L^{-1} – mg L^{-1}). Fue desarrollada por C. Arthur y J. Pawliszyn en 1989 (Arthur & Pawliszyn, 1990) como una alternativa para las técnicas de preparación de la muestra tradicionales, capaz de cubrir los requerimientos de sensibilidad y límites de detección con las ventajas de que es simple, acorta el tiempo de análisis, es libre del uso de disolventes y permite la automatización de la preparación de la muestra. SPME fue nombrado después del primer experimento en el cual se usaban fibras de sílice fundida recubierta de un polímero sólido, sin embargo, actualmente la fase de extracción no siempre es un sólido (Risticovic, Vuckovic, Lord, & Pawliszyn, 2012). Es importante aclarar que SPME no es otra forma de extracción en fase sólida (SPE).

En SPME una pequeña cantidad de fase extractante (usualmente menos de $1 \mu\text{L}$) se dispersa en un soporte sólido, en general una fibra de sílice fundida de diámetro pequeño y se expone a la muestra bajo condiciones bien definidas. La fase extractante puede ser un polímero líquido de alto peso molecular o un sorbente sólido, que son materiales que presentan un área superficial grande y porosa (Mester, Z.; Sturgeona, R.; Pawliszyn, 2001). Típicamente SPME se aplica en gases o en disoluciones, pero también se puede aplicar a muestras sólidas. En el caso de



muestras líquidas, la extracción se puede llevar a cabo directamente en la fase líquida (DI, inmersión directa) o en el espacio de cabeza (HS).

La microextracción en fase sólida es una técnica de extracción no exhaustiva y es un proceso de equilibrio en múltiples fases. Frecuentemente el sistema de extracción es complejo, puede incluir, por ejemplo, una fase acuosa con partículas sólidas suspendidas y una fase vapor (HS). En el desarrollo teórico de SPME realizada en el espacio cabeza (HS-SPME) se consideran solo tres fases involucradas, el recubrimiento extractante, el espacio cabeza (fase vapor) y la matriz homogénea de la muestra. Los analitos se repartirán en las tres fases de acuerdo con la afinidad hacia cada una y migrarán entre ellas hasta que se alcance el equilibrio. Durante la extracción se establecen dos equilibrios de partición, uno entre la fase extractante (recubrimiento) y el espacio de cabeza y otro entre el espacio de cabeza y la matriz de la muestra.

La masa total de analito presente en el sistema se puede representar mediante la siguiente ecuación:

$$C_0 V_m = C_f^\infty V_f + C_h^\infty V_h + C_m^\infty V_m \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde C_0 es la concentración inicial del analito en la muestra, C_f^∞ es la concentración al equilibrio en la fase de extracción, C_h^∞ es la concentración al equilibrio en el espacio de cabeza, C_m^∞ es la concentración al equilibrio en la muestra, V_f es el volumen de la fase, V_h es el volumen del espacio de cabeza y V_m es el volumen de la muestra.

El equilibrio que se presenta entre la fase de extracción y la fase vapor (espacio de cabeza) tiene un constante de distribución K_{fh} que se define como:

$$K_{fh} = \frac{C_f^\infty}{C_h^\infty} \quad \text{Ecuación 2}$$

Y la constante de distribución K_{hm} que describe el equilibrio entre la fase vapor y la muestra se define como:



$$K_{hm} = \frac{C_h^\infty}{C_m^\infty} \quad \text{Ecuación 3}$$

La cantidad de analito extraída en la fase de extracción al equilibrio es:

$$n = C_f^\infty V_f \quad \text{Ecuación 4}$$

Usando las ecuaciones 1 – 3 la Ecuación 4 se puede reescribir como:

$$n = \frac{C_0 K_{fh} K_{hm} V_f V_m}{K_{fh} K_{hm} V_f + K_{hm} V_h + V_m} \quad \text{Ecuación 5}$$

La Ecuación 5 establece que la cantidad de analito extraído en el equilibrio es directamente proporcional a la concentración inicial presente en la muestra y es independiente de la ubicación de la fase de extracción en el sistema. Es decir, se puede poner directamente en la muestra o en el espacio de cabeza y la cantidad de analito extraída en el recubrimiento en ambos modos es idéntica siempre y cuando el volumen de la muestra y del espacio de cabeza sea el mismo (Risticvic et al., 2012).

Por otro lado, la constante que define el equilibrio entre la fase de extracción y la muestra K_{fm} , se puede definir como:

$$K_{fm} = K_{fh} K_{hm} \quad \text{Ecuación 6}$$

Por lo tanto, la Ecuación 5 se puede simplificar como:

$$n = \frac{K_{fm} V_f C_0 V_m}{K_{fm} V_f + K_{hm} V_h + V_m} \quad \text{Ecuación 7}$$

Los tres términos del denominador de la Ecuación 7 representan la afinidad del analito con cada una de las tres fases: fase de extracción ($K_{fm} V_f$), fase vapor ($K_{hm} V_h$) y la matriz (V_m). Si no hay espacio de cabeza en el sistema (por ejemplo, una muestra líquida en un vial completamente lleno), el término $K_{hm} V_h$ puede ser eliminado de la Ecuación 7, dando lugar a la siguiente ecuación:

$$n = \frac{K_{fm} V_f C_0 V_m}{K_{fm} V_f + V_s} \quad \text{Ecuación 8}$$



En muchos casos, la constante de distribución entre la fase de extracción y la muestra (K_{fm}) es relativamente pequeña en comparación con la relación entre el volumen de la fase y el volumen de la muestra, es decir, $V_f \ll V_m$, dicho de otra forma, $K_{fm}V_f \ll V_m$ por lo tanto la Ecuación 8 se simplifica a:

$$n = K_{fm}V_fC_0 \quad \text{Ecuación 9}$$

La Ecuación 9 indica la cantidad de analito extraída al equilibrio es proporcional sólo con la constante de distribución, el volumen del recubrimiento de la fase y a la concentración inicial del analito e indica que no es necesario un volumen de muestra bien definido porque la cantidad de analito extraído por el recubrimiento de la fase es independiente del volumen de la muestra (V_m).

Lo anterior implica que la microextracción en fase sólida se puede adaptar fácilmente a aplicaciones *in situ* y puede usarse para extracción de muestras de volumen desconocido, es decir, no es necesario recolectar una muestra bien definida para llevar a cabo el análisis, lo que permite exponer la fase de extracción directamente a muestras ambientales, flujos de vapor, etc (Mester, Z.; Sturgeon, R.; Pawliszyn, 2001). Esto es válido siempre y cuando se cumplan las condiciones antes mencionadas. Al eliminar el paso de muestreo, el método analítico requiere menor tiempo y se previenen errores asociados con las pérdidas de analitos por descomposición, adsorción en el contenedor o volatilización.

La eficiencia de SPME está fuertemente influenciada por el transporte de masa de los analitos de la matriz hasta la fase extractante. Tanto el modelo matemático como los resultados experimentales indican que el paso que determina la eficiencia en HS-SPME es el transporte de masa dentro de la matriz y la liberación de los analitos al HS (Z. Zhang & Pawliszyn, 1993).

Las ecuaciones anteriores están limitadas a recubrimientos de tipo polímeros líquidos donde la extracción está basada en un fenómeno de absorción. Sin embargo, las consideraciones para sorbentes sólidos (basados en adsorción) son análogas para concentraciones bajas del analito, ya que el área superficial disponible para la adsorción es proporcional al volumen del recubrimiento si se



asume porosidad constante del adsorbente. En el caso de concentraciones altas de analito puede ocurrir la saturación de la superficie, lo que resulta en un método no lineal. En el caso de los sorbentes sólidos la forma más simple de considerar los efectos a altas concentraciones es reemplazar el volumen de la fase por la fracción del volumen del recubrimiento que corresponde al área superficial disponible para la adsorción (Risticovic et al., 2012). En la práctica, se puede evitar este efecto al reducir el tiempo de extracción, por lo que se haría la extracción en condiciones de pre-equilibrio.

Una vez que se alcanza el equilibrio entre la matriz y la fase de extracción la cantidad de analito extraído es constante, independiente del incremento en el tiempo de extracción y de las condiciones de convección. En caso de que la extracción se realice en condiciones de pre-equilibrio y si la convección de la muestra es constante, entonces la cantidad de analito extraído depende del tiempo de extracción (Risticovic et al., 2012).

3.4.2 Dispositivo para microextracción en fase sólida

La primera versión comercial de un dispositivo para SPME para laboratorio fue introducida por Supelco en 1993 (Risticovic et al., 2012). El dispositivo usado en microextracción en fase sólida es simple y luce similar a una jeringa. Su objetivo es facilitar el manejo de la fase de extracción, resguardarla y exponerla cuando es necesario. La fase de extracción se encuentra dentro de una aguja de metal para perforar el septum durante la extracción y desorción. En la Figura 3-4 se pueden observar las partes que componen al dispositivo de SPME.

Durante la extracción y desorción de los analitos el mecanismo del dispositivo permite expulsar la fase de extracción de la aguja para exponerla a la muestra y el mismo mecanismo permite guardar la fase dentro de la aguja durante la transferencia hacia el inyector o mientras no se encuentra en uso. Además, tiene marcada una guía que permite insertar la fase a diferentes profundidades.

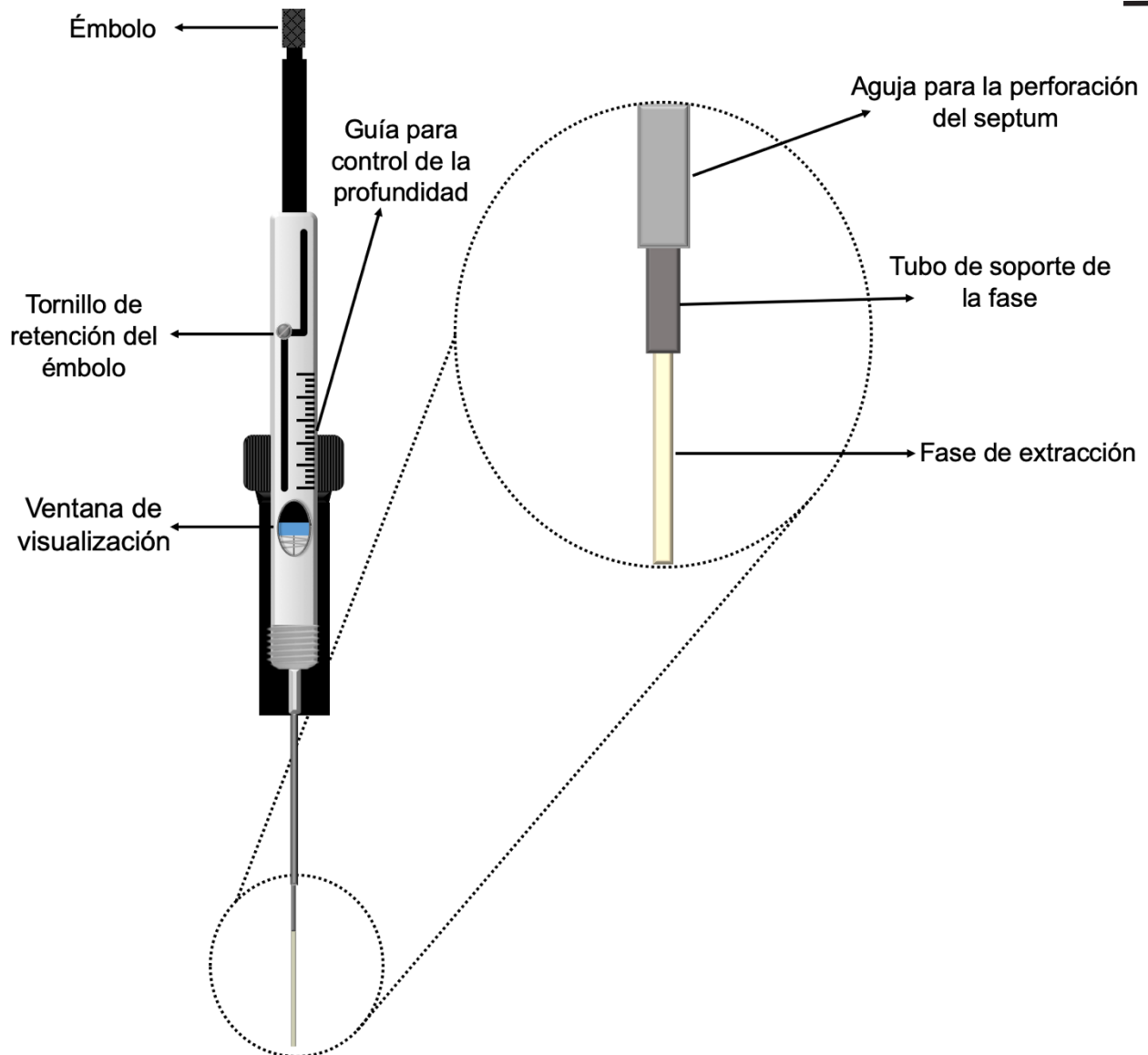


Figura 3-4 Diagrama esquemático de un dispositivo comercial para SPME

3.4.3 Variables involucradas en la microextracción en fase sólida

Existen muchas variables experimentales que afectan la sensibilidad y selectividad de la microextracción en fase sólida y por lo tanto se deben optimizar. Entre ellos se encuentran: tipo de extracción, fase de extracción usada, temperatura de la muestra, agitación de la muestra, fuerza iónica y pH. La optimización de estas variables de forma independiente requiere de un gran número de pruebas, lo que



demanda tiempo y recursos, un diseño experimental es una buena opción para optimizar varias variables al mismo tiempo realizando un menor número de experimentos.

La teoría explica la razón por la cual estas variables afectan a la microextracción en fase sólida, ya que K_{fm} se ve afectada por estos parámetros. En la aplicación, estas condiciones deben de controlarse no sólo para mejorar la sensibilidad y reducir el tiempo de análisis sino también para obtener buena repetibilidad.

3.4.3.1 Tipo de extracción

Existen dos tipos de microextracción en fase sólida más usados, la extracción en el espacio cabeza (HS-SPME) e inmersión directa (DI-SPME). En la HS-SPME la fase de extracción se pone en contacto con la fase vapor de la muestra y en inmersión directa la fase de extracción entra en contacto directo con la muestra. La elección del modo de extracción se definirá por las propiedades fisicoquímicas del analito, así como la composición de la matriz a analizar.

Como se mencionó anteriormente, la cantidad de analito extraída usando DI-SPME o HS-SPME será idéntica siempre y cuando los volúmenes de muestra y espacio de cabeza sean idénticos, si lo anterior no se cumple, existirá una diferencia significativa en la sensibilidad solo para analitos poco volátiles (Risticovic et al., 2012).

3.4.3.1.1 HS-SPME

La microextracción en fase sólida realizada en el espacio de cabeza tiene la ventaja de que la fase de extracción no está en contacto directo con la muestra, lo que minimiza los problemas de interferencias, sobre todo cuando se trata de muestras muy complejas como agua residual, fluidos biológicos, productos alimenticios, muestras sólidas o muestras que contienen compuestos de alto peso molecular. Por esta misma razón la vida útil de la fase se alarga, hasta cientos de extracciones.

HS-SPME es muy útil en el caso de analitos altamente volátiles. Los tiempos de equilibrio para compuestos volátiles son menores en HS-SPME que en modo DI-



SPME bajo condiciones similares de agitación. Esto se debe a que, desde el inicio, la concentración de analitos volátiles en el espacio de cabeza es elevada, sumado a que los coeficientes de difusión en la fase gas son mucho mayores (típicamente cuatro ordenes de magnitud) que en medios líquidos.

En caso de que el analito esté fuertemente absorbido en la matriz o de que la volatilidad del analito sea baja, la concentración de este en el HS será baja, por lo que solo una pequeña cantidad de analito se concentrará en la fase, conduciendo a una pobre sensibilidad. Antes de recurrir a realizar la extracción por DI-SPME, se puede aumentar la temperatura de la muestra durante la extracción, lo que incrementa la presión de vapor del analito y acelera el transporte de masa, mejorando la sensibilidad, sin embargo, esto tiene un límite, que será discutido más adelante.

El modo HS-SPME permite la modificación de la fuerza iónica y pH de la matriz sin causar un daño al recubrimiento de la fase de extracción.

3.4.3.1.2 DI-SPME

En la microextracción en fase sólida por inmersión directa (DI-SPME) la fase de extracción se inserta en la muestra y los analitos se transportan directamente de la matriz a la fase de extracción. Se prefiere en caso de que los analitos sean compuestos semivolátiles, ya que la transferencia de masa de estos compuestos al espacio de cabeza es lento y si se realiza HS-SPME puede resultar en tiempos de extracción muy largos. Para reducir el tiempo de extracción es necesario usar alguna forma de agitación de la muestra, para transportar los analitos del seno de la muestra hacia la cercanía de la fase.

Se usa en muestras que se consideran limpias, es decir, que son relativamente homogéneas y contienen pocas sustancias que pueden actuar como interferentes o que pueden dañar a la fase de extracción. A pesar de eso, la vida útil de la fase es de decenas de extracciones.



3.4.3.2 Fase de extracción

Las ecuaciones que describen la microextracción en fase sólida indican que la eficiencia del proceso de extracción depende de la constante de distribución K_{fm} . Esta constante está determinada por las propiedades del recubrimiento y su selectividad hacia el analito contra otros componentes de la matriz.

Las propiedades fisicoquímicas del analito determinarán el recubrimiento que deberá usarse durante la extracción, principalmente la polaridad y volatilidad de los analitos. En general, las fases polares son usadas para analitos polares y las fases no polares para analitos no polares. Tanto el grosor del recubrimiento como la constante de distribución (K_{fm}) influyen en la sensibilidad y tiempo de extracción. Los recubrimientos de mayor grosor suelen incrementar la sensibilidad, pero requieren mayor tiempo de extracción para alcanzar el equilibrio (Risticvic et al., 2012).

Como se mencionó antes, existe una diferencia entre los recubrimientos sólidos y líquidos. En el caso de recubrimientos líquidos los analitos se solvatan por las moléculas del recubrimiento, debido al alto coeficiente de difusión en el recubrimiento y si este es delgado los analitos pueden penetrar el volumen en un tiempo de extracción corto. En este caso, la cantidad extraída al equilibrio varía solo si las propiedades del recubrimiento son modificadas por los componentes extraídos, por ejemplo, cuando la cantidad extraída es una porción significativa de la fase de extracción (saturación de la fase), lo cual es raramente observado ya que en general SPME se usa para la extracción de contaminantes a nivel traza.

En contraste, los sorbentes sólidos poseen una estructura cristalina bien definida, que, si es densa, reduce los coeficientes de difusión dentro de la estructura, por lo tanto, a tiempos cortos la extracción ocurre solo en la superficie del recubrimiento. Si el tiempo de extracción se alarga, se puede llevar a cabo la saturación de la fase o el desplazamiento de analitos con menores afinidades. Este efecto está asociado a que el área superficial disponible para la adsorción está limitada; si esta área se encuentra ocupada, entonces se lleva a cabo el desplazamiento de los analitos causando que la cantidad extraída varíe con concentraciones diferentes de los



analitos y otros compuestos. Lo anterior también provoca que el intervalo lineal de sorbentes sólidos sea menor que para polímeros líquidos.

Para evitar la saturación de fases sólidas y líquidas se pueden usar tiempos de extracción menores al tiempo de equilibrio.

SPME puede ser exhaustiva en caso de que el volumen de la fase de extracción sea suficiente y la constante de distribución K_{fm} sea muy grande. Sin embargo, en caso de que se requiera un gran volumen de recubrimiento, la fase será más gruesa, causando que un mayor tiempo de extracción sea requerido. Esto se ha compensado al dispersar el volumen de extractante en un área mayor para lograr que el grosor sea menor, por ejemplo, en barras de agitación dando lugar a la técnica de *stir bar sorptive extraction* (SBSE).

Cuando se analiza un gran número de analitos en una misma muestra, la diferencia en sus constantes de distribución provoca cromatogramas con áreas de pico pequeñas para analitos con pequeñas constantes de distribución y grandes áreas de pico para compuestos con grandes constantes de distribución.

Además del recubrimiento líquido polimérico de polidimetilsiloxano (PDMS) se han desarrollado otros recubrimientos para un amplio número de aplicaciones. Por ejemplo, se han propuesto recubrimientos de intercambio iónico para extraer iones metálicos de disoluciones acuosas (Risticovic et al., 2012).

Comercialmente se encuentran disponibles una variedad de recubrimientos (ver Tabla 3-13), por ejemplo, de poliacrilato (PA), polidimetilsiloxano (PDMS) en diferentes grosores, fases mixtas como polidimetilsiloxano – divinilbenceno (PDMS-DVB), carbowax – divinilbenceno (CW-DVB). Las fases de extracción comerciales tienen un código de colores para identificar el material del recubrimiento, así como el grosor (Figura 3-5).

El PDMS es un líquido no polar muy viscoso, mientras que el PA es un polímero sólido más polar de baja densidad a temperatura ambiente, esto



Figura 3-5 Esquema de una fase de extracción comercial para SPME



permite a los analitos difundirse a través del recubrimiento, sin embargo, los coeficientes de difusión son menores que en el PDMS.

Los otros recubrimientos son polímeros porosos, en los cuales microesferas porosas de DVB o de Carboxen son inmovilizadas en la fibra de sílice usando Carbowax o PDMS como una clase de pegamento. Cuando se usan estos recubrimientos para la extracción de compuestos relativamente polares las constantes de distribución son, en general, mayores si se comparan con las de PDMS, debido a que la extracción se lleva a cabo mediante adsorción más que por absorción (De Fátima Alpendurada, 2000; Risticovic et al., 2012).

Las condiciones de la fase de extracción son muy importantes, por ende, es necesario realizar un acondicionamiento antes de usarla por primera vez o si lleva mucho tiempo en desuso. El tiempo y temperatura requeridos para cada tipo y grosor de recubrimiento son especificados por el fabricante (ver Tabla 3-13). Si bien las fases tienen una larga vida útil (cientos de extracciones en el caso de HS-SPME y docenas para DI-SPME) si la fase comienza a perder parte del recubrimiento necesita ser reemplazada de inmediato y en caso de la presencia de especies de alto peso molecular es necesaria la limpieza de la fase.

3.4.3.3 Tiempo de extracción

El tiempo de extracción es un parámetro crítico en el proceso de extracción por SPME. El transporte de los analitos de la matriz hacia la fase de extracción comienza en el momento en el que la fase es expuesta a la muestra. El tiempo necesario para llegar al equilibrio va desde pocos minutos hasta varias horas y depende de las propiedades del analito y del recubrimiento usado. Si el tiempo de extracción es suficientemente largo, se alcanzará el equilibrio de distribución entre la fase y la muestra y la cantidad de analito extraída permanecerá constante dentro de los límites del error experimental y será independiente del incremento en el tiempo de extracción.



Tabla 3-13 Características de las fases de extracción comercialmente disponibles para SPME – GC

Recubrimiento	Grosor (µm)	Polaridad	Temperatura máxima (°C)	pH	Compuestos que pueden ser analizados	Acondicionamiento	
						Tiempo (h)	Temperatura (°C)
PDMS	100	No polar	280	2-10	Compuestos volátiles	0.5	250
PDMS	30	No polar	280	2-11	no polares semivolátiles	0.5	250
PDMS	7	No polar	340	2-11	semivolátiles de polaridad media a no polares	1	320
PDMS-DVB	65	Polar-no polar	270	2-11	Volátiles polares	0.5	250
PA	85	Polar	320	2-11	Semivolátiles polares (fenoles)	2	300
Carboxen-PDMS	85	Polar-no polar	320	2-11	Gases y volátiles	1 - 2	300
Carbowax-DVB	65	polar	260	2-9	Polares (alcoholes)	0.5	220
DVB-PDMS-Carboxen⁷	50/30	Polar-no polar	270	2-11	Olores y sabores	1	270

⁷ Disponible en tipo stablifix, longitud de la fase de 2 cm
El color del nombre de la fase corresponde al color de sus soporte.



En caso de que el tiempo necesario para llegar al equilibrio sea muy largo, se pueden usar menores tiempos de extracción, sin embargo, en condiciones de pre-equilibrio, el tiempo de extracción deberá ser estrictamente controlado, para asegurar repetibilidad en los experimentos. (Anil et al., 2012; Mester, Z.; Sturgeon, R.; Pawliszyn, 2001)

La Figura 3-6 muestra la relación típica entre el tiempo de extracción y el analito extraído. Se puede observar que, en el equilibrio, variaciones en el tiempo de extracción no afectan la cantidad de analito extraído por la fase, pero en la parte del pre-equilibrio, incluso pequeñas variaciones en el tiempo de extracción pueden causar variaciones significativas en la cantidad de analito extraída. El error experimental es más grande en tiempos de extracción previos al equilibrio y aún más crítico a tiempos cortos cuando la curva crece rápidamente (Risticovic et al., 2012).

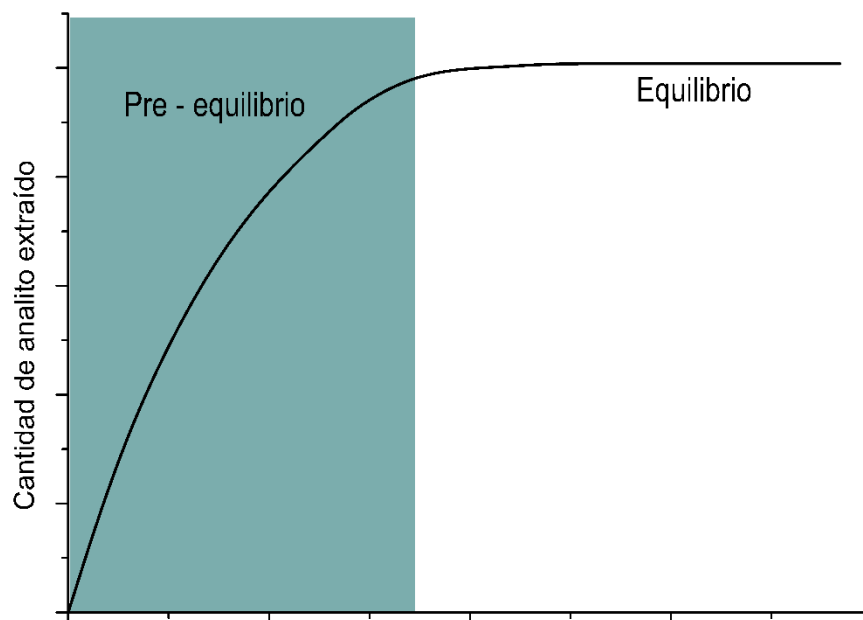


Figura 3-6 Efecto del tiempo en la microextracción en fase sólida



3.4.3.4 Temperatura de extracción

La temperatura de extracción es un parámetro muy importante de optimizar durante SPME ya que tiene influencia sobre las constantes de distribución (K_{fm}) y algunas propiedades fisicoquímicas de los analitos, lo que afecta la cinética del proceso de extracción.

Al incrementar la temperatura de extracción ocurren varios cambios en el sistema: la constante de Henry y los coeficientes de difusión aumentan por lo que los analitos se pueden separar de la matriz y migrar más rápido al espacio cabeza, favoreciendo la extracción por HS-SPME y disminuyendo el tiempo de extracción. Sin embargo, a altas temperaturas las constantes de distribución (K_{fm}) decrecen debido a que el proceso de extracción es exotérmico. El efecto total de realizar la extracción a una temperatura elevada son tiempos de extracción cortos pero pequeñas cantidades de analito extraídas (Risticvic et al., 2012), en caso de que aún se alcancen los límites de detección y cuantificación deseados, será mejor elegir la temperatura que provea el menor tiempo de extracción.

3.4.3.5 Agitación

Cuando se procesan muestras gaseosas los tiempos de equilibrio son cortos y no es necesario usar un método de agitación ya que la difusión de los analitos es suficiente para alcanzar el equilibrio. Sin embargo, en muestras líquidas algún tipo de agitación es necesario, si la muestra no es agitada el tiempo para alcanzar el equilibrio será mucho más largo (Risticvic et al., 2012).

El método más usado es la agitación magnética, es eficiente cuando se usan altas velocidades de rotación, pero se debe cuidar que dicha velocidad rotacional sea constante y que la base del plato no afecte la temperatura elegida del sistema de extracción. En la Tabla 3-14 se muestran los métodos de agitación más comunes en SPME, así como sus ventajas y desventajas (Risticvic et al., 2012)



Tabla 3-14 Métodos de agitación usados comunmente en SPME

Método de agitación	Ventajas	Desventajas
Estático (no agitación)	-Simple -Funciona bien para muestras gaseosas -Equipo común	-Limitado a analitos muy volátiles -Sólo para HS-SPME
Agitación magnética	-Buen desempeño, tanto para analitos volátiles como semivolátiles	-Requiere que la barra de agitación esté en el vial
Vórtex/movimiento del vial	-Buen desempeño -No necesita de la barra de agitación en el vial	-Tensión en la aguja y en la fase de extracción debido al movimiento
Movimiento de la fase de extracción	-Buen desempeño -No necesita de la barra de agitación en el vial	-Tensión en la aguja y en la fase de extracción debido al movimiento -Limitado a volúmenes pequeños de muestra
Ultrasonido	-Tiempos de extracción muy pequeños	-Ruido -Calentamiento no controlado de la muestra

Fuente: (Risticovic et al., 2012)

3.4.3.6 Fuerza iónica

Al igual que en procedimientos de extracción tradicionales, añadir una apropiada concentración de una sal (generalmente NaCl) a la muestra puede mejorar la eficiencia de extracción para análisis a nivel traza. La adición de sal a muestras acuosas incrementa la constante de distribución K_{fm} para muchos analitos, particularmente a compuestos orgánicos neutros, relativamente polares y volátiles (Anil et al., 2012).



3.4.3.7 pH

Para analitos que presentan propiedades ácido – base, el ajuste del pH es necesario para mejorar la sensibilidad, ya que, a menos de que se usen fases de extracción especiales, SPME sólo puede extraer especies no iónicas. Con el ajuste al pH adecuado, ácidos y bases débiles pueden convertirse a su forma neutra y entonces ser extraídos por la fase de SPME. En general, es preferible que el ajuste del pH sea al menos dos unidades por debajo del pK_a para analitos ácidos y al menos dos unidades por encima del pK_b para analitos básicos (Risticvic et al., 2012)

En la práctica, usar DI-SPME en muestras que tienen un pH muy alto o muy bajo puede significar un daño a la fase de extracción, reduciendo la vida útil de la fase o perdiendo linealidad o repetibilidad, por lo tanto, es más recomendable usar HS-SPME si se está analizando una muestra con pH ajustado o cuyo pH inicial está por encima o por debajo del pH de operación recomendado por el fabricante (ver Tabla 3-13).

3.4.3.8 Volumen de extracción

El volumen de la muestra deberá ser al menos 100 veces el producto de $K_{fm}V_f$ para garantizar buenos resultados de sensibilidad y precisión, si se usa un volumen mayor de muestra se maximiza la sensibilidad y se obtiene mejor precisión (Risticvic et al., 2012).

Cuando el volumen de la muestra es grande, la cantidad de analito extraído no significa una perturbación importante al sistema y pequeñas variaciones en el volumen de la muestra y del espacio de cabeza no afectarán sustancialmente a los resultados. En caso de que el volumen de la muestra sea pequeño (cercano a 1 mL) las muestras necesitan ser medidas con exactitud y precisión ya que en viales reducidos, pequeñas variaciones se pueden traducir en resultados no repetibles (Risticvic et al., 2012). En ambos casos, el volumen de todas las muestras deberá ser el mismo para obtener resultados válidos.

Adicionalmente a mantener el volumen de la muestra constante, los viales usados deberán ser siempre del mismo volumen para que el espacio de cabeza sea



constante entre experimentos. Para muestras acuosas el tiempo que transcurre entre la preparación de la muestra con estándar o colección de muestras reales debe ser corto, ya que analitos muy hidrofóbicos pueden adsorberse fuertemente a las superficies del contenedor y no estar disponibles para la extracción.

3.4.3.9 Tiempo y temperatura de desorción

Cuando se realiza el análisis instrumental mediante cromatografía de gases, la desorción de la fase de extracción se lleva a cabo directamente en el inyector del equipo. La alta temperatura del inyector produce un decrecimiento dramático en la constante de distribución K_{hf} y un incremento muy importante en el coeficiente de difusión de los analitos. La temperatura de desorción está determinada por la estabilidad térmica del recubrimiento (ver Tabla 3-13) exceder esta temperatura afectará la vida útil de la fase de extracción e incluso puede presentarse “sangrado” del polímero, lo que puede afectar la separación y cuantificación de los analitos (Risticvic et al., 2012).

La eficiencia de la desorción térmica del analito en el puerto de inyección depende de la volatilidad del analito, el grosor del recubrimiento de la fase, la posición de la inyección, la temperatura del inyector y el tiempo de exposición. Desafortunadamente, en algunas ocasiones se observa un ensanchamiento de los picos cromatográficos debido a una lenta desorción de los analitos de la fase de extracción. Generalmente la temperatura óptima de desorción es aproximadamente igual al punto de ebullición del analito menos volátil. El tiempo de desorción depende de la temperatura del inyector, de la velocidad del flujo lineal del gas acarreador y de qué tan fuertemente adsorbidos estén los analitos a la fase de extracción (Risticvic et al., 2012; Vas & Vékey, 2004)

Cuando se usa un inyector split – splitless, se deberá usar en modo splitless, ya que usar el modo split resulta en una reducción de la sensibilidad. La desorción eficiente de los analitos requiere un alto flujo lineal alrededor de la fase de extracción, esto se logra mediante el uso de un liner con un diámetro mucho más pequeño que los liner convencionales (Risticvic et al., 2012)



3.4.4 Cuantificación mediante la microextracción en fase sólida

Debido a que SPME está basado en un equilibrio de distribución, la cantidad máxima de analito extraído será en el tiempo de equilibrio. La cuantificación mediante SPME es posible, ya que la cantidad de analito extraído por la fase es proporcional a la concentración de este en la muestra; los requerimientos para llevar a cabo la cuantificación son análogos a los usados en otros métodos de preparación de la muestra y análisis instrumental.

Aún cuando no se alcance el equilibrio de partición, SPME es capaz de usarse de forma cuantitativa e incluso añade las ventajas de que la técnica será más rápida, económica y versátil (Vas & Vékey, 2004).

Se han empleado varias estrategias de cuantificación y la decisión sobre cuál de ellas es la más adecuada dependerá de la complejidad de la matriz, así como el tipo de extracción que se llevará a cabo (HS o DI). Para matrices poco complejas, como gases o líquidos simples (por ejemplo, agua potable), se puede usar la cuantificación mediante calibración externa ya que las constantes de distribución son muy similares a las de la matriz pura. Para matrices más complejas, se recomienda usar calibración mediante estándar interno o por adiciones estándar (Risticvic et al., 2012; Vas & Vékey, 2004).

La complejidad de la muestra no solo afecta la constante de distribución sino también el tiempo de equilibrio. Cuando la matriz es heterogénea o muy compleja la cinética de la liberación del analito puede determinar la velocidad de la extracción, en caso de que esto pase, el tiempo de extracción necesitará ajustarse (Risticvic et al., 2012). Además, se deberá verificar que otros compuestos presentes en la matriz no coeluyan con los analitos durante el análisis instrumental.

En general, no existe una diferencia significativa entre las muestras preparadas para la optimización y las muestras reales cuando se usan fases de extracción de polímeros líquidos (PDMS y PA), sin embargo, cuando se usan fases de polímeros porosos la adsorción competitiva de interferentes presentes en la matriz pueden reducir la adsorción del analito. Esto se puede minimizar mediante el uso de



condiciones de pre-equilibrio, es decir, usando un tiempo de extracción corto (Risticovic et al., 2012).

La reproducibilidad y precisión pueden mejorarse mediante el uso cuidadoso de la fase de extracción (tipo de extracción) y monitoreo estricto del tiempo y temperatura durante la extracción.

Por otro lado, antes de llevar a cabo el análisis y una vez acondicionada la fase de extracción se deben realizar blancos de fase para asegurar que esta no introduce interferencias, después del análisis es necesario realizar otro blanco de fase para corroborar que no se adsorbieron compuestos de alto peso molecular y/o que el tiempo de desorción es suficiente para desorber los analitos.

3.4.5 Comparación con otras técnicas de preparación de la muestra

SPME surgió como una alternativa “verde” a técnicas de preparación de la muestra, una de las características más atractivas de SPME es que no usa disolventes orgánicos por lo que no genera residuos químicos. Además elimina algunas desventajas de métodos como SPE o LLE en la Tabla 3-15 (Boyaci et al., 2015) se encuentra una comparación de estos tres métodos de preparación de la muestra.

Tomando en cuenta varios aspectos económicos incluido el costo de personal, los suministros, transporte y equipo, se estimó el costo por muestra para tres diferentes técnicas de preparación de la muestra (para muestras acuosas) y resultó que el costo de análisis de una muestra por SPME es de 37 USD, por SPE es de 48.5 mientras que por ELISA es de 60 USD (Dalvie et al., 2005).



Tabla 3-15 Resumen comparativo entre microextracción en fase sólida (SPME), extracción en fase sólida (SPE) y extracción líquido-líquido (LLE)

Características	SPME	SPE	LLE
<p>Proceso (Piri-Moghadam, Ahmadi, & Pawliszyn, 2016)</p>	<p>Extracción directa o en espacio cabeza</p> <p>↓</p> <p>Desorción directa en el instrumento</p>	<p>Acondicionamiento de los cartuchos</p> <p>↓</p> <p>Carga de la muestra</p> <p>↓</p> <p>Lavado</p> <p>↓</p> <p>Concentración de los analitos</p> <p>↓</p> <p>Inyección al instrumento</p>	<p>Adición de disolvente(s) a la muestra original</p> <p>↓</p> <p>Agitación</p> <p>↓</p> <p>Separación de la fase</p> <p>↓</p> <p>Evaporación/reconstitución</p> <p>↓</p> <p>Inyección a los instrumentos</p>



Continuación Tabla 3-15 Resumen comparativo entre microextracción en fase sólida (SPME), extracción en fase sólida (SPE) y extracción líquido-líquido (LLE)

Características	SPME	SPE	LLE
Cuantificación	Principalmente no exhaustiva.	Es exhaustiva	La extracción exhaustiva se puede alcanzar mediante la repetición de la extracción en la misma muestra con disolventes nuevos.
Calibración	Métodos de calibración estándar ⁸ y métodos de calibración alternativos.	Métodos de calibración estándar ⁸	Métodos de calibración estándar ⁸
Volumen de muestra	Microlitros hasta volúmenes ilimitadamente grandes (en sitio y en vivo)	Limitado por el volumen de ruptura. Mililitros a litros	Mililitros a litros
Aplicación a muestras complejas	Aplicable a todos los tipos de matrices complejas ⁹	Limitado a líquidos que pueden ser filtrados o centrifugados ¹⁰	Aplicable para todos los tipos de matrices complejas
Sensibilidad	Buena, puede estar limitada por el volumen de fase de extracción para muestras pequeñas	Buena, limitada por el volumen de ruptura de los compuestos	Buena, factores de pre-concentración altos.

⁸ Métodos de calibración estándar como calibración externa, calibración por estándar interno y calibración por adiciones estándar.

⁹ Aplicable a una variedad de matrices complejas dado que existen diferentes fases de extracción disponibles

¹⁰ Aplicable a matrices sólidas y semi-sólidas cuando se aplica una pre-extracción por LLE.

Fuente (Boyaci et al., 2015)



Continuación Tabla 3-15 Resumen comparativo entre microextracción en fase sólida (SPME), extracción en fase sólida (SPE) y extracción líquido-líquido (LLE)

Características	SPME	SPE	LLE
Consumo de disolventes	No requiere el uso de disolventes orgánicos o requiere un consumo muy bajo	Relativamente bajo consumo de disolventes orgánicos	Gran cantidad de disolventes orgánicos
Volumen de la fase de extracción	Pequeña	Grande	Grande
Selectividad de la fase de extracción	Buena	Buena	Pobre
Pre-tratamiento de la muestra	Principalmente ajuste de pH ¹¹	Ajuste de pH ⁹ filtración / centrifugación de matrices complejas	Principalmente ajuste pH ⁹
Aplicación en sitio / en vivo	Aplicable para en sitio y en vivo	Raramente aplicable en sitio	No aplicable
Automatización	Aplicable y bien documentada	Parcialmente/ no común	Pobre

Fuente: (Boyaci et al., 2015)

¹¹ En caso de que sean determinados compuestos con propiedades ácido – base



3.5 Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS) para el análisis de muestras ambientales

Las demandas ambientales y ecotoxicológicas le exigen a los métodos analíticos dos principales consideraciones: técnicas y tecnología que sea amigable con el ambiente. Esto se traduce en la ausencia o en su defecto la mínima cantidad de emisiones de residuos y la determinación de un amplio espectro de analitos en niveles muy bajos de concentraciones (ng L^{-1} o incluso menores) en matrices complejas (Namieśnik & Wardencki, 2000).

La elección del método de cromatografía, así como el detector empleado depende de las propiedades del analito. La cromatografía de gases y en especial acoplada a un detector selectivo de masas (GC-MS) ha sido una de las técnicas de análisis instrumental preferidas para el análisis cualitativo y cuantitativo de compuestos orgánicos en muestras ambientales. Si bien antes de realizar el análisis instrumental es necesaria la preparación de la muestra, en conjunto con técnicas como SPME, los métodos analíticos se vuelven sensibles y rápidos, con buen desempeño analítico como amplio rango lineal y bajos límites de detección y cuantificación. Estas técnicas en conjunto se han automatizado, lo que permite el análisis de un gran número de muestras aprovechando al máximo los recursos disponibles.

La separación de los analitos es también un parte importante de la metodología analítica ya que de eso depende la cuantificación exitosa de los analitos, esto se puede lograr mediante la optimización de las condiciones cromatográficas usadas. Además, al usar un espectrómetro de masas como detector, se maximiza la sensibilidad y la selectividad del método.

Desde la invención y con la disponibilidad comercial de dispositivos y fases de extracción para SPME, se ha visto un rápido crecimiento en el número de aplicaciones, mismo que es evidenciado por los artículos publicados. El campo más explorado es el del análisis ambiental, principalmente de compuestos orgánicos en una amplia variedad de matrices (Risticovic et al., 2012).



4 Desarrollo Experimental

4.1 Material, reactivos y equipo

4.1.1 Reactivos

- Metanol grado HPLC, $\geq 99.9\%$, Sigma-Aldrich (USA)
- Diclorometano anhidro, $\geq 99.8\%$, Sigma-Aldrich, (USA)
- Cloruro de sodio, $\geq 99\%$, Sigma-Aldrich, (USA)
- Helio 5.0, ultra alta pureza
- Agua tipo I
- Agua tipo II

4.1.2 Estándares

- Mezcla de benceno, tolueno, etilbenceno, p-xileno, m-xileno, o-xileno. Material de referencia certificado de concentración $2000\ \mu\text{g mL}^{-1}$ en metanol, volumen 1 mL, número de lote XA22231V, fecha de caducidad: octubre de 2019.
- Mezcla de hidrocarburos aromáticos policíclicos que contiene: 2-metilnaftaleno, acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo(a)antraceno, criseno, fluoreno, benzo(b)fluoranteno, benzo(g,h,i)perileno, benzo(k)fluoranteno, dibenzo(a,h)antraceno, fluoranteno, indeno(1,2,3-cd)pireno, naftaleno, fenantreno y pireno. Material de referencia certificado de $1000\ \mu\text{g mL}^{-1}$ en diclorometano, volumen 1.5 mL, número de lote LRAB4283, fecha de caducidad: diciembre de 2021.

4.1.3 Instrumentación y equipos

- Cromatógrafo de gases Hewlett Packard 6890N acoplado a un detector selectivo de masas Hewlett Packard 5973. Equipado con columna capilar



HP-5MS-UI de 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, con inyector split – splitless, usando un liner de diámetro 0.75 mm

- Balanza analítica, OHAUS, modelo E12140, resolución 0.0001 g
- Fases de extracción para microextracción en fase sólida, Supelco (Bellefonte, PA, USA)
- Material volumétrico

4.1.4 Muestras

Se recolectaron muestras de agua potable, agua superficial, agua embotellada, agua residual y de sobrenadante de lodo residual. Las muestras fueron recolectadas en envases de vidrio color ámbar y se resguardaron en refrigeración a aproximadamente 4 °C. A continuación, se presentan los datos de cada una de estas muestras:

- Agua embotellada, marca Bonafont®, lote A3 02:15 L130
- Sobrenadante de lodo residual de la planta de tratamiento de agua residual de Cerro de la Estrella, Iztapalapa, CDMX.
- Agua residual municipal de Cerro Colorado, Atotonilco, Hidalgo.
- Agua potable del manantial de Cerro Colorado, Atotonilco, Hidalgo.
- Agua potable de un bebedero de la Facultad de Química de la UNAM, Ciudad Universitaria, Coyoacán, CDMX.
- Agua potable residencial de la alcaldía Iztapalapa, CDMX.
- Agua potable residencial de la alcaldía Venustiano Carranza, CDMX.
- Agua potable residencial del Estado de México.
- Agua superficial del río Tula, Hidalgo.



4.2 Desarrollo del método para determinación de BTEX en muestras acuosas

Todas las pruebas se realizaron usando 10.0 mL de agua tipo I en viales de vidrio transparente marca Agilent de 20 mL, engrapados usando una tapa de aluminio de 20 mm con septum de PTFE/butil de 20 mm. Las muestras se prepararon en el momento que se analizaron. En caso de que en el análisis se necesitara una concentración de NaCl, se pesó la cantidad necesaria de NaCl usando la balanza analítica y se adicionó a los 10.0 mL.

A partir del material de referencia certificado se prepararon múltiples disoluciones en metanol grado HPLC de diferentes concentraciones. Cada muestra se preparó con la concentración adecuada del estándar de BTEX dependiendo de la prueba que se llevaría a cabo. Cada analito tiene la misma concentración en el material de referencia certificado y por ende en cada análisis.

4.2.1 Condiciones cromatográficas

Se usó un cromatógrafo de gases Hewlett Packard modelo HP-6890 equipado con una columna capilar HP5-MS-UI de 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm y acoplado a un detector selectivo de masas Hewlett Packard HP-5973. El gas acarreador es helio de alta pureza. El inyector se operó en modo splitless y la inyección fue manual. Se realizaron diferentes pruebas de programas de temperatura y se eligió el que provee mejores resultados de separación con el menor tiempo de análisis.

El detector selectivo de masas se operó en modo SCAN para los blancos de fase previos al análisis, blancos de muestra y para las pruebas de selección de fase de extracción. Para el resto de las pruebas se usó el modo SIM ya que proporciona mejor sensibilidad. En la Tabla 4-1 se presentan los iones fragmento (m/z) que se seleccionaron para este método. El programa de temperatura y otros parámetros como temperatura del inyector y el flujo de helio son los mismos en modo SCAN y modo SIM.



El flujo de helio se mantuvo en 1.0 mL min^{-1} . La temperatura del inyector se mantuvo en $250 \text{ }^\circ\text{C}$. La interfaz entre el cromatógrafo y el detector de masas fue de $280 \text{ }^\circ\text{C}$. La temperatura del cuadruplo y de la fuente de ionización fueron 150 y $230 \text{ }^\circ\text{C}$ respectivamente. Se realizó una elución mediante el siguiente programa de temperatura: temperatura inicial $35 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1 min , rampa de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ hasta $80 \text{ }^\circ\text{C}$ donde se mantiene por 2 min (Figura 4-1). El tiempo total de análisis es de 7.50 min .

Tabla 4-1 Iones fragmento seleccionados para BTEX para el

Compuesto	Iones fragmento (c/z)
Benceno	52, 91, 92
Tolueno	65, 91, 92
Etilbenceno	51, 91, 106
m-, p-xileno	77, 91, 106
o-xileno	77, 91, 106

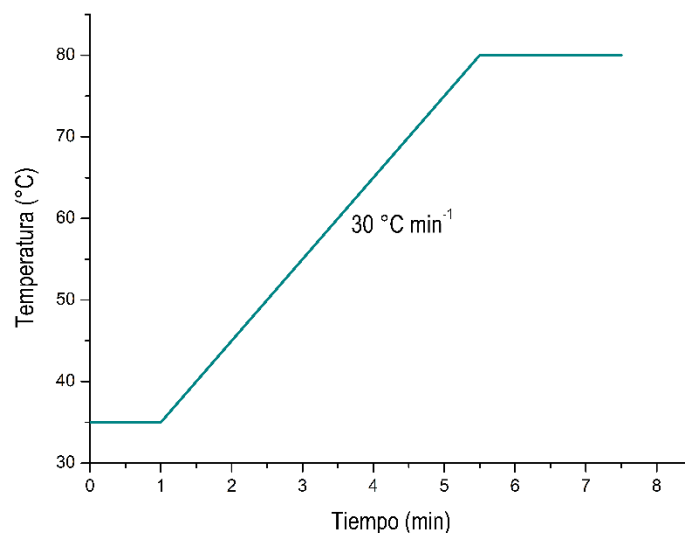


Figura 4-1 Programa de temperatura para la determinación de BTEX

4.2.2 Optimización de la microextracción en fase sólida para la determinación de BTEX en matrices acuosas

Debido a que BTEX son compuestos volátiles, todas las extracciones se llevaron a cabo en el espacio de cabeza (HS-SPME), se optimizaron los parámetros de: tipo de fase de extracción, tiempo y temperatura de desorción, tiempo y temperatura de extracción y concentración de NaCl. El pH no se modificó porque los analitos no presentan propiedades ácido-base.

4.2.2.1 Fase de extracción

Se evaluaron por triplicado las fases de PDMS $100 \mu\text{m}$, PDMS $7 \mu\text{m}$, PA $85 \mu\text{m}$, PDMS-DVB $65 \mu\text{m}$. Previo a los experimentos, las fases de extracción se



acondicionaron de acuerdo con lo especificado por el fabricante. Los análisis se realizaron fijando todas las variables de extracción y cambiando la fase de extracción empleada. Las pruebas se realizaron bajo las condiciones cromatográficas descritas anteriormente. Se realizó la microextracción en fase sólida en el espacio de cabeza, ajustando la altura de la fase de extracción en 2 con ayuda de la guía del dispositivo, para que la fase no entrara en contacto con la muestra; se aplicó agitación magnética empleando una barra de agitación a 1000 rpm, el volumen de la muestra fue de 10.0 mL, la concentración de BTEX fue de 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ y no se añadió NaCl ni se modificó el pH, la extracción se llevó a cabo por 10 min y a 80 °C. Se usaron 6 minutos de desorción a 250 °C.

4.2.2.1.1 *Tiempo y temperatura de desorción*

Una vez elegida la fase de extracción óptima, se fijó la temperatura del inyector en la temperatura de acondicionamiento recomendada por el fabricante para proteger la vida útil del recubrimiento. Se realizaron extracciones a las mismas condiciones de la optimización de la fase de extracción y se varió el tiempo de desorción. Después de cada análisis se realizó un blanco de fase para determinar si aún había restos de los analitos en la fase, se eligió como óptimo el menor tiempo de desorción que no mostró restos de los analitos.

4.2.2.2 Optimización del tiempo, temperatura de extracción y porcentaje de NaCl

Estos parámetros se optimizaron estudiando el efecto que tienen sobre la cantidad de analito extraída. Se realizó un diseño experimental factorial 2^3 , es decir, tres factores con dos niveles. Los factores se definieron como continuos y controlables. La concentración de BTEX fue de 250 ng mL^{-1} . El porcentaje de NaCl está expresado a partir de la solubilidad máxima del NaCl, siendo 360 g L^{-1} el 100 %. Los niveles se eligieron con base en la literatura y en algunas pruebas experimentales previas y se muestran en la Tabla 4-2.



Tabla 4-2 Niveles de las variables usadas en el diseño experimental

Niveles	Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Porcentaje de NaCl (%)
Alto (+1)	20	50	80
Central (0)	12.5	40	40
Bajo (-1)	5	30	0

La Tabla 4-3 muestra la matriz de experimentación, los valores se encuentran codificados, siendo +1 para el nivel alto, 0 para el nivel medio y -1 para el nivel bajo. Los valores reales son los valores que tomará cada factor en la experimentación. Este diseño se llevó a cabo por triplicado, en total se realizaron 30 análisis. La secuencia se refiere a la prueba según la tabla de signos construida y dos puntos centrales, el número de corrida es el orden en el que se realizaron las pruebas, son diferentes ya que los experimentos se aleatorizaron, para evitar errores sistemáticos en los resultados.

Tabla 4-3 Diseño experimental 2³ para la optimización de porcentaje de NaCl, tiempo y temperatura de extracción para el análisis de BTEX

Secuencia	Tiempo	Temperatura	% de NaCl	Corrida
1	0	0	0	1
2	-1	-1	-1	6
3	+1	-1	-1	4
4	-1	+1	-1	5
5	+1	+1	-1	9
6	-1	-1	+1	3
7	+1	-1	+1	2
8	-1	+1	+1	7
9	+1	+1	+1	8
10	0	0	0	10



4.2.2.3 Determinación de la linealidad, precisión, límites de detección y cuantificación

Una vez que se encontraron las condiciones óptimas para la determinación de BTEX en muestras acuosas se realizó un barrido de linealidad en un intervalo de 1 a 850 ng mL⁻¹. Se prepararon curvas de calibración por triplicado con al menos seis puntos en dos intervalos lineales, de 10 a 100 ng mL⁻¹ y de 100 a 850 ng mL⁻¹. La precisión se midió a tres niveles de concentración (500, 100 y 10 µg L⁻¹) por sextuplicado. Los límites de detección y cuantificación se calcularon usando una curva de calibración en un intervalo de 1 a 4 ng mL⁻¹ y la desviación estándar de la regresión.

4.3 Desarrollo del método para determinación de HAP's en muestras acuosas

Todas las pruebas se realizaron usando 10.0 mL de agua tipo I en viales de vidrio transparente marca Agilent de 20 mL, se sellaron herméticamente usando una tapa de aluminio de 20 mm y un septum de PTFE/butil de 20 mm. Las muestras se prepararon en el momento que se analizaron. En caso de que en la prueba se necesitara una concentración de NaCl, se añadió la cantidad requerida.

A partir del material de referencia certificado se prepararon disoluciones a diferentes concentraciones en diclorometano anhidro. Cada analito tiene la misma concentración en el material de referencia certificado y por ende en cada prueba.

4.3.1 Condiciones cromatográficas

Se usó un cromatógrafo de gases Hewlett Packard modelo HP-6890 equipado con una columna capilar HP5-MS-UI de 30 m × 0.25 mm × 0.25 µm y acoplado a un detector selectivo de masas Hewlett Packard HP-5973. El gas acarreador es helio de alta pureza. Las inyecciones fueron de forma manual y el inyector se operó en modo splitless. Se realizaron diferentes pruebas de programas de temperatura y se eligió el que provee mejores resultados con el menor tiempo de análisis.



El detector selectivo de masas se operó en modo SCAN para los blancos de fase previos al análisis y blancos de muestra. El resto de las pruebas se usó en modo SIM. En la Tabla 4.4 se pueden observar los iones fragmento que se seleccionaron para este método. El programa de temperatura y otros parámetros como temperatura de inyector y flujo de gas son las mismas en modo SIM y modo SCAN.

Tabla 4-4 Iones fragmento seleccionados para HAP's para el análisis por SIM

Compuesto	Abreviatura	Iones fragmento m/z
Naftaleno	NAF	127, 128,
2-metilnaftaleno	MNAF	141, 142
Acenaftileno	ACEL	151, 152
Acenafteno	ACE	153, 154
Fluoreno	FLU	165, 166
Fenantreno	FEN	178, 179
Antraceno	ANT	178, 179
Fluoranteno	FLT	201, 202
Pireno	PIR	101, 102
Benz(a)antraceno	BAA	114, 228
Criseno	CRI	113, 228
Benzo(b)fluoranteno	BBF	126, 252
Benzo(k)fluoranteno	BKF	126, 252
Indeno(1,2,3-cd)pireno	IND	138, 276, 278
Dibenz(a,h)antraceno	DBA	138, 276, 278
Benzo(g,h,i)perileno	BGP	138, 276, 278

El flujo de helio se mantuvo en 1.4 mL min⁻¹. La temperatura del inyector se mantuvo en 265 °C. La interfaz entre el cromatógrafo y el detector de masas se estableció en 280 °C. La temperatura del cuadruplo y de la fuente de ionización fueron 150 y 230 °C respectivamente. Se realizó una elución usando el siguiente programa de temperatura: temperatura inicial 130 °C por 4 min, rampa de 30 °C min⁻¹ hasta 210 °C, rampa de 3 °C min⁻¹ hasta 220 °C, finalmente rampa de



20 °C min⁻¹ hasta llegar a 310 °C donde se mantuvo 5 min (Figura 4-2). El tiempo total de análisis es de 19.5 min.

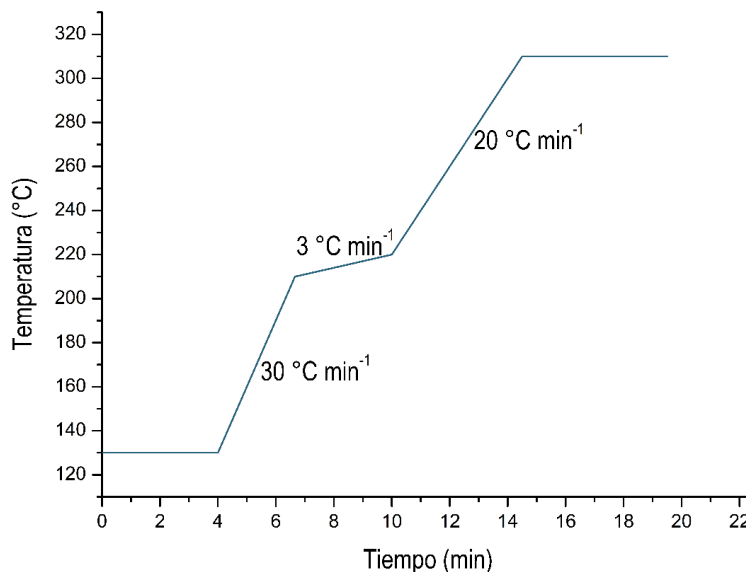


Figura 4-2 Programa de temperatura para el análisis de HAP's

4.3.2 Optimización de la microextracción en fase sólida para la determinación de HAP's en matrices acuosas

4.3.2.1 Tipo de extracción

En primer lugar, eligió el tipo de extracción entre HS-SPME y DI-SPME. Para realizarlo se usó una concentración de 50 ng mL⁻¹ de cada HAP, se mantuvieron constantes las condiciones de extracción y se varió entre extracción en espacio de cabeza y extracción por inmersión directa; estas pruebas se realizaron por triplicado usando las condiciones cromatográficas descritas anteriormente, usando monitoreo selectivo de iones (SIM), se usó la fase de extracción PDMS – DVB 65 µm, la temperatura fue de 50 °C, 40 min, sin adicionar NaCl ni modificar el pH.

4.3.2.2 Fase de extracción

Se evaluaron por triplicado las fases de PDMS 100 µm, PDMS 7 µm, PA 85 µm, PDMS-DVB 65 µm y PDMS-DVB-CAR 50/30 µm. Previo a los experimentos, las



fases de extracción se acondicionaron de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Las pruebas se llevaron a cabo fijando las condiciones de extracción y cambiando la fase, respetando el modo de extracción que ya se había evaluado. Se usó una concentración de 50 ng mL^{-1} , tiempo de extracción de 40 min y temperatura de $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.3.2.2.1 *Tiempo y temperatura de desorción*

Una vez elegidos el tipo y la fase de extracción óptimos, se realizaron extracciones a las mismas condiciones de la optimización de la fase de extracción y se varió el tiempo y temperatura de desorción. Posterior a cada análisis se realizaron blancos de fase para determinar si aún había restos de los analitos en la fase. Se fijó la temperatura del inyector $5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por debajo de la temperatura máxima de operación ya que los analitos muestran una fuerte afinidad por la fase de extracción, esto también provocó que el tiempo de desorción necesario fuera largo.

4.3.2.3 Optimización del tiempo, temperatura de extracción y porcentaje de NaCl

Al igual que para BTEX, estos parámetros se optimizaron estudiando el efecto que tienen sobre la cantidad de analito extraída mediante un diseño experimental factorial 2^3 . No se evaluó el efecto del pH porque los analitos no presentan propiedades ácido base. Los niveles se eligieron con base en lo reportado en la literatura y en algunas pruebas experimentales previas y se muestran en la Tabla 4-5. El porcentaje de NaCl está expresado a partir de la solubilidad máxima del NaCl, que es de 360 g L^{-1} el 100 %.



Tabla 4-5 Niveles de las variables usadas en el diseño experimental

Niveles	Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Porcentaje de NaCl (%)
Alto (+1)	60	70	80
Central (0)	50	60	40
Bajo (-1)	40	50	0

La Tabla 4-6 muestra la matriz de experimentación, los valores se encuentran codificados, siendo +1 para el nivel alto, 0 para el nivel medio y -1 para el nivel bajo. Los valores reales son los valores que tomará cada factor en la experimentación. La secuencia se refiere al análisis según la tabla de signos construida y dos puntos centrales, el número de corrida es el orden en el que se realizaron estos, son diferentes ya que se aleatorizaron, para evitar errores sistemáticos en los resultados

Tabla 4-6 Diseño experimental para la optimización del porcentaje de NaCl, tiempo y temperatura de extracción para el análisis de HAP's

Secuencia	Tiempo	Temperatura	% de NaCl	Corrida
1	0	0	0	3
2	-	-	-	5
3	+	-	-	10
4	-	+	-	7
5	+	+	-	8
6	-	-	+	6
7	+	-	+	2
8	-	+	+	4
9	+	+	+	1
10	0	0	0	9



4.3.2.4 Determinación de la linealidad, precisión, límites de detección y cuantificación

Una vez que se encontraron las condiciones óptimas para la determinación de los 16 HAP's en muestras acuosas, se prepararon curvas de calibración por triplicado en un intervalo de 10 a 100 ng mL⁻¹. La precisión se midió por triplicado a 50 ng mL⁻¹. Los límites de detección y cuantificación para naftaleno, 2-metilnaftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno y pireno se calcularon usando una curva de calibración de 0.02 a 0.06 ng mL⁻¹, para los analitos restantes se usó la curva de 10 – 40 ng mL⁻¹, en ambos casos se calcularon usando la desviación estándar de la ordenada al origen.

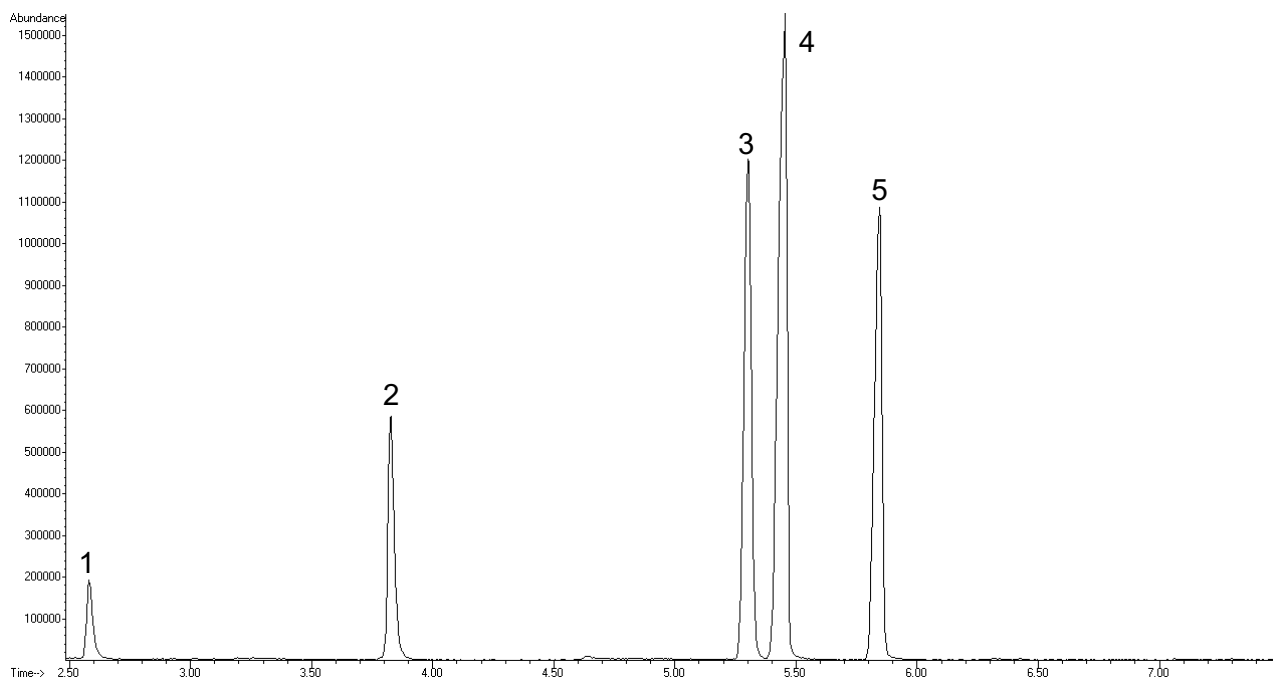


5 Resultados

5.1 Desarrollo del método para la determinación de BTEX

5.1.1 Análisis cromatográfico

En primer lugar, mediante un barrido total de iones (SCAN), se identificaron y obtuvieron los espectros de masas de BTEX, posteriormente a partir de los espectros de masas se eligieron los iones para realizar el análisis por monitoreo selectivo de iones (SIM). Las figuras 5-1 y 5-2 muestran cromatogramas típicos obtenidos usando las condiciones cromatográficas mencionadas en la sección de desarrollo experimental. La Tabla 5-1 presenta el tiempo de retención para cada compuesto.



**Figura 5-1 Cromatograma por barrido total de iones (SCAN) de BTEX
extraídos por HS-SPME**

Concentración añadida a la muestra: 250 ng mL⁻¹

(1) benceno, (2) tolueno, (3) etilbenceno, (4) m-, p-xileno, (5) o-xileno

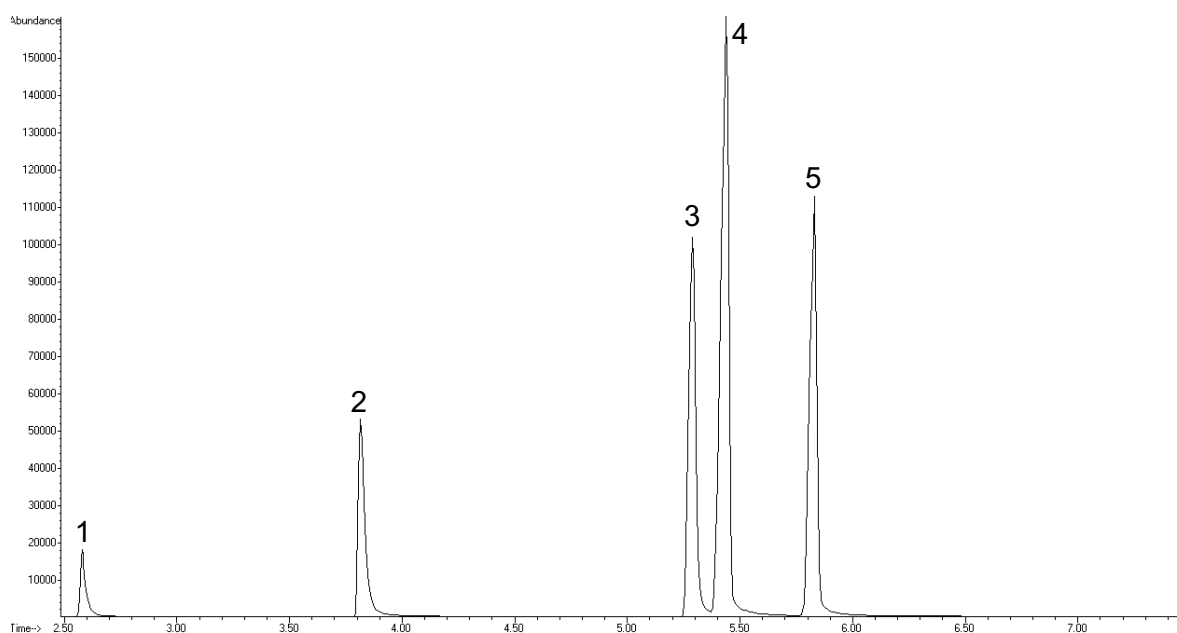


Figura 5-2 Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) de BTEX extraídos por HS-SPME

Concentración añadida a la muestra: 250 ng mL⁻¹

(1) benceno, (2) tolueno, (3) etilbenceno, (4) m-, p-xileno, (5) o-xileno

Tabla 5-1 Tiempo de retención para BTEX

Compuesto	Tiempo de retención (min)
Benceno	2.58
Tolueno	3.82
Etilbenceno	5.29
m-, p-Xileno	5.44
o-Xileno	5.83

El tiempo de retención de los analitos detectados por SIM y SCAN es muy similar, sin embargo, el análisis mediante SIM proporciona una mayor sensibilidad, lo que permite analizar muestras a concentraciones más pequeñas, es decir, provee



menores límites de detección. Lo anterior es valioso para la finalidad de la metodología analítica ya que se realizan análisis a nivel traza.

5.1.2 Optimización de SPME

5.1.2.1 Fase de extracción

Se evaluaron las fases de PDMS 100 μm , PDMS 7 μm , PA 85 μm y PDMS-DVB 65 μm . La Figura 5-3 muestra la comparación de la respuesta de cada analito con cada fase de extracción. Con la fase de PA 85 μm no se obtuvieron buenos resultados, por lo que no se observaron los picos cromatográficos correspondientes a los analitos.

Las respuestas obtenidas con las fases de PDMS 100 μm y PDMS-DVB 65 μm son similares, sin embargo, son ligeramente mayores y con menor variación con la fase PDMS 100 μm , por lo que fue la fase de extracción que se eligió para llevar a cabo la metodología.

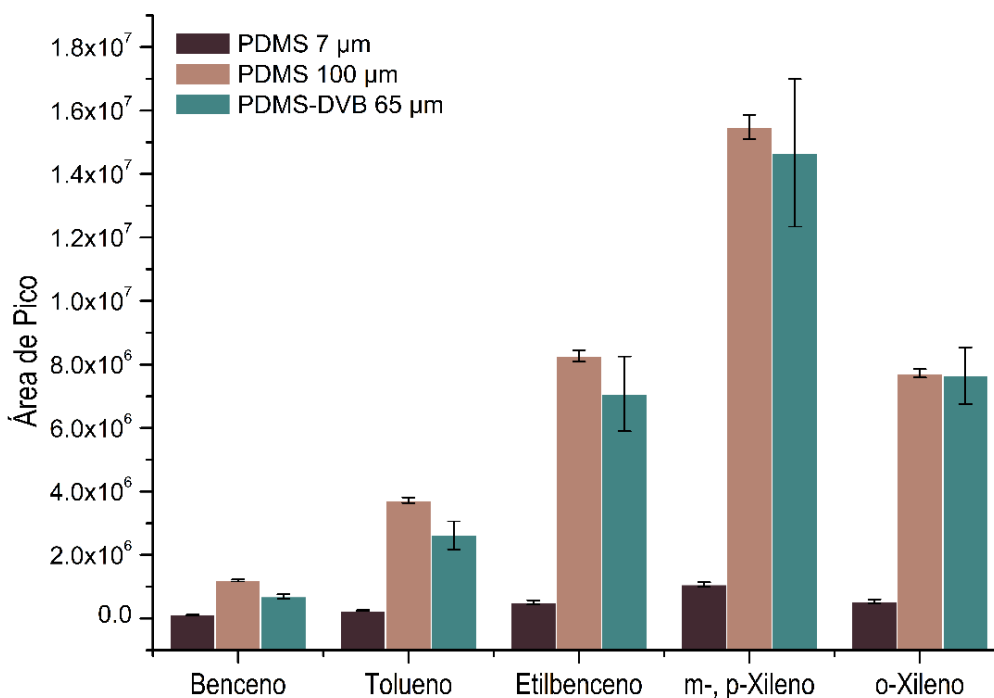


Figura 5-3 Comparación del área cromatográfica obtenida con las diferentes fases de extracción evaluadas



5.1.2.1.1 Tiempo y temperatura de desorción

Usando la fase de PDMS 100 μm se estableció la temperatura del inyector a 250 °C, esta temperatura es suficiente para desorber los analitos de la fase de extracción. Se realizaron pruebas con tiempo de desorción de 7, 5 y 3 minutos usando las mismas condiciones de extracción que para la elección de la fase. Después de cada extracción se realizó un blanco de fase que consiste en la exposición de la fase en el inyector sin previa exposición a una muestra o estándar y se observó que 3 minutos son suficientes para la completa desorción de los analitos ya que no se observan los picos cromatográficos de estos.

5.1.2.2 Tiempo, temperatura y concentración de NaCl

Estos parámetros se optimizaron usando un diseño factorial 2^3 . La planeación y análisis del diseño experimental se realizó usando el software *Statgraphics*, mismo que permitió la construcción de los gráficos presentados a continuación.

El análisis de los gráficos de Pareto (Figura 5-4) obtenidos para cada analito indican cuales variables tienen un efecto estadísticamente significativo en la extracción. Aquellos factores cuyo efecto estandarizado se encuentra sobre las líneas de corte indican que su efecto es significativo con un intervalo de confianza del 95 %.

Las barras en color gris indican que el factor ejerce un efecto negativo en la extracción, es decir, la desfavorecen. Por el contrario, las barras en color verde son factores que ejercen un efecto positivo en la extracción.

En resumen, para BTEX el porcentaje de NaCl añadido a la muestra tiene un efecto muy importante y positivo sobre la cantidad de analito extraído, es decir, favorecen la extracción. Por el contrario, la temperatura de extracción muestra un efecto importante pero negativo, mientras que el tiempo de extracción muestra un efecto positivo, pero menos relevante. Por otro lado, las interacciones de los efectos son estadísticamente significativas, excepto la interacción tiempo de extracción – temperatura de extracción.



Derivado del diseño experimental, también se construyeron gráficos de efectos principales (Figura 5-5). En estos se puede observar la variación de la respuesta promedio de los analitos de acuerdo con el nivel mínimo (-1) y máximo (+1) de cada factor. La pendiente de la línea indica el impacto que tiene cada factor sobre la respuesta del analito, es decir, sobre la cantidad de analito extraída.

Para todos los analitos el factor con menor impacto es el tiempo de extracción, esto se debe a que la extracción se realizó bajo condiciones cercanas al equilibrio. Por ende, cambios en el tiempo de extracción no provocan modificaciones tan relevantes en la cantidad de analito extraído.

En concordancia con los gráficos de Pareto, se puede observar que para todos los analitos la temperatura de extracción tiene un fuerte impacto, obteniendo una mayor área de pico cromatográfico cuando esta se encuentra en su nivel mínimo, es decir, a 30 °C. El porcentaje de NaCl añadido a la muestra también tiene un fuerte impacto sobre la respuesta, presentando una pendiente aún más pronunciada para los analitos más volátiles y obteniendo mejor respuesta en su nivel máximo, es decir, 80 % o 2.8 g de NaCl. Esto se debe a que al aumentar la concentración de NaCl se favorece la volatilización de los analitos.

Para cada analito se realizó una superficie de respuesta, fijando el tiempo de extracción en el nivel máximo (+1.0 = 20 minutos). En el eje z se puede observar el área de pico cromatográfico promedio de las repeticiones del diseño experimental. En los ejes x y y se observa respectivamente la temperatura de extracción (B) y la cantidad de NaCl añadida (C). Los gráficos están delimitados entre -1 y 1 porque están construidos a partir de los valores codificados de las variables.

Debido a que los analitos poseen propiedades fisicoquímicas parecidas, responden de forma similar a los cambios en las condiciones de extracción y por consecuencia sus superficies de respuesta son parecidas, respetando la diferencia en las áreas de pico cromatográfico.

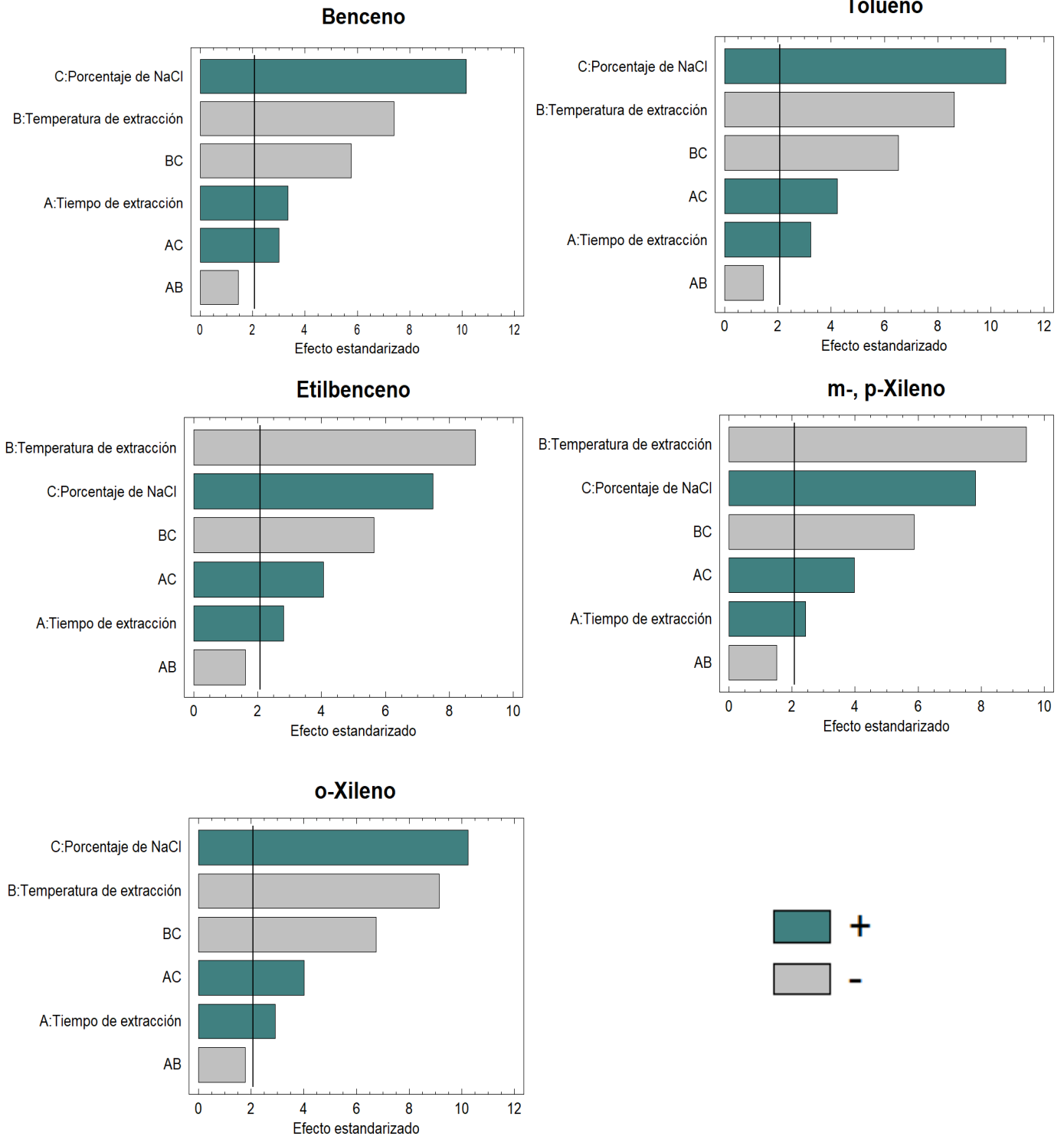


Figura 5-4 Gráficos de Pareto estandarizados para BTEX derivados del diseño experimental

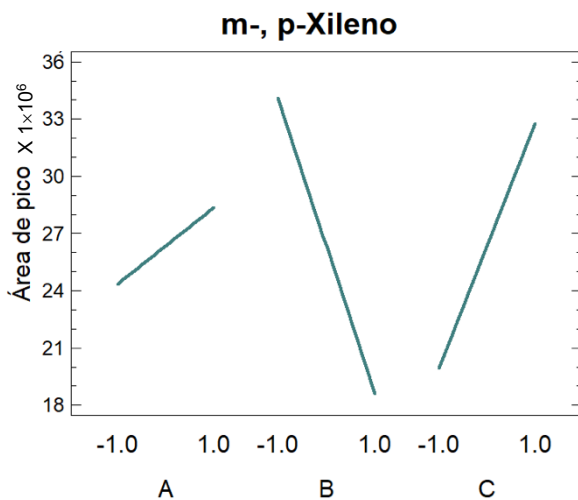
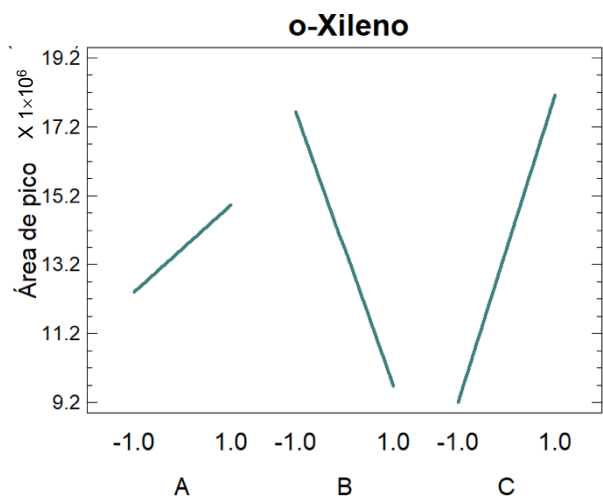
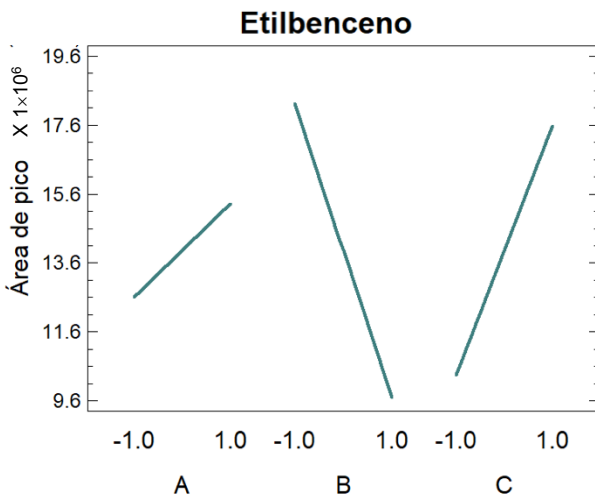
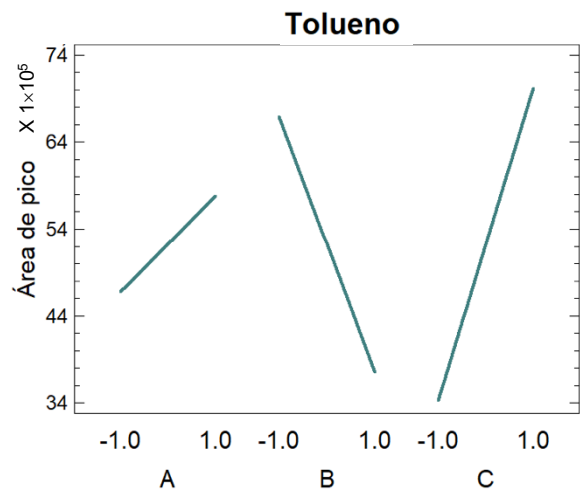
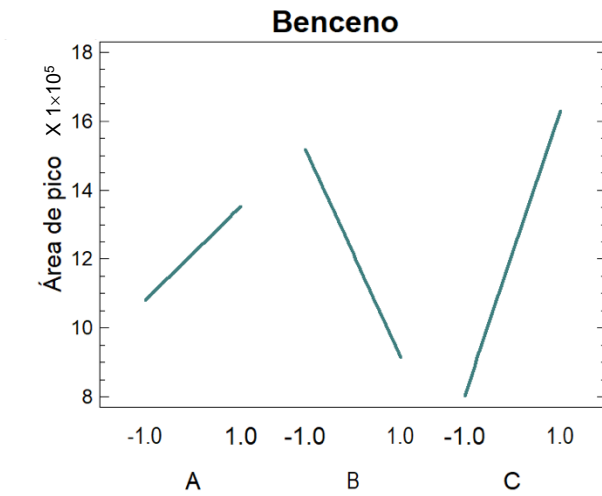


Figura 5-5 Gráficos de efectos principales para BTEX

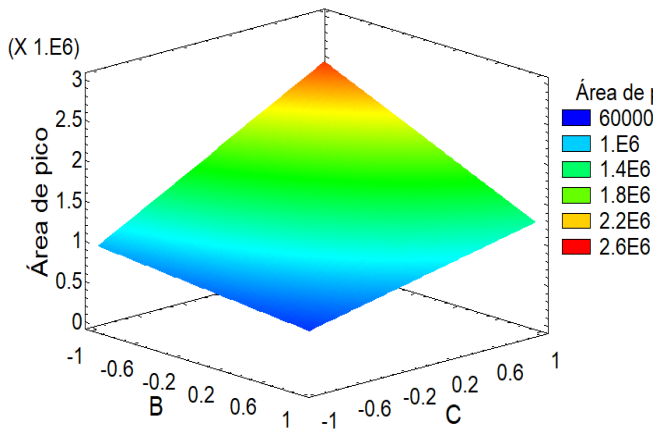
A: tiempo de extracción

B: temperatura de extracción

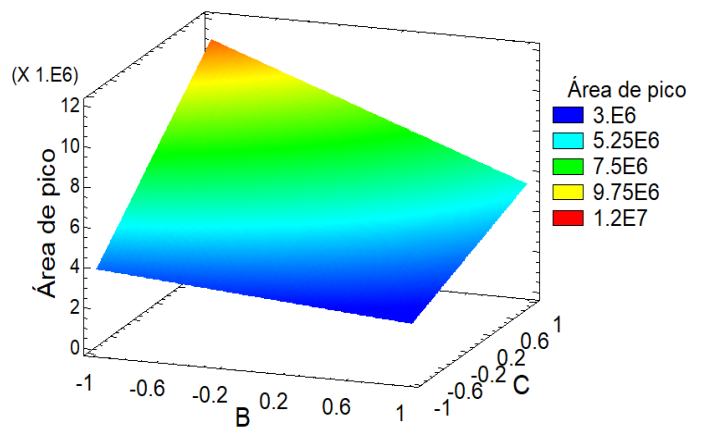
C: % de NaCl añadido



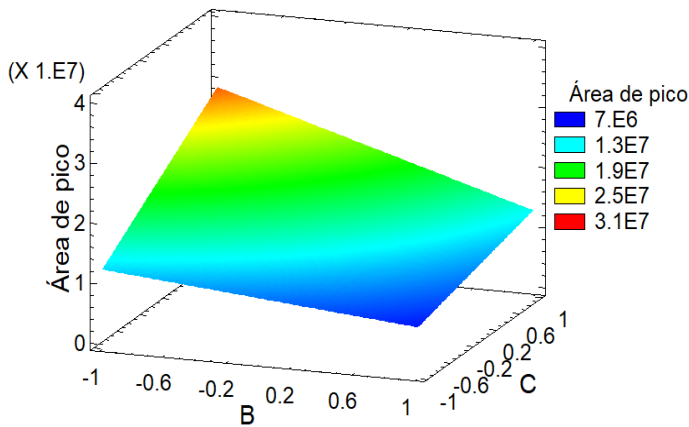
Benceno
Tiempo de extracción=1.0



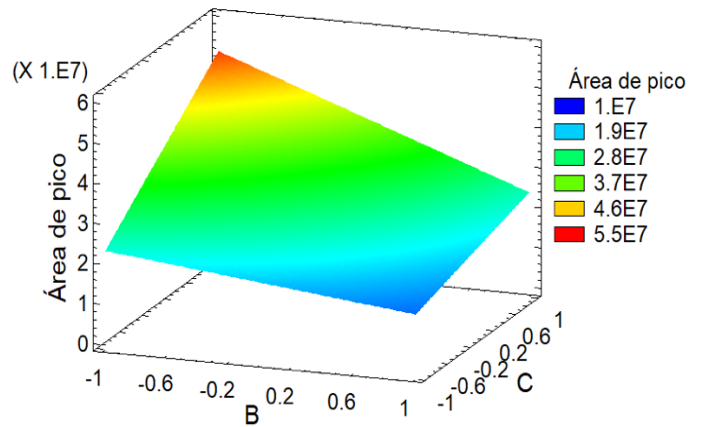
Tolueno
Tiempo de extracción=1.0



Etilbenceno
Tiempo de extracción=1.0



m-, p-Xileno
Tiempo de extracción=1.0



o-Xileno
Tiempo de extracción=1.0

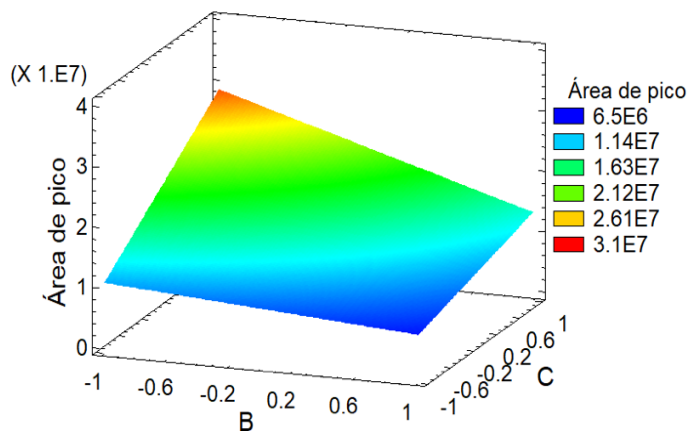


Figura 5-6 Superficies de respuesta de BTEX

B: temperatura de extracción

C: % de NaCl añadido



La información derivada del diseño experimental es de suma importancia para la optimización de las condiciones de extracción evaluadas, ya que permitió la optimización conjunta de las respuestas de los analitos estudiados.

Tomando en cuenta el análisis anterior se pueden optimizar los factores, determinando la combinación de aquellos que permitan maximizar la respuesta de todos los analitos. La Figura 5-7 muestra la superficie de respuesta múltiple en términos de deseabilidad (respuesta analítica deseable) los valores de temperatura y NaCl añadido que maximizan el área de pico cromatográfico de todos los analitos.

Se observa que la máxima deseabilidad (cercana a la unidad) se obtiene cuando el tiempo de extracción es igual a 1 (20 min), la temperatura de extracción es -1 (30 °C) y el porcentaje de NaCl es 1 (80%).

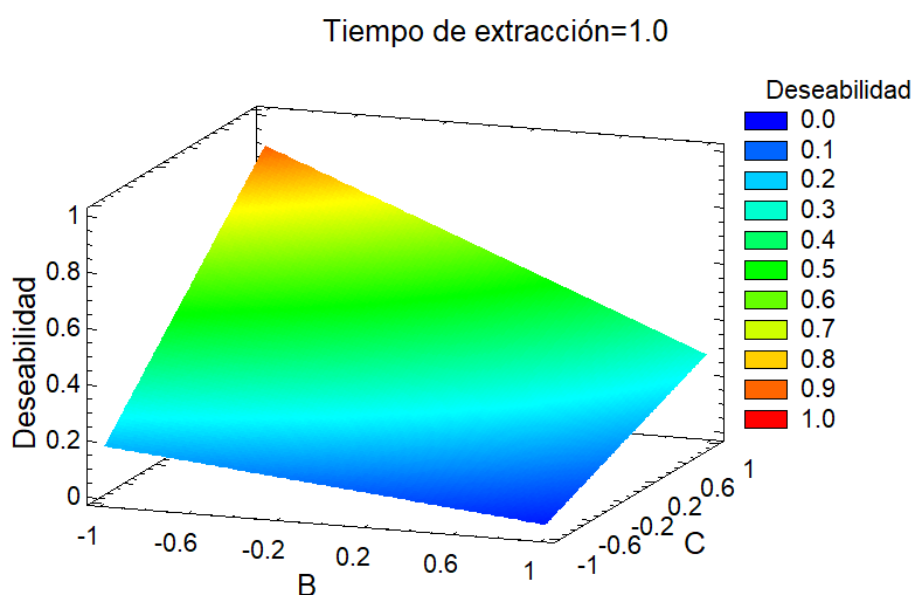


Figura 5-7 Gráfico de deseabilidad para BTEX

B: temperatura de extracción

C: % de NaCl añadido

En vista de que, para todos los analitos, la superficie de respuesta se ajusta bien a los datos experimentales, se puede realizar una extrapolación para establecer una combinación de factores que pueda mejorar aún más la respuesta de los analitos. En este caso, se realizó una extrapolación desde el punto óptimo del diseño



observado y se encontró que los valores que representan una mayor deseabilidad son (en forma codificada): tiempo de extracción 1.07, temperatura de extracción -1.14 y porcentaje de NaCl 1.16. Al pasar los factores de su valor codificado al valor real, estas condiciones son tiempo de extracción 20.55 min, temperatura de extracción 28.61 °C y porcentaje de NaCl 86.4 % (3.11 g). Debido a la resolución del termómetro usado, se prefirió fijar la temperatura en 30 °C; ya que el tiempo de extracción es el factor menos significativo se fijó en 20 min y en vista de que el porcentaje de NaCl tiene un gran impacto, se añadieron 3.11 g de NaCl.

En la Tabla 5-2 se presentan las condiciones optimizadas para el análisis de BTEX en muestras acuosas mediante el uso de microextracción en fase sólida.

Tabla 5-2 Variables óptimas para la determinación de BTEX por HS-SPME-GC-MS

Variable	Valor optimizado
Fase de extracción	PDMS 100 µm
Tipo de extracción	HS
Agitación	Agitación magnética a 1200 rpm
Volumen de muestra	10 mL
Volumen del vial	20 mL
Tiempo de extracción	20 min
Temperatura de extracción	30 °C
Porcentaje de NaCl	86.4 % (3.11 g)
Temperatura de desorción	250 °C
Tiempo de desorción	3 min

5.1.2.3 Determinación de la linealidad, precisión, límite de detección y cuantificación

El intervalo de concentraciones establecido por la NOM-127-SSA1-1994 (modificación 2000) para BTEX va de 10 a 700 ng mL⁻¹, al ser un intervalo muy amplio, se evaluó la linealidad en dos intervalos de concentraciones, de 10 a 100 ng mL⁻¹ y de 100 a 850 ng mL⁻¹. Cada curva de calibración se realizó por triplicado.



La Tabla 5.3 muestra el ajuste lineal de ambas curvas para cada analito. En las figuras 5-8 y 5-9 se pueden observar las curvas de calibración por SPME para benceno, tolueno, etilbenceno, m-xileno + p-xileno y o-xileno.

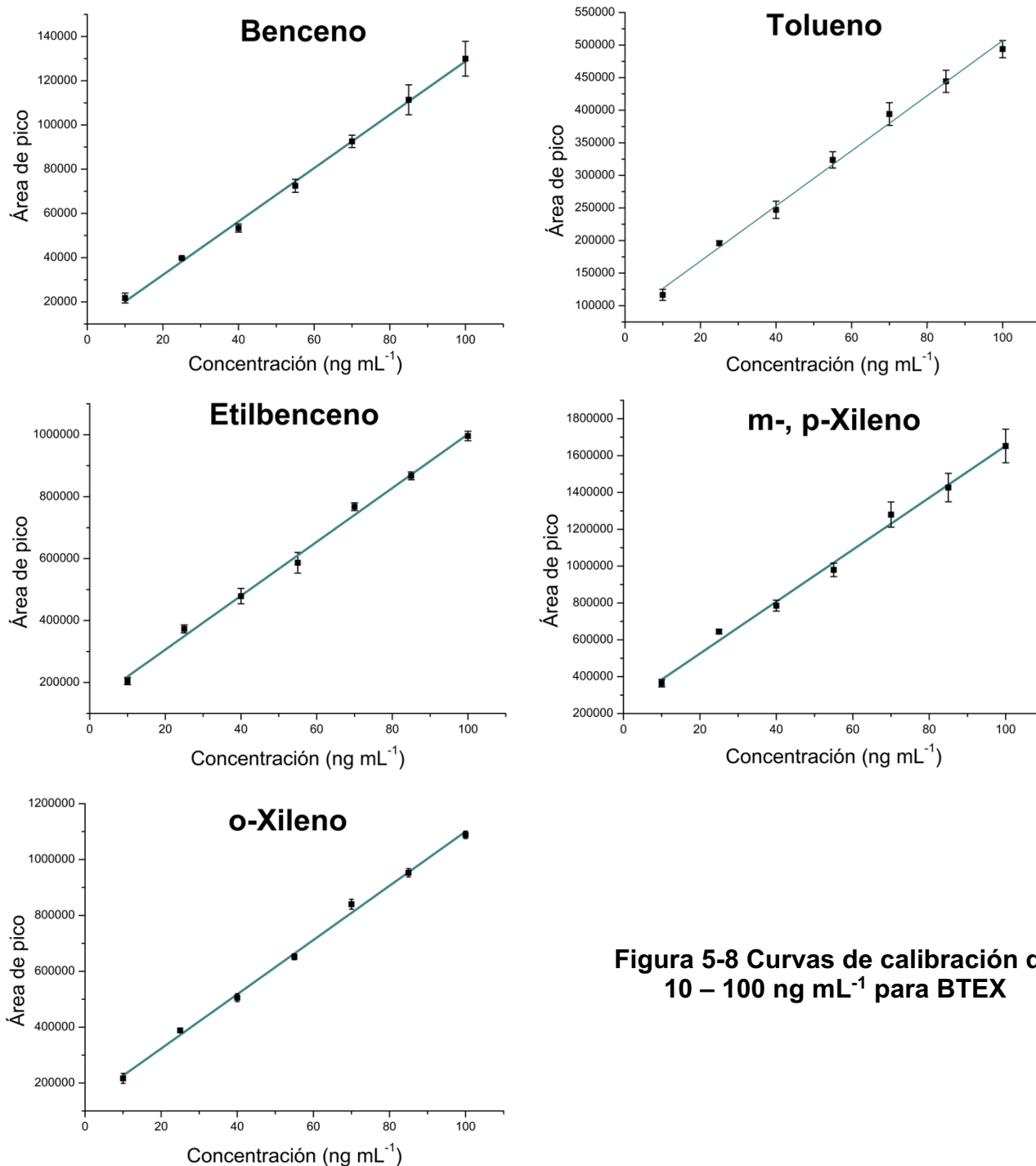


Figura 5-8 Curvas de calibración de 10 – 100 ng mL⁻¹ para BTEX

Cada punto se realizó por triplicado y en la gráfica se presenta el promedio y su desviación estándar (barras de error), además se presenta el coeficiente de determinación para el ajuste lineal

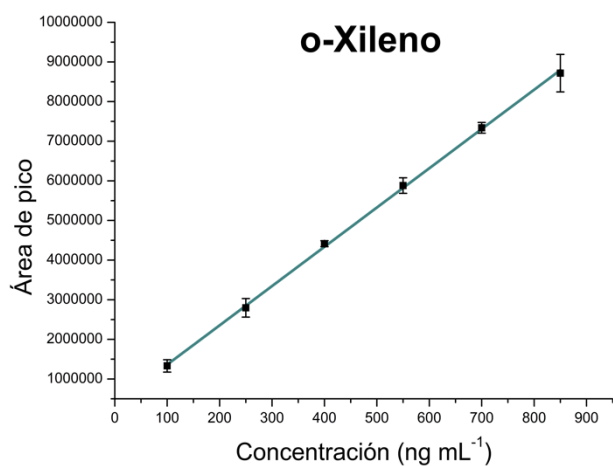
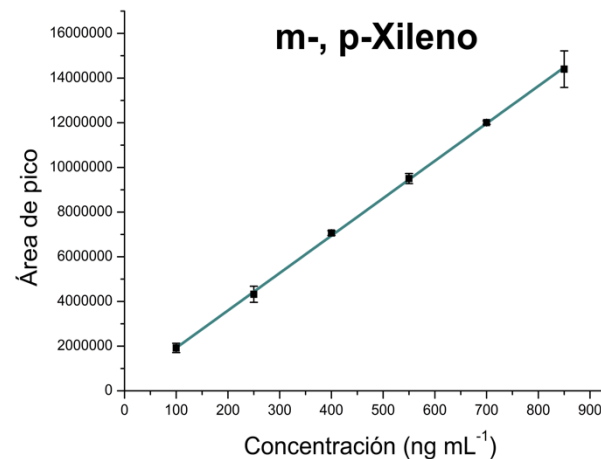
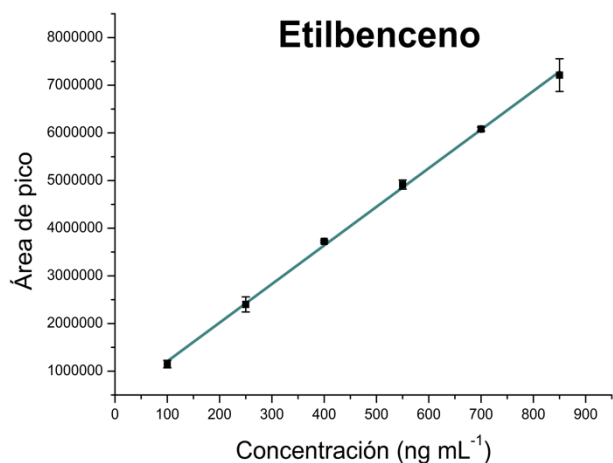
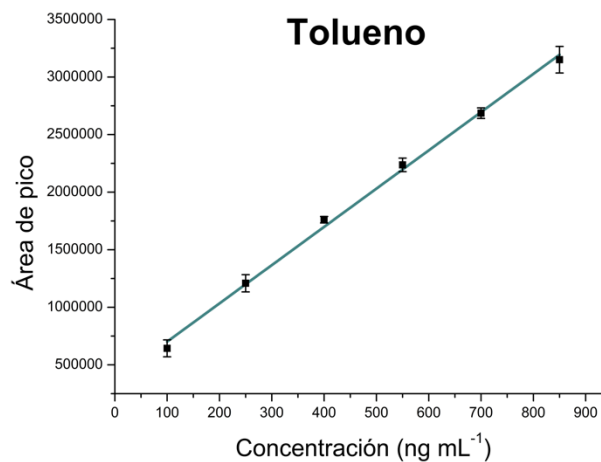
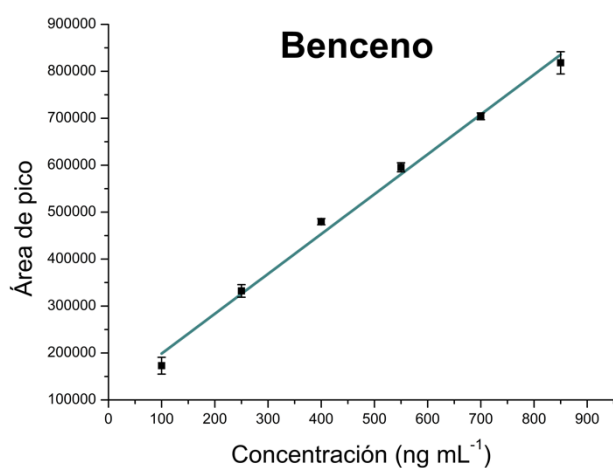


Figura 5-9 Curvas de calibración de 100 - 850 ng mL⁻¹ para BTEX

Cada punto se realizó por triplicado y en la gráfica se presenta el promedio y su desviación estándar (barras de error), además se presenta el coeficiente de determinación para el ajuste lineal



Tabla 5-3 Ajuste lineal para BTEX

Ajuste lineal		Benceno	Tolueno	Etilbenceno	m-, p-Xileno	o-Xileno
10 – 100 ng mL ⁻¹	m	1207.3	4227.8	8694.7	14096.6	9708.7
	b	8066.6	83997.9	132348.5	243569.5	129354.4
	R ²	0.99744	0.99376	0.99472	0.99287	0.99648
100 – 850 ng mL ⁻¹	m	849.1	3322.5	8104.1	16743.1	9909.4
	b	113775.5	369521.9	397576.7	249525.9	372659.9
	R ²	0.99154	0.99687	0.99901	0.99959	0.99934

El coeficiente de determinación (R^2) es mayor a 0.99 en todos los casos, lo que indica un buen ajuste lineal de las curvas de calibración.

Por otra parte, se evaluó la precisión en tres niveles de concentración (10, 100 y 500 ng mL⁻¹) con $n = 6$; para todos los analitos y en los tres niveles de concentración se obtuvieron valores de % CV menores al 5 % lo que indica poca variabilidad de los resultados. El método muestra buena precisión ya que al evaluar concentraciones a nivel de ng mL⁻¹ se considera como nivel aceptable de hasta 30% de CV.

En la Tabla 5-4 se presentan los valores de % CV para cada analito y nivel de concentración.

Tabla 5-4 Valores de precisión para BTEX

Analito	% CV		
	10 ng mL ⁻¹	100 ng mL ⁻¹	500 ng mL ⁻¹
Benceno	2.8	4.1	3.8
Tolueno	4.8	3.7	3.9
Etilbenceno	4.3	3.5	4.8
m-, p-Xileno	3.6	2.2	4.5
o-Xileno	2.7	2.2	4.7



Adicionalmente se calcularon los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) mediante una curva de calibración de 1 a 4 ng mL⁻¹ de acuerdo con las especificaciones de la Guía de Validación de Métodos Analíticos editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México. La Tabla 5-5 muestra los valores del límite de detección y cuantificación para cada analito.

Tabla 5-5 Límites de detección y cuantificación para BTEX determinados por HS-SPME-GC-MS

Analito	LOD (ng mL⁻¹)	LOQ (ng mL⁻¹)
Benceno	0.1	0.3
Tolueno	0.2	0.5
Etilbenceno	0.2	0.6
m-, p-Xileno	0.4	1.1
o-Xileno	0.2	0.6

5.1.3 Análisis de muestras acuosas mediante el uso de la técnica HS-SPME-GC-MS para la determinación de BTEX

Se analizaron 9 muestras acuosas, para la determinación de BTEX. Cada muestra se analizó por triplicado y previamente se realizó un análisis usando la técnica optimizada de SPME pero usando el detector de masas en modo SCAN, esto para determinar si existían compuestos que actuaran como interferentes. En ninguna de las muestras se obtuvieron picos cromatográficos significativos de interferentes.

Se analizaron muestras de diferentes matrices, agua potable, ambiental y residual, sin embargo, no se determinó si existe un efecto de matriz.

Las figuras 5-10 y 5-11 son cromatogramas típicos obtenidos para muestras analizadas por HS-SPME-GC-MS. Los tiempos de retención de los compuestos en todas las muestras coinciden con los tiempos de retención que se obtuvieron usando el estándar de BTEX, confirmando la presencia de estos analitos.

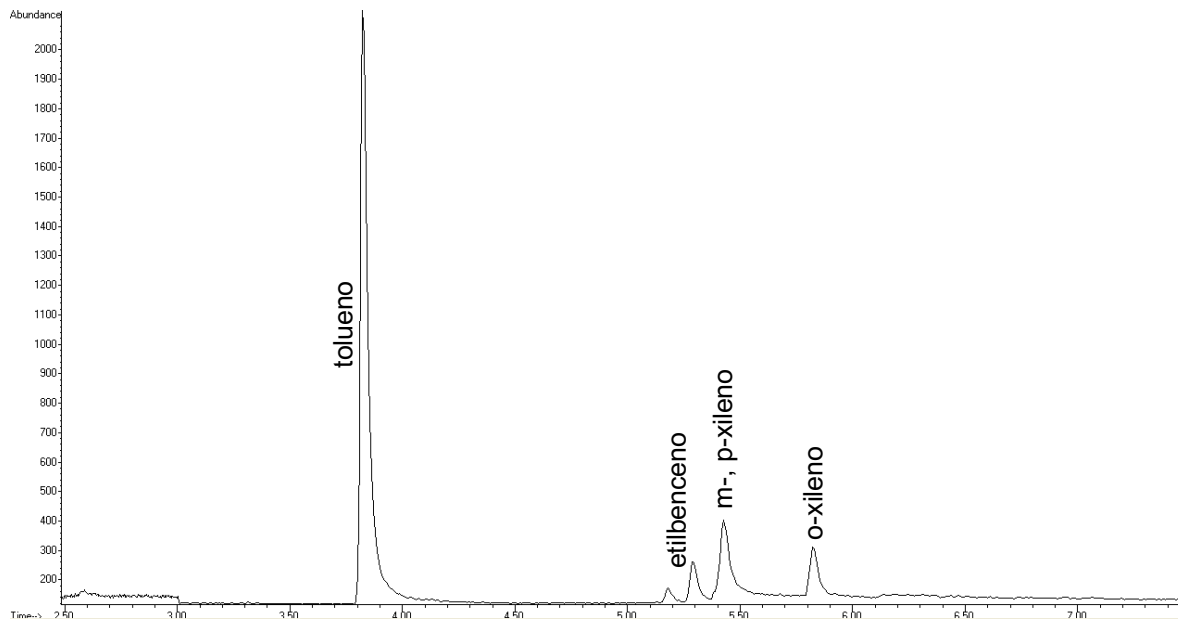


Figura 5-10 Cromatograma de BTEX extraídos por HS-SPME de una muestra de agua potable del manantial de Cerro Colorado, Hidalgo

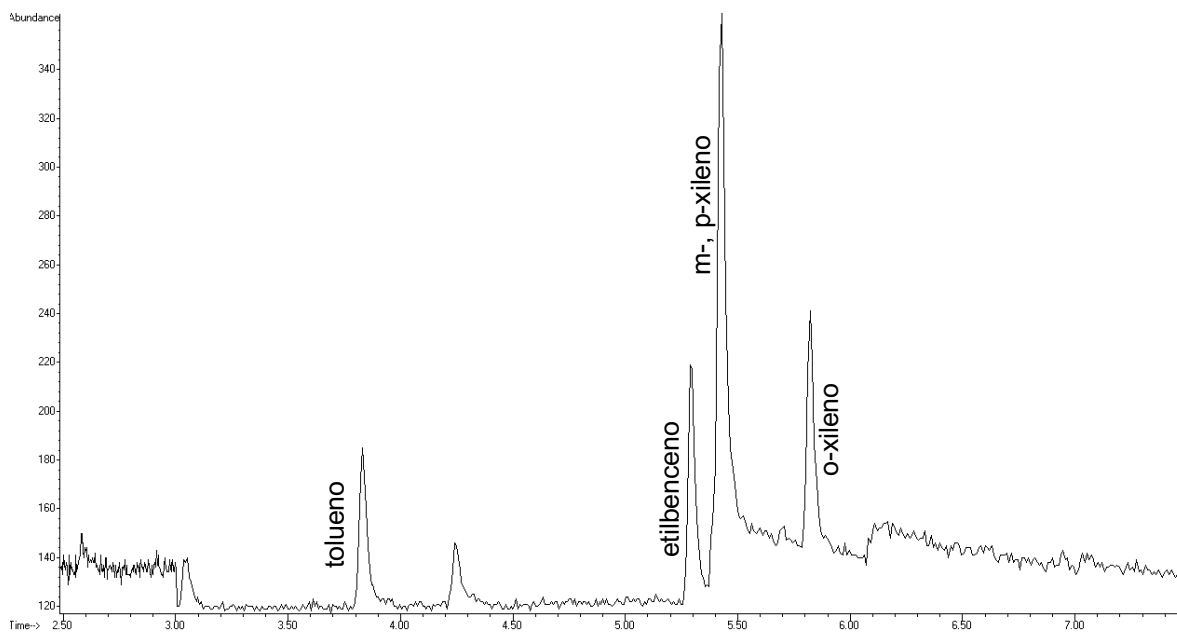


Figura 5-11 Cromatograma de BTEX extraídos por HS-SPME de una muestra de agua potable de la alcaldía Venustiano Carranza de la Ciudad de México



En las muestras no se detectó benceno y el analito con mayor presencia es el tolueno. El tolueno, etilbenceno, m-, p-xileno y o-xileno se encuentran por encima del límite de detección, pero por debajo del límite de cuantificación de la metodología. Los resultados se encuentran en la Tabla 5.6.

Dado que los límites de cuantificación de la metodología se encuentran entre 0.3 y 1.1 ng mL⁻¹ y las muestras se encuentran por debajo de estos significa que las muestras poseen una concentración menor de los analitos. Por ende, tienen una concentración menor al límite máximo permisible establecido en la NOM-127-SSA1-1994 (modificación 2000).

Para obtener mejores resultados en el caso del análisis de muestras de agua residual o sobrenadante de lodo residual se recomienda determinar si existe efecto de matriz ya que es probable que los analitos se adhieran a partículas de materia orgánica, lo que provoca resultados poco exactos. De igual modo se sugiere que las muestras se analicen de forma inmediata a su recolección, para evitar pérdidas de analitos por evaporación y en todo caso resguardar en refrigeración.

Tabla 5-6 Resultados de las muestras acuosas analizadas por HS-SPME-GC-MS para la determinación de BTEX

Muestra	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	m-,p-Xileno	o-Xileno
Agua embotellada	ND	>LOQ	ND	ND	ND
Sobrenadante de lodo residual	ND	>LOQ	ND	ND	ND
Agua potable de un bebedero de la Facultad de Química	ND	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ
Agua potable residencial de la alcaldía Iztapalapa	ND	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ



**Continuación Tabla 5-6 Resultados de las muestras acuosas analizadas por
HS-SPME-GC-MS para la determinación de BTEX**

Muestra	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	m-,p-Xileno	o-Xileno
Agua potable residencial de la alcaldía Venustiano Carranza	ND	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ
Agua residual de Cerro Colorado	ND	>LOQ	ND	ND	>LOQ
Agua potable del manantial de Cerro Colorado	ND	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ

ND: no detectado; >LOQ: menor al límite de cuantificación



5.2 Desarrollo del método para la determinación de HAP's

5.2.1 Análisis cromatográfico

Al igual que en el análisis de BTEX, primeramente se llevó a cabo un barrido total de iones (SCAN) para identificar los tiempos de retención y obtener de los espectros de masas de los 16 HAP's de estudio, posteriormente se eligieron los fragmentos carga/masa para poder realizar el monitoreo selectivo de iones (SIM). Las figuras 5-12 y 5-13 muestran cromatogramas típicos obtenidos usando las condiciones cromatográficas mencionadas anteriormente. La Tabla 5-7 muestra el tiempo de retención para cada compuesto.

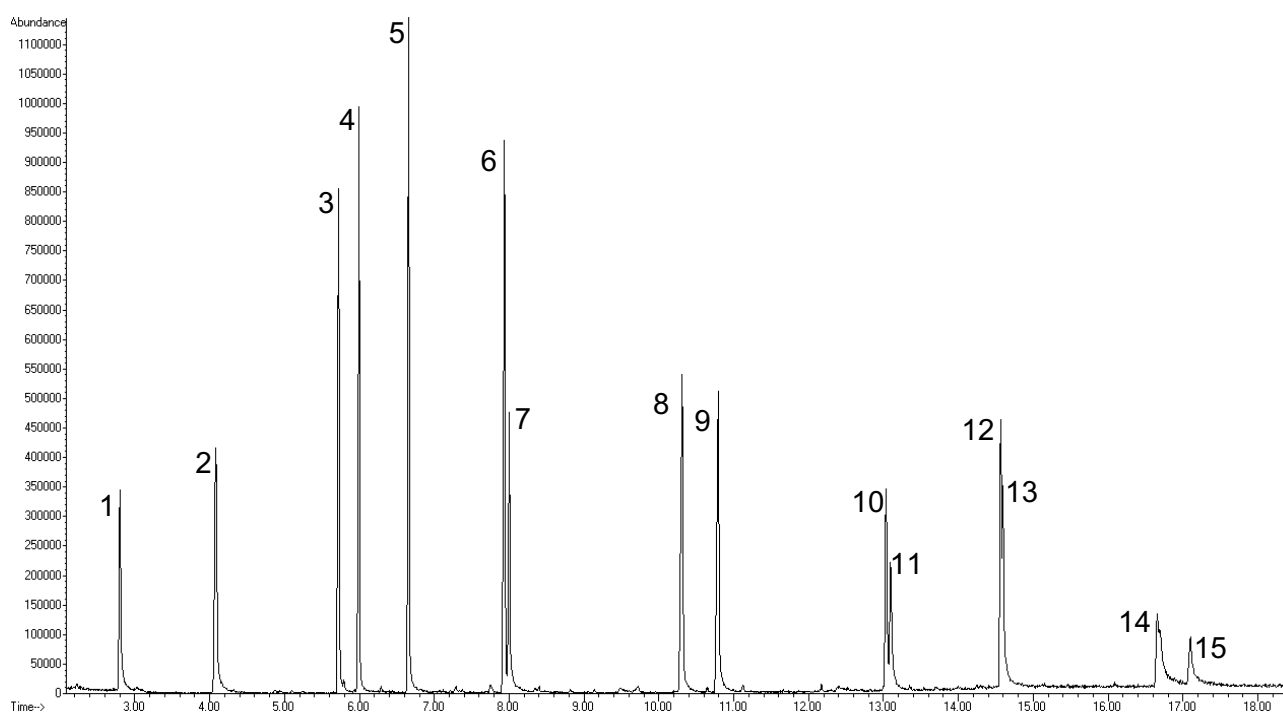


Figura 5-12 Cromatograma por barrido total de iones (SCAN) de HAP's extraídos por DI-SPME

Concentración 50 ng mL^{-1} : (1)naftaleno, (2) 2-metilnaftaleno, (3) acenaftileno, (4) acenafteno, (5) fluoreno, (6) fenantreno, (7) antraceno, (8) fluoranteno, (9) pireno, (10) benz(a)antraceno, (11) criseno, (12) benzo(b)fluoranteno, (13) benzo(k)fluoranteno, (15) indeno(1,2,3-cd)pireno + dibenz(a,h)antraceno, (16) benzo(g,h,i) perileno

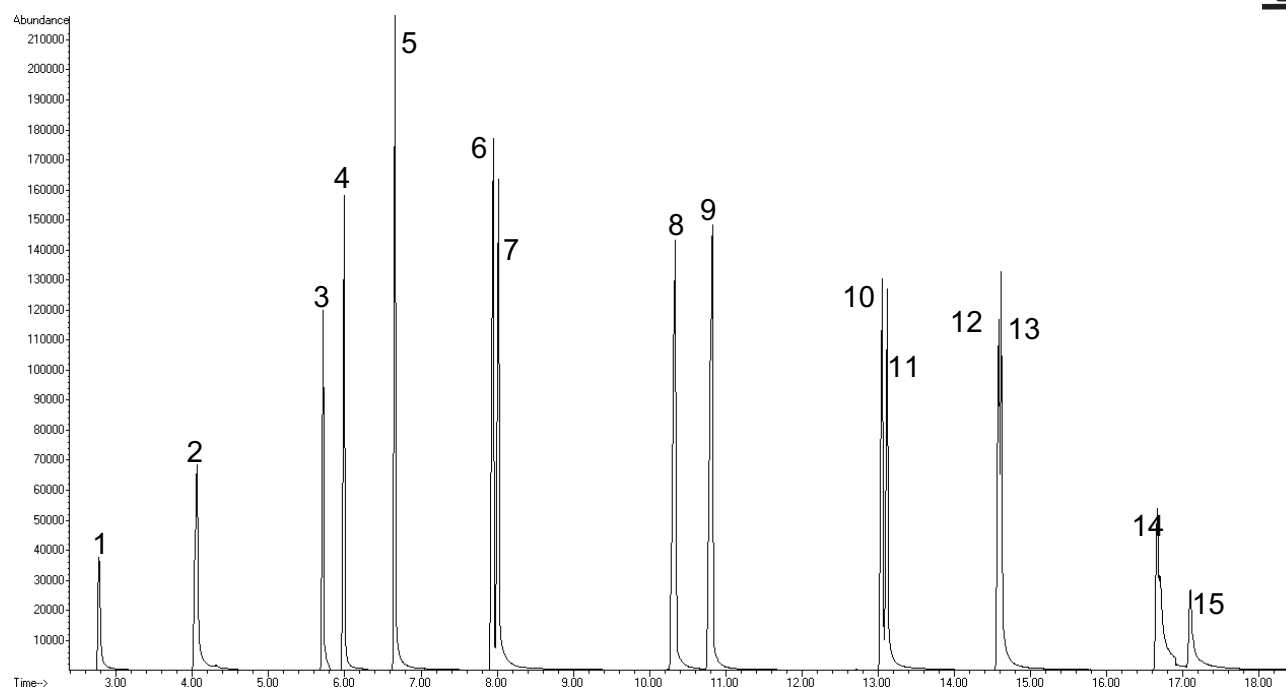


Figura 5-13 Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) de HAP's extraídos por DI-SPME

Concentración 50 ng mL⁻¹: (1)naftaleno, (2) 2-metilnaftaleno, (3) acenaftileno, (4) acenafteno, (5) fluoreno, (6) fenantreno, (7) antraceno, (8) fluoranteno, (9) pireno, (10) benz(a)antraceno, (11) criseno, (12) benzo(b)fluoranteno, (13) benzo(k)fluoranteno, (15) indeno(1,2,3-cd)pireno + dibenz(a,h)antraceno, (16) benzo(g,h,i) perileno

Tabla 5-7 Tiempo de retención de HAP's

Compuesto	Abreviatura	Tiempo de retención (min)
Naftaleno	NAF	2.78
2-metilnaftaleno	MNAF	4.07
Acenaftileno	ACEL	5.72
Acenafteno	ACE	6.06
Fluoreno	FLU	6.66
Fenantreno	FEN	7.95
Antraceno	ANT	8.02
Fluoranteno	FLT	10.35



Continuación Tabla 5-7 Tiempo de retención de HAP's

Compuesto	Abreviatura	Tiempo de retención (min)
Pireno	PIR	10.83
Benz(a)antraceno	BAA	13.07
Criseno	CRI	13.14
Benzo(b)fluoranteno	BBF	14.64
Benzo(k)fluoranteno	BKF	14.60
Indeno(1,2,3-cd)pireno + Dibenz(a,h)antraceno	IND + DBA	16.72
Benzo(g,h,i)perileno	BGP	17.13

5.2.2 Optimización de SPME

5.2.2.1 Tipo de extracción

Debido a que en el grupo de 16 HAP's estudiados hay hidrocarburos aromáticos policíclicos de bajo y alto peso molecular las propiedades fisicoquímicas no son tan similares entre sí, por lo que fue necesario evaluar ambos tipos de microextracción en fase sólida (HS y DI).

La Figura 5-14 muestra los resultados obtenidos para pruebas por triplicado en los que se evaluó el tipo de extracción. Los análisis se llevaron a cabo usando una fase de PDMS-DVB de 65 μm , a una concentración de 50 ng mL^{-1} , las condiciones de tiempo, temperatura y porcentaje de sal permanecieron constantes y sólo se varió el tipo de extracción, que se llevó a cabo en el espacio de cabeza o mediante inmersión directa.

Los HAP'S tienen volatilidades significativamente distintas entre sí. Para los analitos más volátiles se obtiene mayor área de pico cuando la extracción se lleva a cabo en el espacio de cabeza, sin embargo, para los analitos de mayor peso molecular (menos volátiles) no se observa una señal cromatográfica porque no logran



volatilizarse para después ser extraídos por la fase de extracción. Por ende, se eligió la extracción por inmersión directa para las siguientes pruebas.

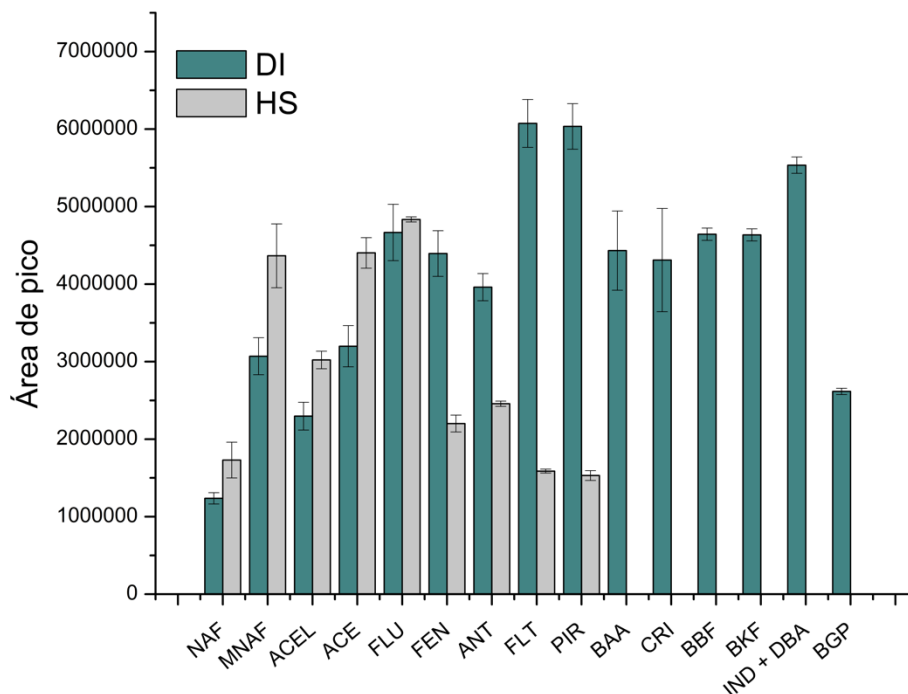


Figura 5-14 Evaluación del tipo de extracción de los HAP's

5.2.2.2 Fase de extracción

Se evaluaron las fases de PDMS 100 μm , PDMS 7 μm , PA 85 μm , PDMS-DVB 65 μm y PDMS-DVB-CAR 50/30 μm . La Figura 5-15 compara el área de pico cromatográfico obtenida para cada analito con cada una de las fases de extracción. No se muestran los resultados de las fases de PA 85 μm y PDMS 7 μm ya que no se observó respuesta para todos los analitos, por lo que no son fases recomendables para llevar a cabo el análisis.

Se observa que los HAP's de menos de 18 carbonos en su estructura muestran buenos resultados con la fase de extracción PDMS-DVB-CAR 50/30 μm mientras que aquellos hidrocarburos más grandes muestran mejores resultados con la fase de extracción PDMS-DVB 65 μm . Esto se debe a la diferencia en las constantes de distribución de cada analito con las fases. La fase de PDMS 100 μm muestra menor respuesta cromatográfica para casi todos los analitos. Se eligió como fase de



extracción la fase de PDMS-DVB 65 μm ya que, si bien se reduce la respuesta para los analitos de bajo peso molecular, no se sacrifica tanto la respuesta de los analitos de alto peso molecular.

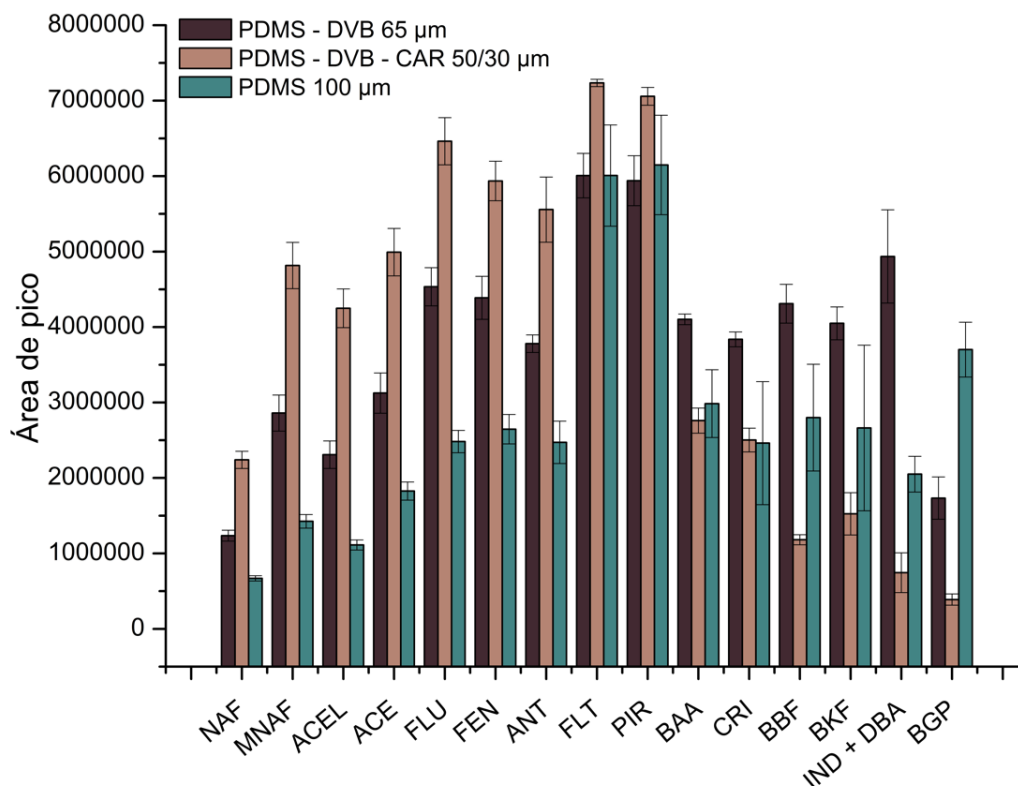


Figura 5-15 Comparación del área cromatográfica obtenida con las diferentes fases de extracción evaluadas

5.2.2.2.1 Tiempo y temperatura de desorción

Se observó que los analitos presentaban una fuerte afinidad hacia la fase de extracción, por lo que fue necesario establecer la temperatura del inyector 5 $^{\circ}\text{C}$ por debajo de la temperatura máxima de operación de la fase, para evitar daños a esta. A pesar de esto, el tiempo de desorción se alargó hasta 15 min, ya que a menores tiempo de desorción y concentraciones mayores a 50 ng mL^{-1} se observa un efecto de acarreamiento debido a que la desorción no se realiza por completo. Esto indica que la desorción de los analitos se lleva a cabo de forma lenta, lo que provoca un ensanchamiento en los picos cromatográficos, aún cuando se aumenta el flujo de gas acarreador en la columna.



5.2.2.3 Tiempo, temperatura y concentración de NaCl

Estos parámetros se optimizaron usando un diseño factorial 2^3 . De acuerdo con lo que se observa en los gráficos de Pareto (Figura 5-16) el tiempo y la temperatura de extracción no muestran ser estadísticamente significativos para la mayoría de los analitos. Los resultados indican que para los analitos más volátiles el porcentaje de NaCl añadido tiene un efecto positivo sobre la cantidad de analito extraído, sin embargo, esto sólo funciona para los dos analitos más volátiles, para el resto el efecto es contrario, es decir, un mayor porcentaje de NaCl afecta negativamente la cantidad de analito extraído.

Al analizar los gráficos de efectos principales (Figura 5-17) se observa que el factor con menor efecto es el tiempo de extracción, el porcentaje de NaCl mejora los resultados para el naftaleno, 2-metilnaftaleno y acenaftileno; para el resto de los analitos al aumentar el porcentaje de NaCl disminuye la cantidad de analito extraído. El aumento en la temperatura de extracción muestra un efecto contradictorio entre los analitos, para los HAP's de menos de 18 carbonos en su estructura, la respuesta aumenta cuando la temperatura está en su nivel bajo y para los HAP's de más carbonos la respuesta aumenta a mayor temperatura.

Para cada analito se trazó la gráfica de superficie de respuesta (Figura 5-18). En el eje z se puede observar el área de pico cromatográfico, en los ejes x y y se observa respectivamente la temperatura de extracción (A) y el porcentaje de NaCl añadida (C). Para la realización de estas gráficas se fijó el tiempo de extracción en el nivel máximo (+1.0 = 60 minutos) ya que favorece la extracción de la mayoría de los analitos. Las gráficas están delimitadas entre -1 y 1 porque se construyeron a partir de los valores codificados de las variables.

Ambos factores presentan discrepancia en el efecto que causan en la extracción de los analitos, es decir, mientras que para algunos favorecen la extracción para otros la desfavorecen, lo que ocasiona que no haya una combinación de valores que favorezcan al máximo a todos los analitos.

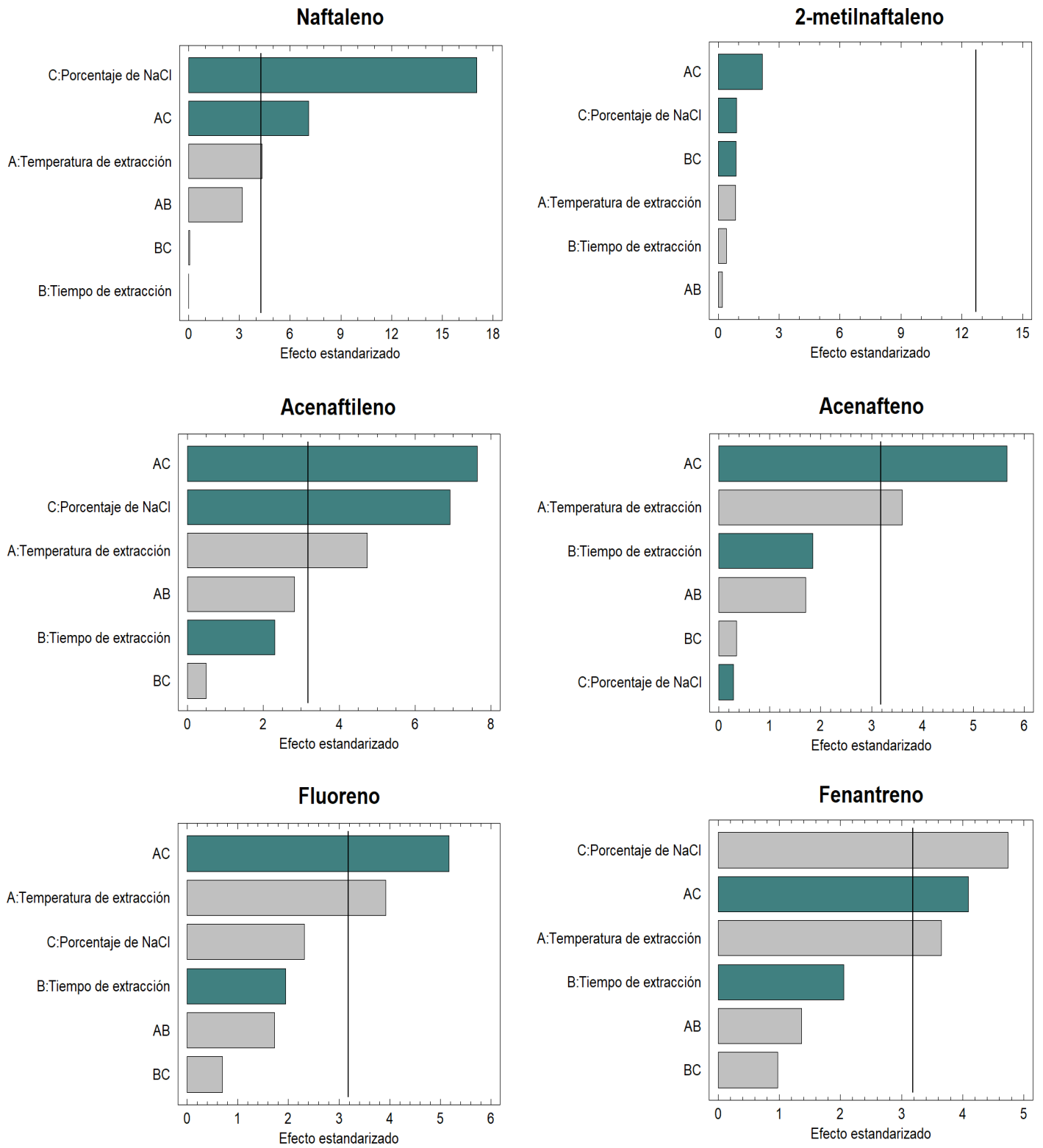
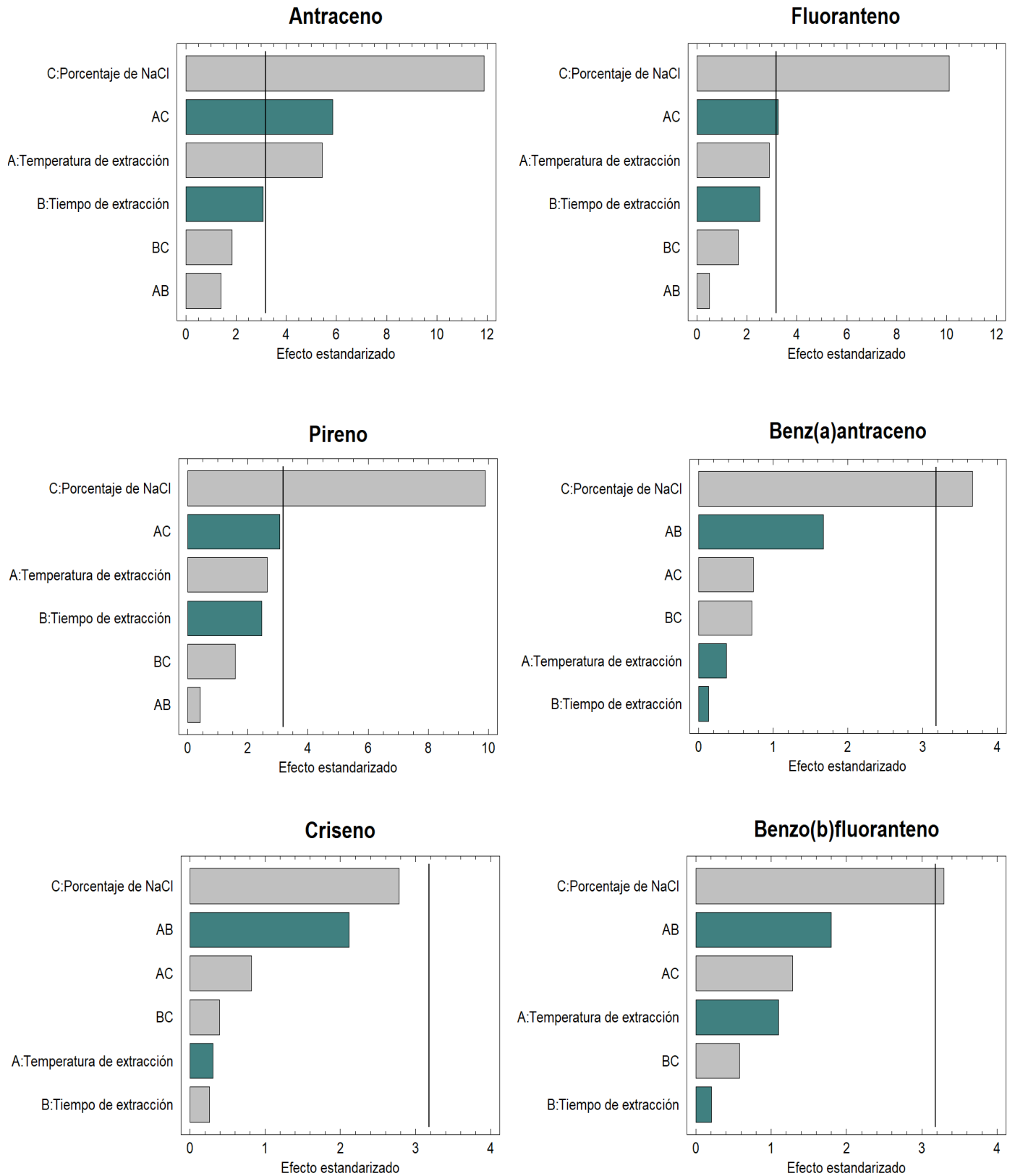
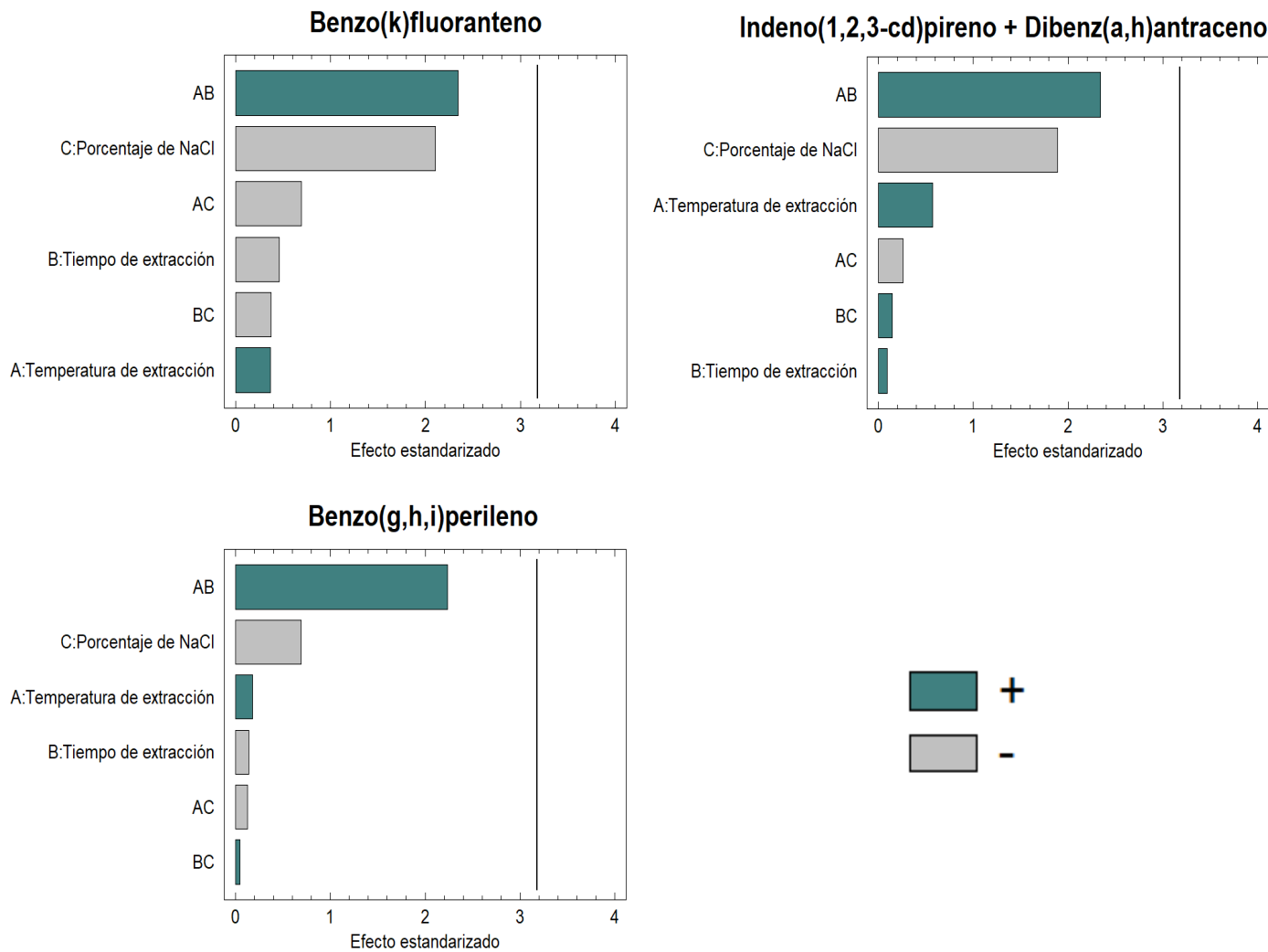


Figura 5-16 Gráficos de Pareto para HAP's derivados del diseño experimental



Continuación Figura 5-16 Gráficos de Pareto para HAP's derivados del diseño experimental



Continuación Figura 5-16 Gráficos de Pareto para HAP's derivados del diseño experimental

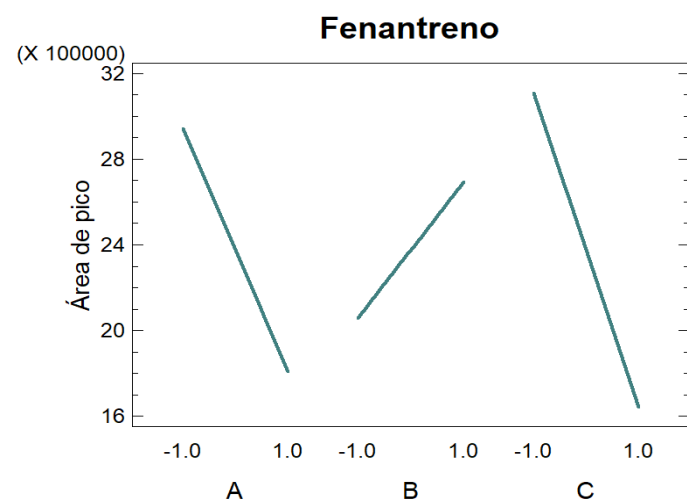
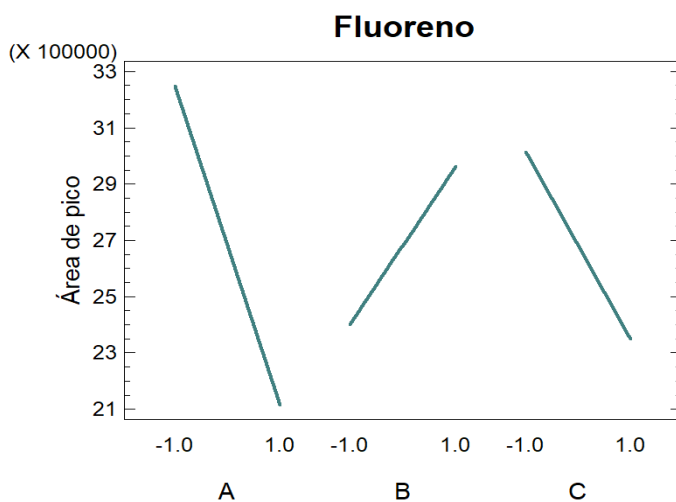
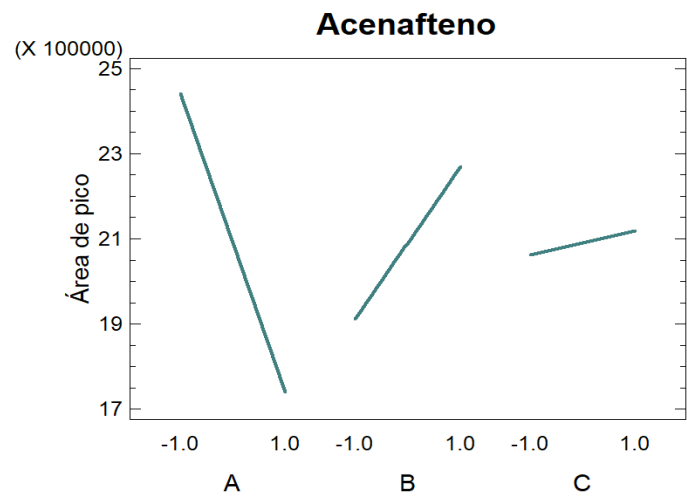
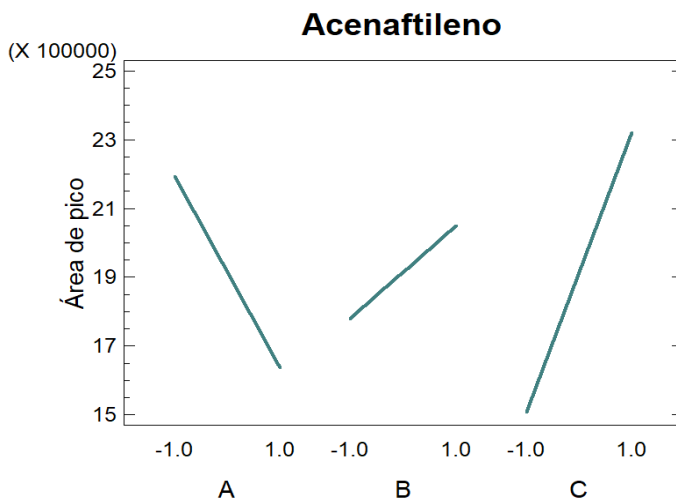
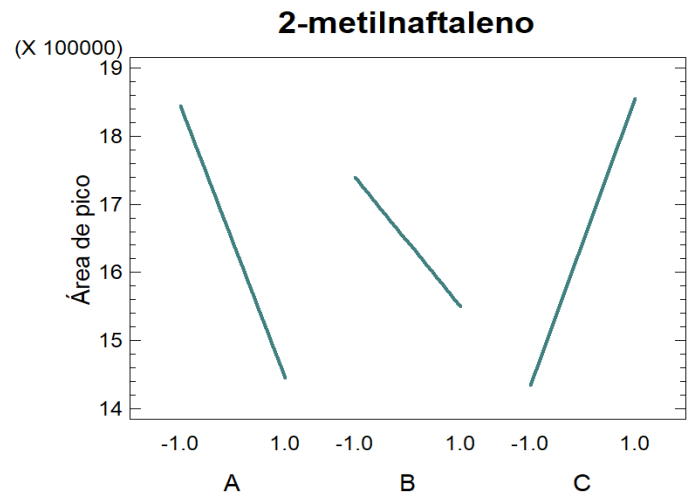
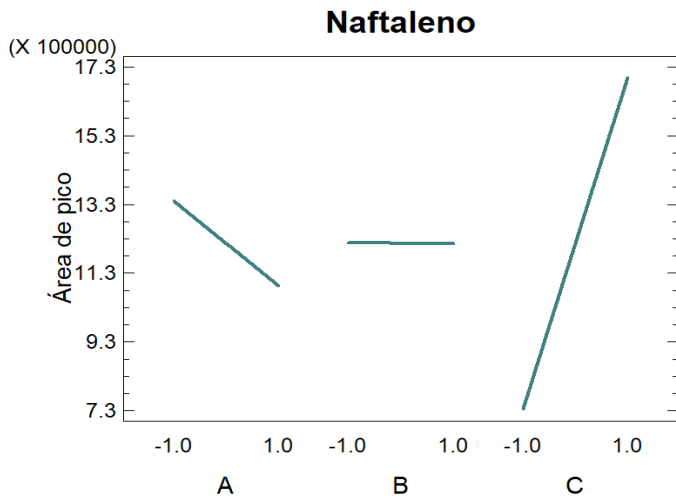
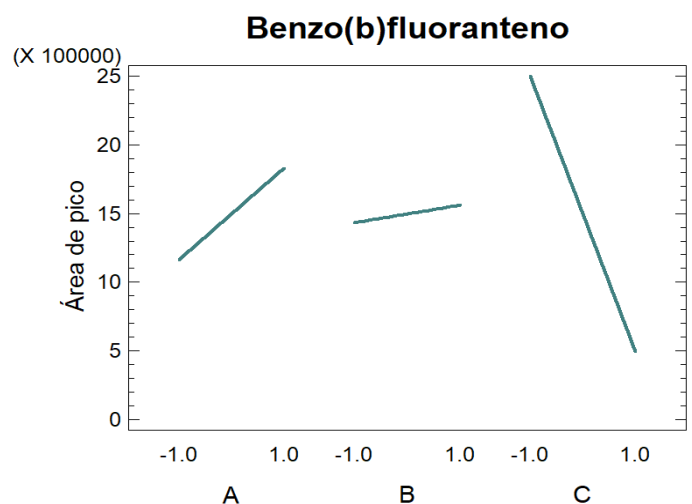
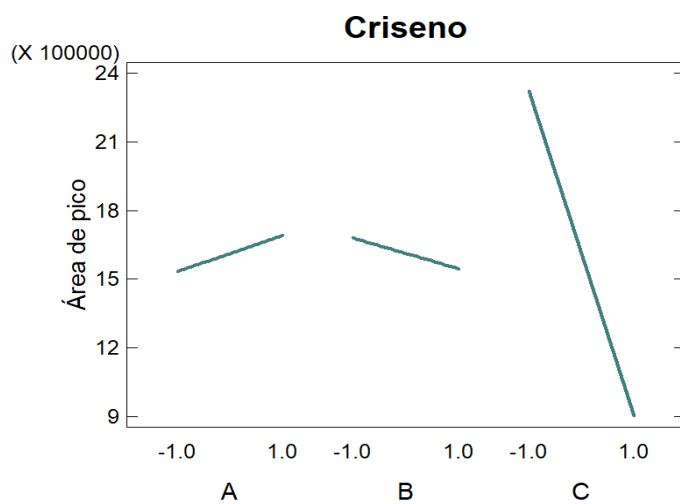
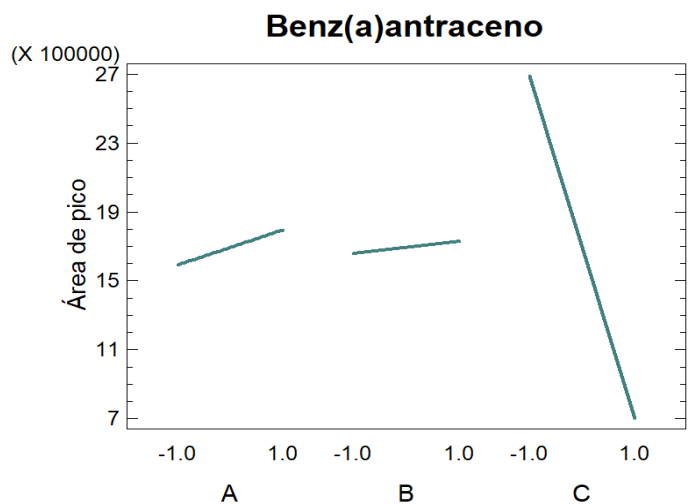
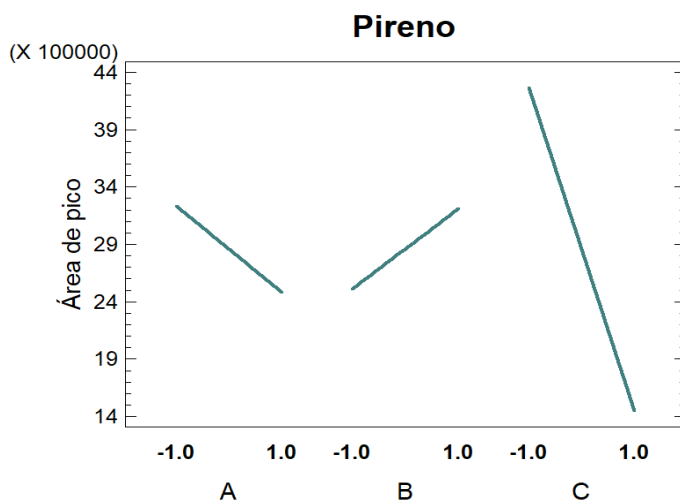
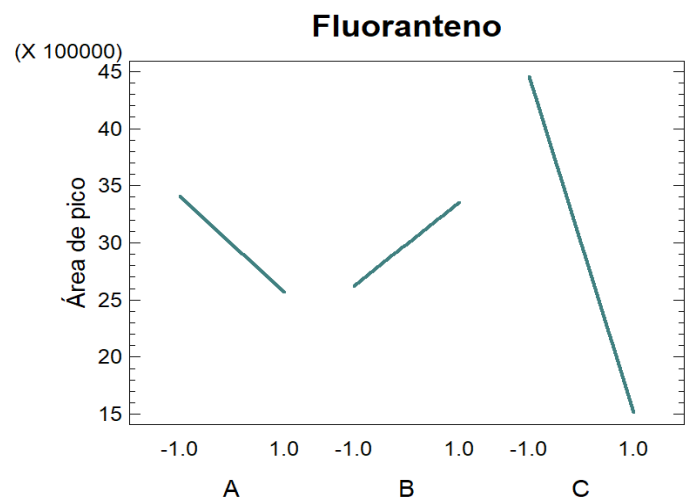
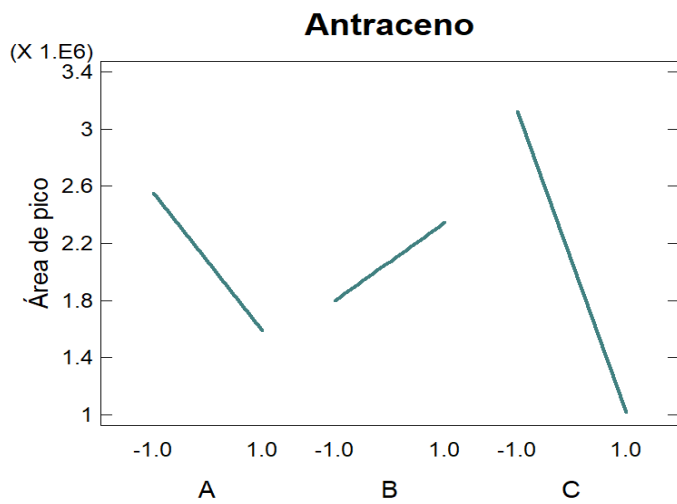
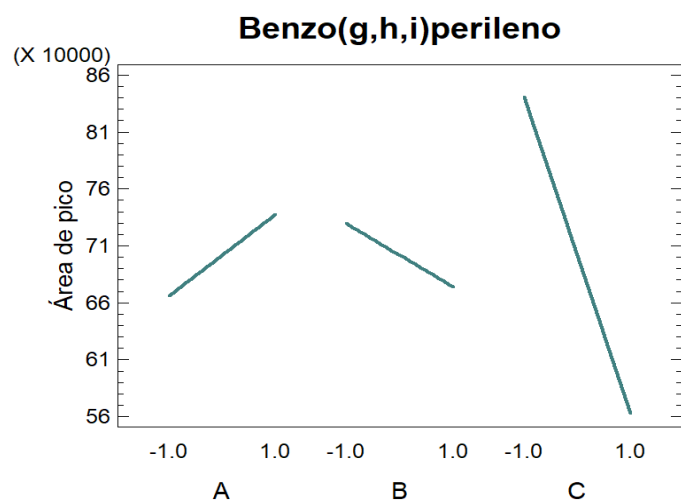
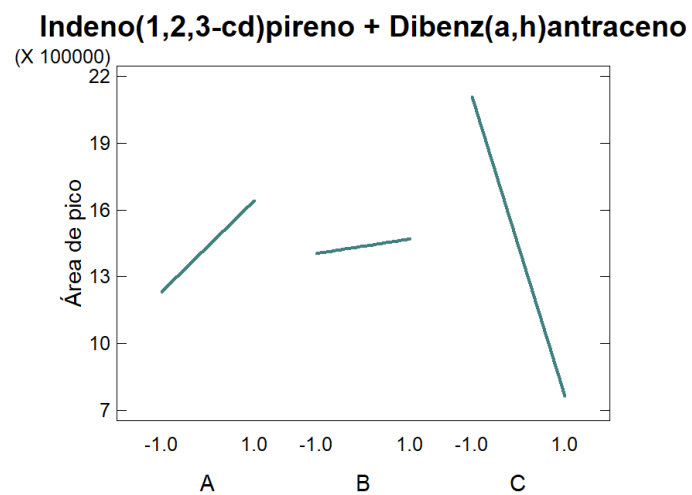
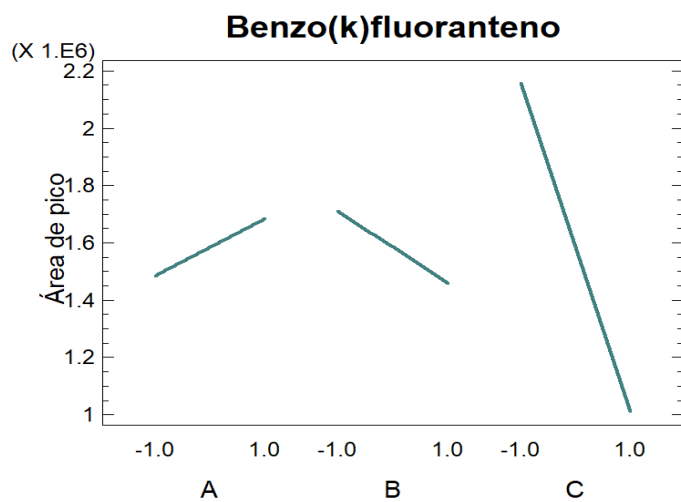


Figura 5-17 Gráficos de efectos principales para HAP's

A: temperatura de extracción B: tiempo de extracción C: % de NaCl añadido



Continuación Figura 5-17 Gráficos de efectos principales para HAP's
 A: temperatura de extracción B: tiempo de extracción C: % de NaCl añadido



Continuación Figura 5-17 Gráficos de efectos principales para HAP's

A: temperatura de extracción B: tiempo de extracción C: % de NaCl añadido

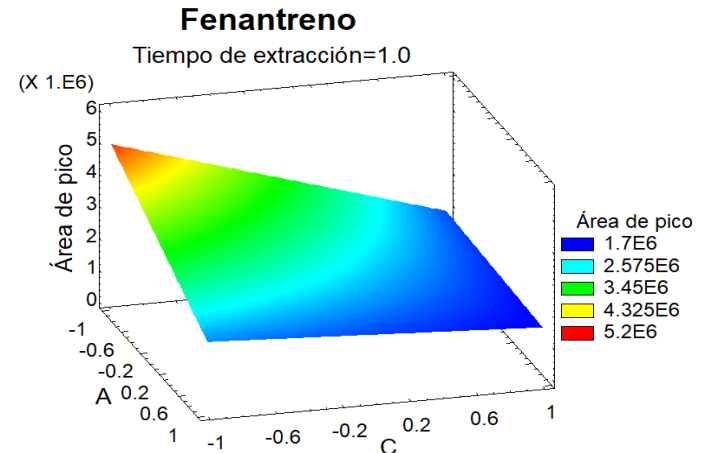
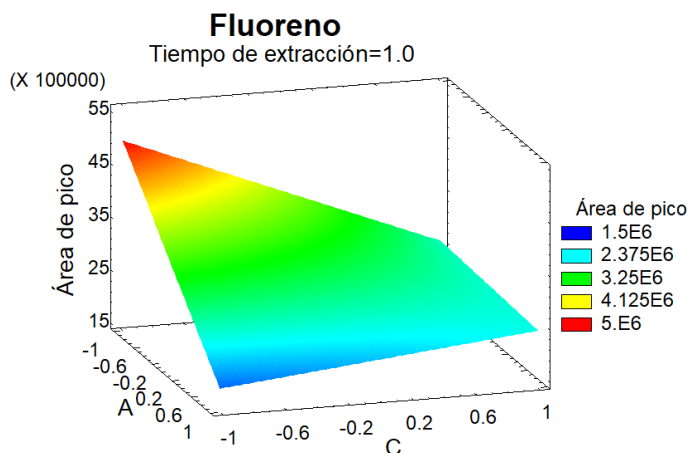
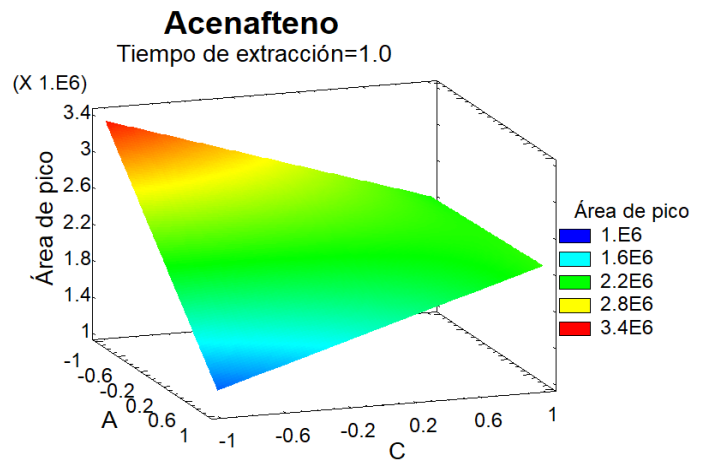
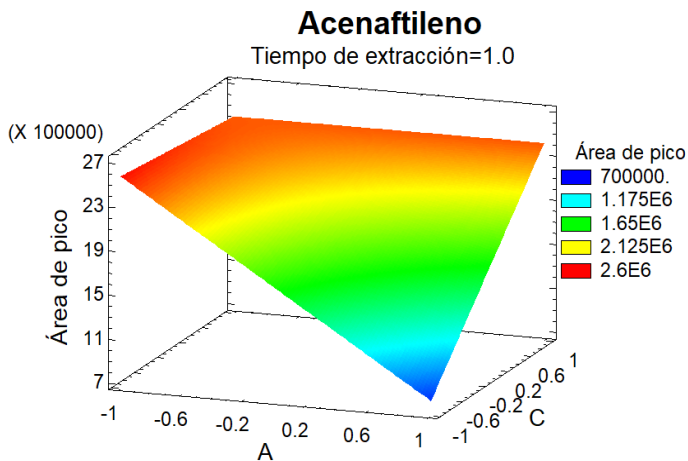
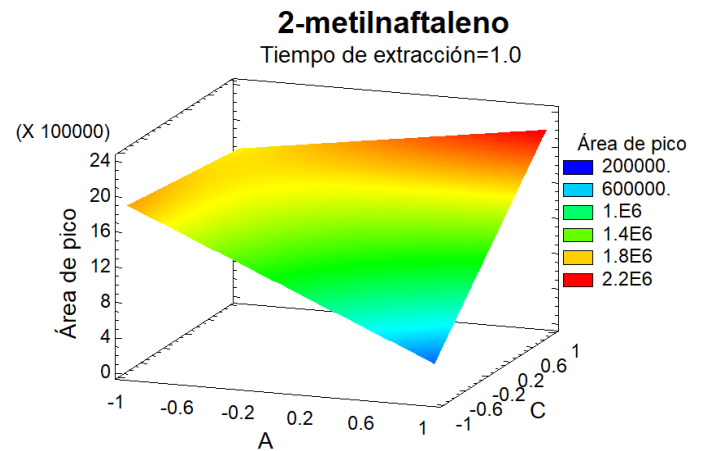
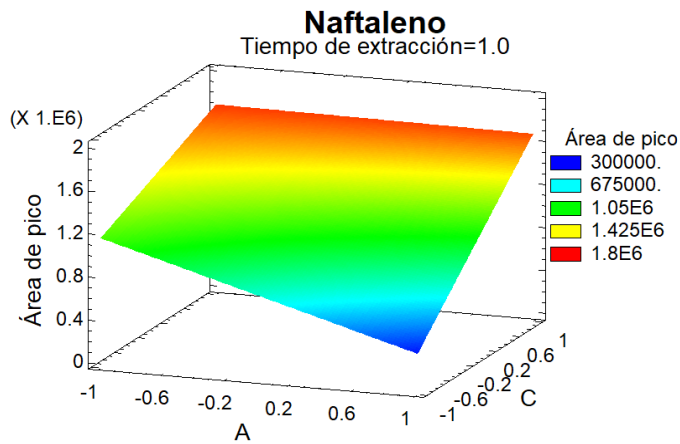
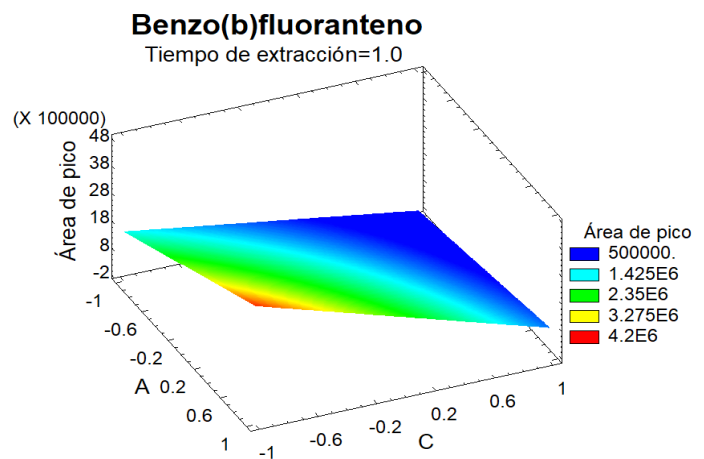
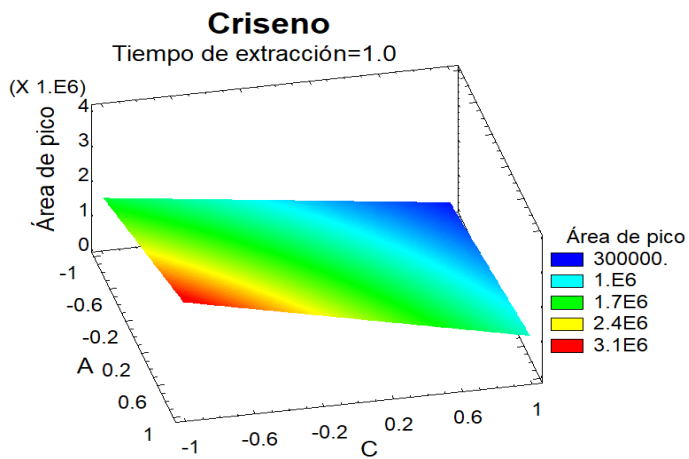
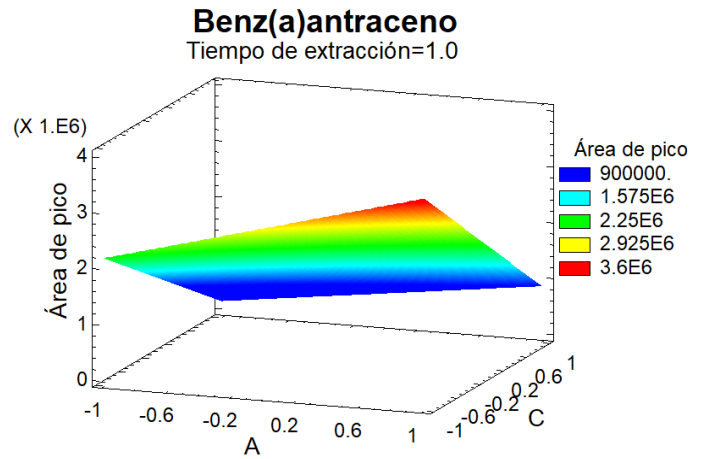
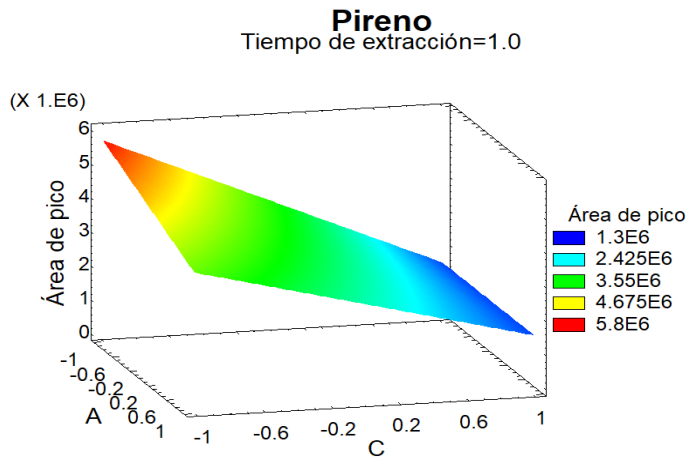
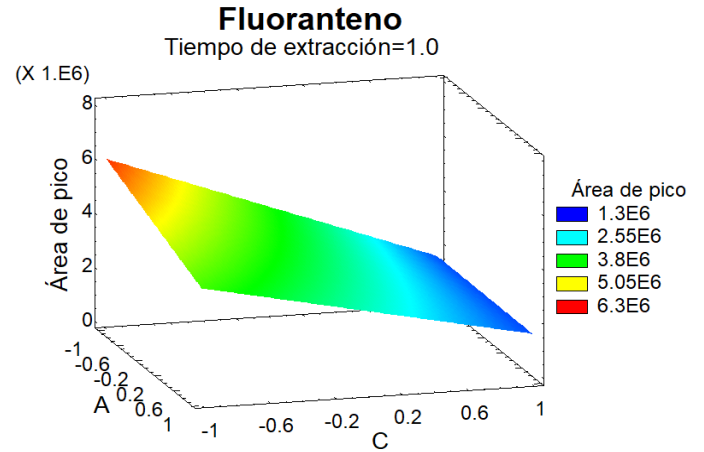
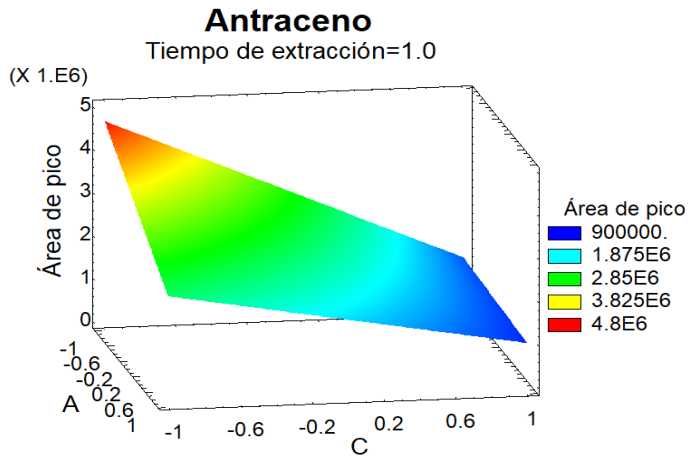


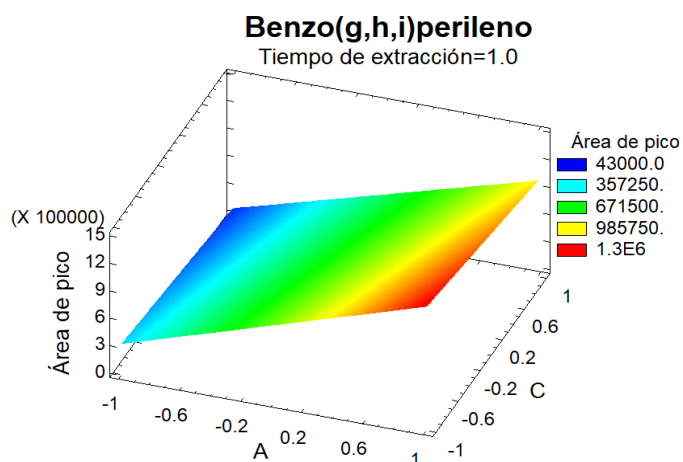
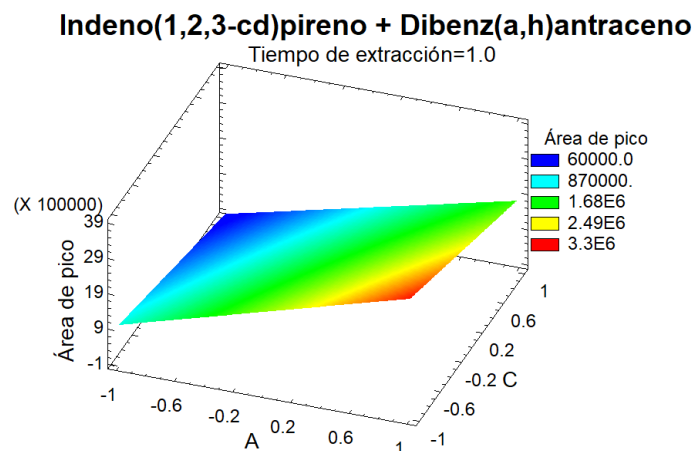
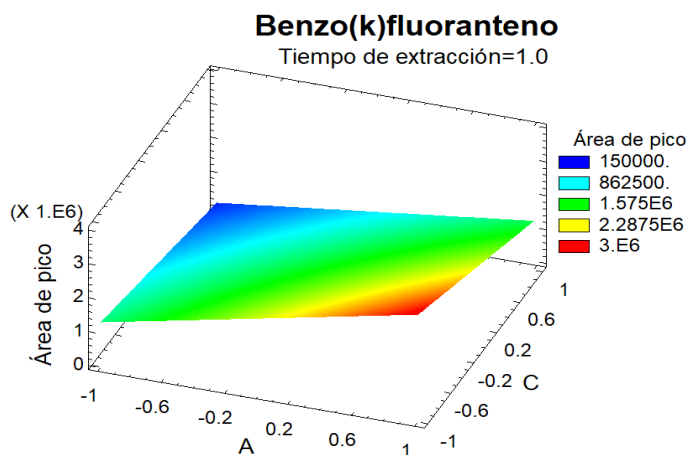
Figura 5-18 Superficies de respuesta de los HAP's analizados

A: temperatura de extracción C: % de NaCl añadido



Continuación Figura 5-18 Superficies de respuesta de los HAP's analizados

A: temperatura de extracción C: % de NaCl añadido



Nota: el área de pico está expresado en notación exponencial, E+n, en la que E (exponente) multiplica el número anterior por 10 a la n. Por ejemplo, 7E6 es igual a 7×10^6

Continuación Figura 5-18 Superficies de respuesta de los HAP's analizados

A: temperatura de extracción C: % de NaCl añadido

A pesar de lo que se mencionó anteriormente, se pueden optimizar estos factores, determinando la combinación de factores que permitan obtener la mejor respuesta de todos los analitos en conjunto.

La Figura 5-19 muestra la superficie de respuesta múltiple, la cuál muestra en términos de deseabilidad (respuesta analítica deseable) los valores de temperatura y tiempo de extracción que favorecen la extracción de los analitos. Se observa que la deseabilidad es poco mayor a 0.6 esto se debe a que, como se mencionó antes,



los analitos poseen propiedades fisicoquímicas variadas, por lo que es difícil establecer condiciones que maximicen la respuesta de todos los analitos. Se puede observar que la máxima deseabilidad se logra cuando el tiempo de extracción está en su nivel alto (60 minutos) y la temperatura y el porcentaje de NaCl en su nivel bajo (50 °C y 0 %), por lo que esas condiciones se establecieron como óptimas.

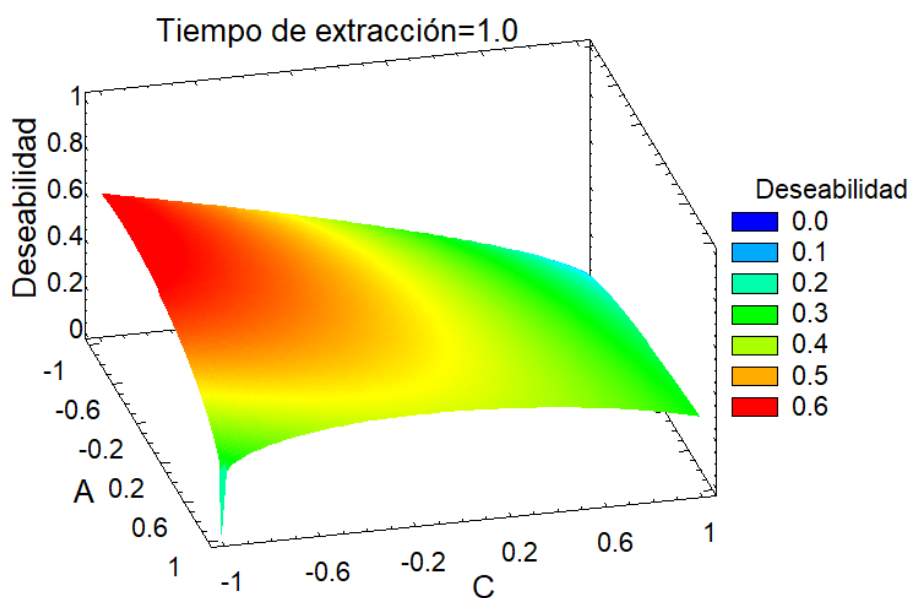


Figura 5-19 Gráfico de deseabilidad para HAP's

La Tabla 5-8 muestra las condiciones optimizadas para el análisis de HAP's en muestras acuosas mediante el uso de microextracción en fase sólida.

Tabla 5-8 Valores óptimos para la determinación de HAP's por DI-SPME-GC-MS

Variable	Valor optimizado
Fase de extracción	PDMS-DVB 65 μ m
Tipo de extracción	DI
Agitación	Agitación magnética a 1200 rpm
Volumen de muestra	10 mL
Volumen del vial	20 mL
Tiempo de extracción	60 min
Temperatura de extracción	50 °C
Porcentaje de NaCl	0 %
Temperatura de desorción	265 °C
Tiempo de desorción	15 min



5.2.2.4 Determinación de la linealidad, precisión, límite de detección y cuantificación

La linealidad del método se evaluó en un intervalo de 10 a 100 ng mL⁻¹ por triplicado. La Tabla 5-9 muestra el ajuste lineal para cada analito. Se observa que las curvas de calibración tienen valores de R² mayores a 0.99, exceptuando el caso del naftaleno y de la suma del indeno(1,2,3-cd)pireno + dibenz(a,h)antraceno cuyos valores de R² son mayores a 0.98. La Figura 5-20 muestra las curvas de calibración para cada analito.

Tabla 5-9 Ajuste lineal para HAP's

Analito	m	b	R²
Naftaleno	18983.1	269559.8	0.98978
2-metilnaftaleno	46695.2	1247300	0.99546
Acenaftileno	36864.2	1425480	0.99253
Acenafteno	62614.1	1484470	0.99081
Fluoreno	104689.9	1667080	0.99185
Fenantreno	106385.6	843448.4	0.99522
Antraceno	100999.6	827671.2	0.99171
Fluoranteno	140997	-10056.4	0.99646
Pireno	112136.4	962366.8	0.99565
Benz(a)antraceno	34027.5	956936	0.99575
Criseno	18137.9	995743.7	0.99776
Benzo(b)fluoranteno	23218.1	492371.6	0.99242
Benzo(k)fluoranteno	6018.9	812204.8	0.99009
Indeno(1,2,3-cd)pireno + Dibenz(a,h)antraceno	8883.2	140237.8	0.98699
Benzo(g,h,i)perileno	1110.7	76204.2	0.98239

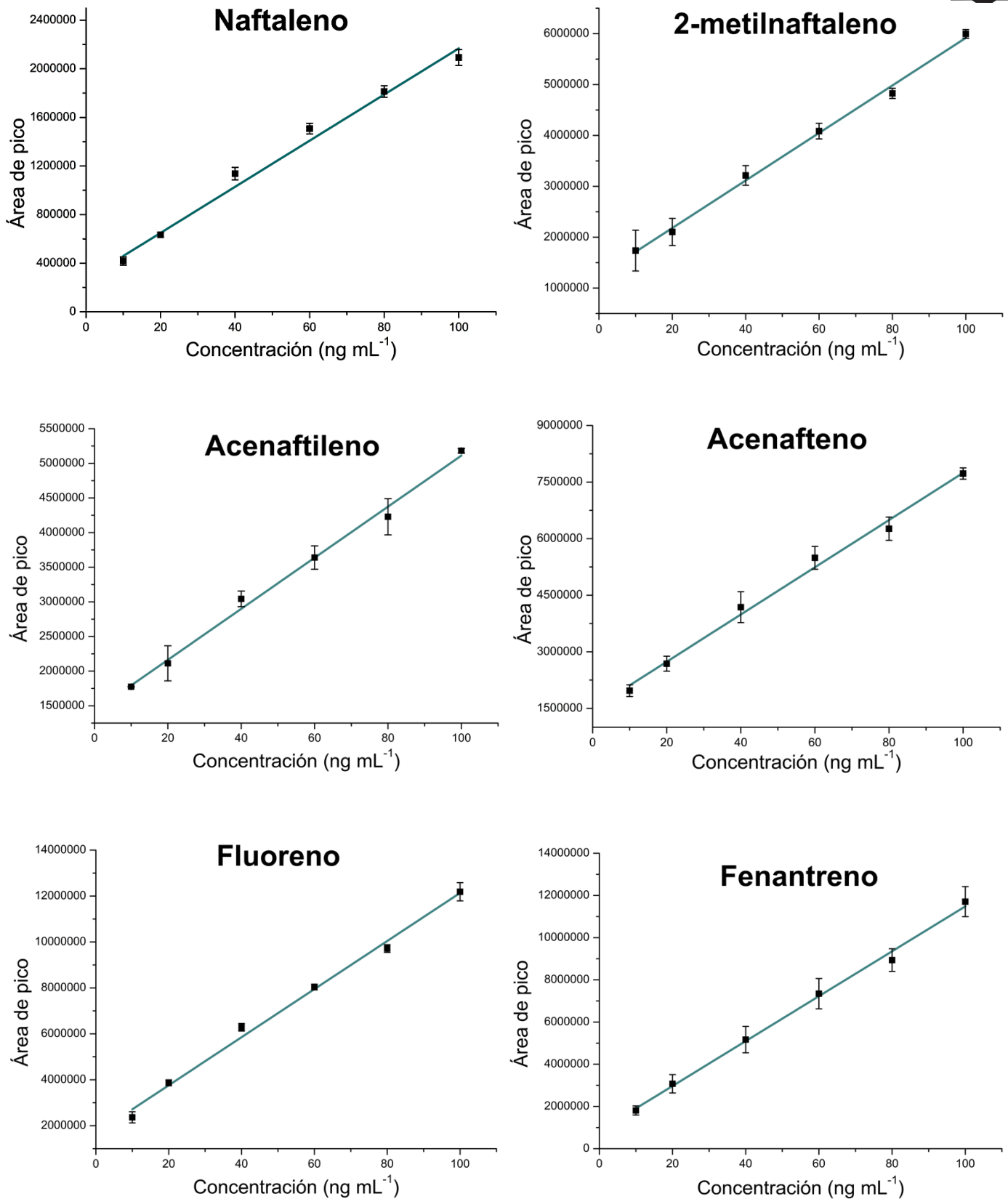
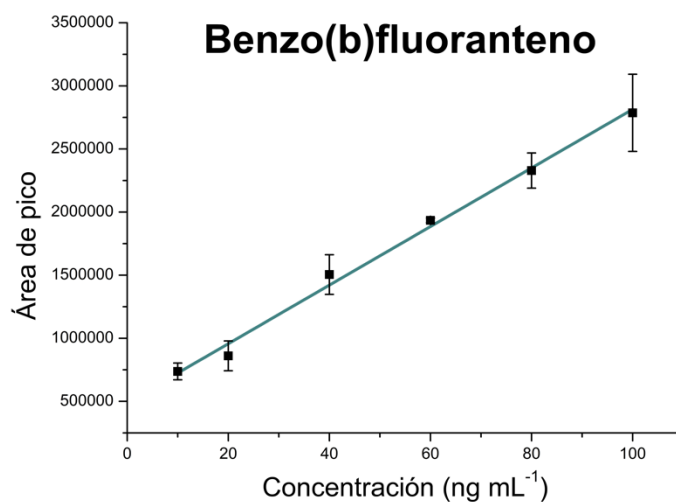
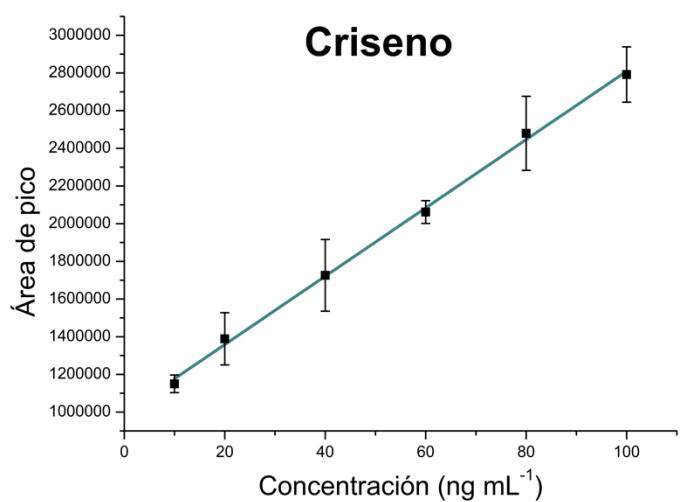
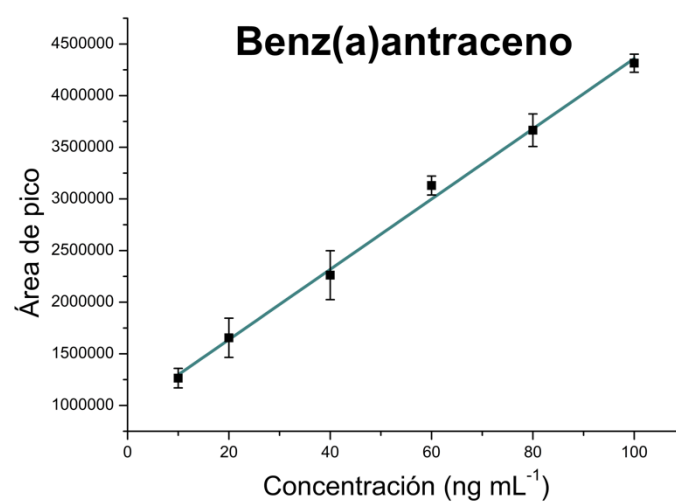
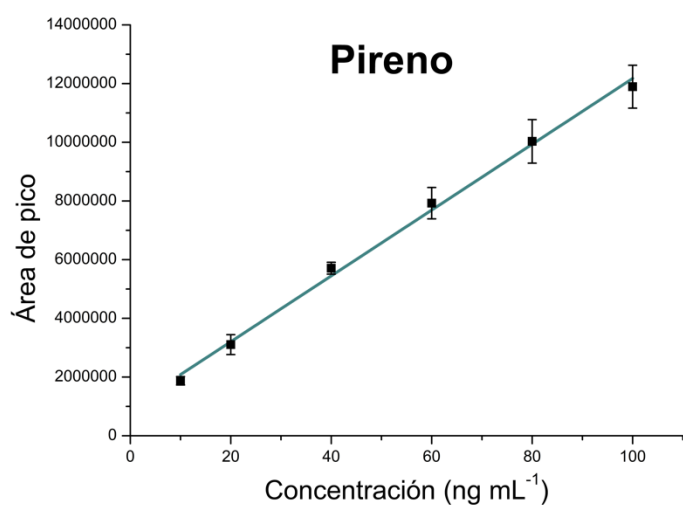
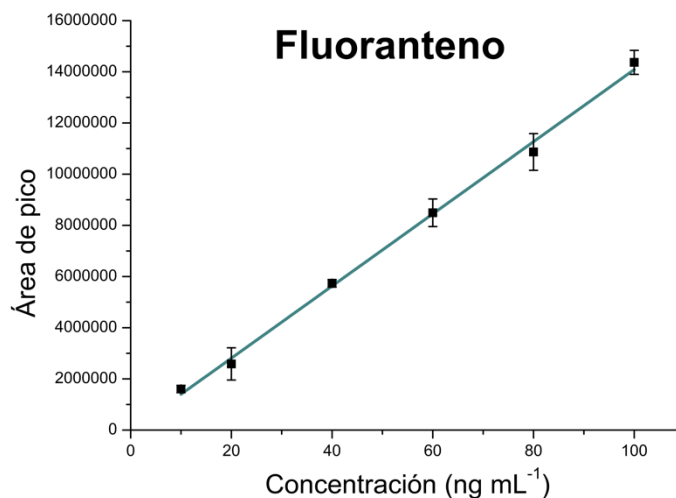
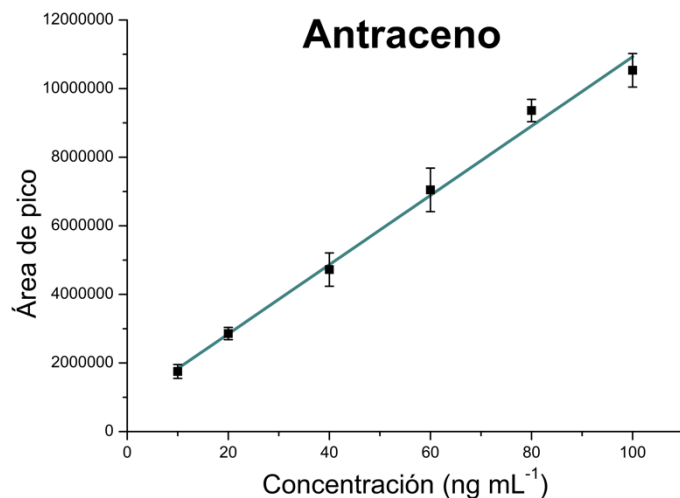


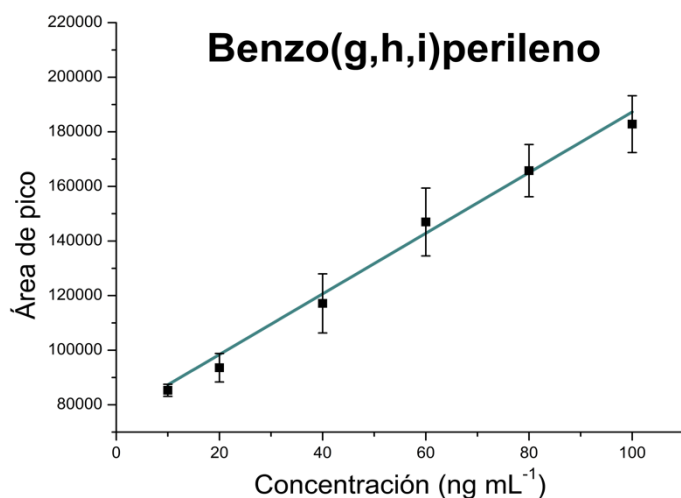
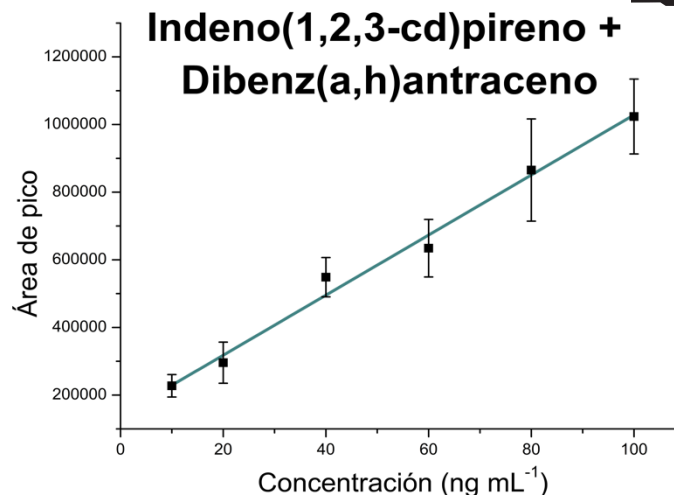
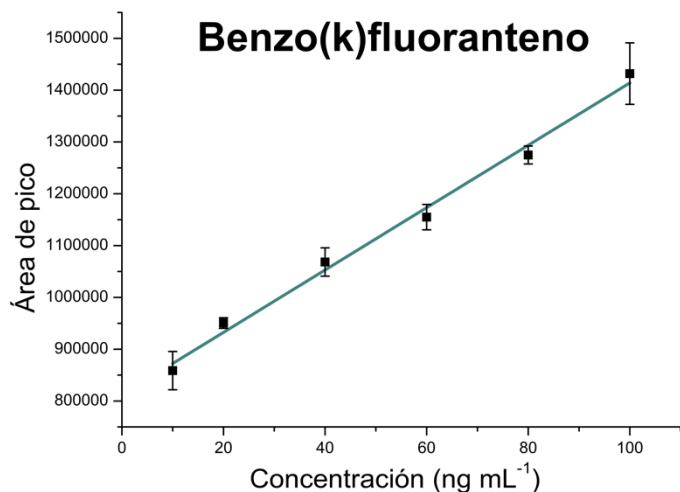
Figura 5-20 Curvas de calibración de 10 a 100 ng mL⁻¹ de HAP's

Cada punto se realizó por triplicado y en la gráfica se presenta el promedio y su desviación estándar (barras de error), además se presenta el coeficiente de determinación para el ajuste lineal



Continuación Figura 5-20 Curvas de calibración de 10 a 100 ng mL⁻¹ de HAP's

Cada punto se realizó por triplicado y en la gráfica se presenta el promedio y su desviación estándar (barras de error), además se presenta el coeficiente de determinación para el ajuste lineal



**Continuación Figura 5-20 Curvas de calibración de 10 a 100 ng mL^{-1} de
HAP's**

Cada punto se realizó por triplicado y en la gráfica se presenta el promedio y su desviación estándar (barras de error), además se presenta el coeficiente de determinación para el

La precisión se evaluó por triplicado a 50 ng mL^{-1} la Tabla 5-10 muestra los valores de %CV calculados para cada analito. Para todos los analitos se obtuvieron valores menores al 8 % de coeficiente de variación. Al igual que para BTEX, la metodología muestra buena precisión, puesto que al evaluar concentraciones a niveles traza se considera como nivel aceptable hasta el 30 % de CV.



Tabla 5-10 Valores de precisión para HAP's

Analito	% CV
Naftaleno	3.1
2-metilnaftaleno	2.3
Acenaftileno	5.4
Acenafteno	4.5
Fluoreno	6.0
Fenantreno	7.5
Antraceno	7.6
Fluoranteno	7.4
Pireno	7.9
Benz(a)antraceno	3.5
Criseno	4.3
Benzo(b)fluoranteno	2.6
Benzo(k)fluoranteno	1.7
Indeno(1,2,3-cd)pireno +	1.8
Dibenz(a,h)antraceno	
Benzo(g,h,i)perileno	3.1

Los límites de detección y cuantificación se calcularon mediante una curva de calibración de acuerdo con las especificaciones de la Guía de Validación de Métodos Analíticos editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México. Los analitos naftaleno, 2-metilnaftaleno, acenaftileno, acenafteno fluoreno, fenantreno antraceno, fluoranteno y pireno presentan límites de detección muchos más pequeños ($0.001 - 0.009 \text{ ng mL}^{-1}$) y se calcularon usando una curva de calibración de 0.02 a 0.06 ng mL^{-1} , para los otros analitos se usó la curva de $10 - 40 \text{ ng mL}^{-1}$ y presentan valores entre 1.6 y 6.6 ng mL^{-1} . La gran diferencia entre los límites de detección se debe nuevamente a las diferentes propiedades fisicoquímicas de los analitos, éstos últimos podrían alcanzar límites



más bajos en caso de que se aumente la temperatura de extracción. La Tabla 5-11 muestra los valores del límite de detección y cuantificación para cada analito.

Tabla 5-11 Límites de detección y cuantificación para HAP's determinados por DI-SPME-GC-MS

Analito	LOD (ng mL⁻¹)	LOQ (ng mL⁻¹)
Naftaleno	0.009	0.027
2-metilnaftaleno	0.001	0.004
Acenaftileno	0.001	0.003
Acenafteno	0.004	0.011
Fluoreno	0.004	0.012
Fenantreno	0.004	0.012
Antraceno	0.001	0.002
Fluoranteno	0.005	0.015
Pireno	0.004	0.011
Benz(a)antraceno	1.6	4.9
Criseno	3.1	9.4
Benzo(b)fluoranteno	2.5	7.6
Benzo(k)fluoranteno	3.4	10.3
Indeno(1,2,3-cd)pireno +	4.8	14.5
Dibenz(a,h)antraceno		
Benzo(g,h,i)perileno	6.6	20.0

5.2.3 Análisis de muestras acuosas mediante el uso de la técnica DI-SPME-GC-MS para la determinación de HAP's

Se analizaron 4 muestras acuosas para la determinación de HAP's. Cada muestra se analizó por triplicado y previamente se realizó una prueba usando la técnica optimizada de SPME, pero usando el detector de masas en modo SCAN esto para determinar si existían compuestos que actuaran como interferentes para la determinación de HAP's. En ninguna de las muestras se obtuvieron picos



cromatográficos significativos de interferentes. En las muestras se detectaron pocos analitos y todos por debajo del límite de cuantificación lo que indica poca presencia de HAP's en agua potable, sin embargo, en México no existe un valor del límite máximo permisible para estos compuestos. Los resultados se encuentran en la Tabla 5-12.

En este caso se analizaron únicamente muestras de agua potable y superficial porque al realizarse la extracción por inmersión directa (DI), la vida útil de la fase de extracción se reduce.

Tabla 5-12 Resultados de las muestras acuosas analizadas por DI-SPME-GC-MS para la determinación de HAP's

Muestra	Agua embotellada	Agua potable del manantial de Cerro Colorado	Agua potable de un bebedero de la Facultad de Química	Agua superficial del río Tula
NAF	ND	ND	ND	ND
ACEL	ND	ND	ND	ND
ACE	ND	ND	>LOQ	>LOQ
FLU	ND	ND	>LOQ	ND
FEN	ND	ND	ND	ND
ANT	ND	ND	>LOQ	ND
FLT	ND	ND	>LOQ	ND
PIR	ND	ND	>LOQ	ND
BAA	ND	ND	>LOQ	ND
CRI	ND	ND	>LOQ	ND
BBF	ND	ND	ND	ND
BKF	ND	ND	ND	ND
BAP	ND	ND	ND	ND
IND + DBA	ND	ND	ND	ND
BGP	ND	ND	ND	ND

ND: no detectado; >LOQ: por debajo del límite de cuantificación



6 Conclusiones

Se implementaron dos métodos analíticos basados en la técnica de microextracción en fase sólida (SPME) seguido del análisis por cromatografía de gases acoplada a detector selectivo de masas (GC-MS) para la determinación de BTEX y 16 HAP's en distintas matrices acuosas en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM.

Se optimizaron los parámetros de: tipo de extracción, fase de extracción, temperatura de desorción, tiempo de desorción, porcentaje de NaCl, tiempo y temperatura de extracción, utilizados en la microextracción en fase sólida para el análisis de BTEX y HAP's.

Las condiciones óptimas para el análisis de BTEX por HS-SPME-GC-MS son: fase de extracción PDMS 100 μm , 10 mL de muestra más 3.11 g de NaCl, en viales sellados de 20 mL durante 20 minutos de extracción a 30 $^{\circ}\text{C}$; desorción térmica en el inyector del cromatógrafo a 250 $^{\circ}\text{C}$ durante 3 minutos. Este método presenta linealidad en el intervalo de 10 a 850 ng mL^{-1} , con un porcentaje de desviación estándar relativo menor al 5 % en todo el intervalo lineal. Los límites de detección del método varían de 0.1 a 0.4 ng mL^{-1} y los límites de cuantificación de 0.3 a 1.1 ng mL^{-1} .

Las condiciones óptimas para el análisis de HAP's por DI-SPME-GC-MS son: fase de extracción PDMS-DVB 65 μm , 10 mL de muestra en viales sellados de 20 mL durante 60 minutos de extracción a 50 $^{\circ}\text{C}$; desorción térmica en el inyector del cromatógrafo a 265 $^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos. El método presenta linealidad para los 16 analitos en el intervalo de 10 a 100 ng mL^{-1} , con un porcentaje de desviación estándar relativo menor al 8 % en el intervalo lineal. Los límites de detección del método van de 0.001 a 6.6 ng mL^{-1} y los límites de cuantificación de 0.003 a 20.0 ng mL^{-1} .



Se determinaron BTEX con el método optimizado en muestras de agua potable, embotellada, residual, superficial y sobrenadante de lodo residual. Para el caso de la determinación de HAP's se usó el método optimizado en muestras de agua potable, embotellada y superficial. En ambos casos se los compuestos encontrados están por debajo del límite de cuantificación de los métodos.

Para BTEX y HAP's los métodos se pueden automatizar, son libres de disolventes orgánicos por lo que no generan residuos químicos y tienen tiempos de análisis cortos (60 y 20 minutos) en comparación con técnicas tradicionales de preparación de la muestra.

Los métodos desarrollados para el análisis de estos analitos en muestras acuosas presentan un costo aproximadamente 20 % menor en comparación con métodos tradicionales como SPE.

El método para la determinación de BTEX se puede aplicar para evaluar el cumplimiento de la NOM-127-SCFI (modificación 2000), ya que presenta linealidad en el intervalo requerido y menores límites de detección al límite máximo permisible de los analitos.



7 Referencias Bibliográficas

- Abdel-Shafy, H. I., & Mansour, M. S. M. (2016). A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian Journal of Petroleum*, 25(1), 107–123. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.03.011>
- Aeppli, C., Berg, M., Hofstetter, T. B., Kipfer, R., & Schwarzenbach, R. P. (2008). Simultaneous quantification of polar and non-polar volatile organic compounds in water samples by direct aqueous injection-gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1181(1–2), 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.12.043>
- Alberici, R. M., Zampronio, C. G., Poppi, R. J., & Eberlin, M. N. (2002). Water solubilization of ethanol and BTEX from gasoline: On-line monitoring by membrane introduction mass spectrometry. *Analyst*, 127(2), 230–234. <https://doi.org/10.1039/b107222f>
- Almeida, C. M. M., & Boas, L. V. (2004). Analysis of BTEX and other substituted benzenes in water using headspace SPME-GC-FID: Method validation. *Journal of Environmental Monitoring*, 6(1), 80–88. <https://doi.org/10.1039/b307053k>
- Amiri, A., & Ghaemi, F. (2016). Thermally stable carbon nanofibers functionalized with poly(dimethylsiloxane) for solid-phase microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons prior to GC analysis. *Microchimica Acta*, 183(6), 1917–1924. <https://doi.org/10.1007/s00604-016-1832-5>
- ANEAS. (2019). Proceso Regional de las Américas: Documento México. México.
- Anil, I., Öztürk, N., Alagha, O., & Ergenekon, P. (2012). Optimization of solid-phase



microextraction using Taguchi design to quantify trace level polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Journal of Separation Science*, 35(24), 3561–3568. <https://doi.org/10.1002/jssc.201200550>

Aragón, Á., Toledano, R. M., Vázquez, A., Villén, J., & Cortés, J. M. (2015). Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples by large volume injection gas chromatography-mass spectrometry using the through oven transfer adsorption desorption interface. *Talanta*, 139, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.02.028>

Arambarri, I., Lasa, M., Garcia, R., & Millán, E. (2004). Determination of fuel dialkyl ethers and BTEX in water using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-flame ionization detection. *Journal of Chromatography A*, 1033(2), 193–203. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.01.046>

Archambault, J. M., Prochazka, S. T., Cope, W. G., Shea, D., & Lazaro, P. R. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface waters, sediments, and unionid mussels: relation to road crossings and implications for chronic mussel exposure. *Hydrobiologia*, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3101-y>

Arthur, C. L., & Pawliszyn, J. (1990). Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers. *Analytical Chemistry*, 62(19), 2145–2148. <https://doi.org/10.1021/ac00218a019>

Baimatova, N., Kenessov, B., Koziel, J. A., Carlsen, L., Bektassov, M., & Demyanenko, O. P. (2016). Simple and accurate quantification of BTEX in ambient air by SPME and GC-MS. *Talanta*, 154, 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.03.050>

Beyer, J., Jonsson, G., Porte, C., Krahn, M. M., & Ariese, F. (2010). Analytical methods for determining metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) pollutants in fish bile: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30(3), 224–244. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2010.08.004>

Boffetta, P., Jourenkova, N., & Gustavsson, P. (1997). Cancer risk from occupational and environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Cancer*



Causes & Control: CCC, 8(3), 444–472.
<https://doi.org/10.1023/A:1018465507029>

Bojes, H. K., & Pope, P. G. (2007). Characterization of EPA's 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in tank bottom solids and associated contaminated soils at oil exploration and production sites in Texas. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 47(3), 288–295.
<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2006.11.007>

Bolden, A. L., Kwiatkowski, C. F., & Colborn, T. (2015). New look at BTEX: Are ambient levels a problem? *Environmental Science and Technology*, 49(9), 5697–5703. <https://doi.org/10.1021/es505316f>

Bourdat-Deschamps, M., Daudin, J. J., & Barriuso, E. (2007). An experimental design approach to optimise the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons from rainfall water using stir bar sorptive extraction and high performance liquid chromatography-fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 1167(2), 143–153.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.08.025>

Boyaci, E., Rodríguez-Lafuente, Á., Gorynski, K., Mirnaghi, F., Souza-Silva, É. A., Hein, D., & Pawliszyn, J. (2015). Sample preparation with solid phase microextraction and exhaustive extraction approaches: Comparison for challenging cases. *Analytica Chimica Acta*.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.12.051>

Cao, Z., Liu, J., Luan, Y., Li, Y., Ma, M., Xu, J., & Han, S. (2010). Distribution and ecosystem risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Luan River, China. *Ecotoxicology*, 19(5), 827–837. <https://doi.org/10.1007/s10646-010-0464-5>

Cavalcante, R. M., de Andrade, M. V. F., Marins, R. V., & Oliveira, L. D. M. (2010). Development of a headspace-gas chromatography (HS-GC-PID-FID) method for the determination of VOCs in environmental aqueous matrices: Optimization, verification and elimination of matrix effect and VOC distribution on the



- Fortaleza Coast, Brazil. *Microchemical Journal*, 96(2), 337–343. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2010.05.014>
- Chary, N. S., & Fernandez-Alba, A. R. (2012). Determination of volatile organic compounds in drinking and environmental waters. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 32, 60–75. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.08.011>
- Chen, S.-C., & Liao, C.-M. (2006). Health risk assessment on human exposed to environmental polycyclic aromatic hydrocarbons pollution sources. *Science of The Total Environment*, 366(1), 112–123. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.08.047>
- CONAGUA. (2018). Estadísticas del agua en México.
- Dalvie, M. A., Sinanovic, E., London, L., Cairncross, E., Solomon, A., & Adam, H. (2005). Cost analysis of ELISA, solid-phase extraction, and solid-phase microextraction for the monitoring of pesticides in water. *Environmental Research*, 98(1), 143–150. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2004.09.002>
- De Fátima Alpendurada, M. (2000). Solid-phase microextraction: A promising technique for sample preparation in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, 889(1–2), 3–14. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00453-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00453-2)
- Elizalde-González, M. P. (2003). Contamination by PAHs, PCBs, PCPs and heavy metals in the Mecoacán Lake estuarine water and sediments after oil spilling. *Article in Journal of Soils and Sediments*. <https://doi.org/10.1007/BF02989467>
- Faraji, H., Tajbakhsh, M., & Helalizadeh, M. (2012). Validation and optimization of a liquid-phase microextraction method for trace analysis of BTEX in water samples. *Analytical Methods*, 4(10), 3372–3380. <https://doi.org/10.1039/c2ay25336d>
- Farooq, S., Ali-Musstjab-Akber-Shah Eqani, S., Malik, R. N., Katsoyiannis, A., Zhang, G., Zhang, Y., ... Shinwari, Z. K. (2011). Occurrence, finger printing and ecological risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the



- Chenab River, Pakistan. *Journal of Environmental Monitoring*, 13(11), 3207–3215. <https://doi.org/10.1039/c1em10421g>
- Feng, J., Hu, P., Li, X., Liu, S., & Sun, J. (2016). Ecological and Health Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Surface Water from Middle and Lower Reaches of the Yellow River. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 36(5), 656–670. <https://doi.org/10.1080/10406638.2015.1042552>
- Fernandes, A. N., Gouveia, C. D., Grassi, M. T., Crespo, J. D. S., & Giovanela, M. (2014). Determination of monoaromatic hydrocarbons (BTEX) in surface waters from a brazilian subtropical hydrographic basin. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 92(4), 455–459. <https://doi.org/10.1007/s00128-014-1221-x>
- Flórez Menéndez, J. ., Fernández Sánchez, M. ., Sánchez Uría, J. ., Fernández Martínez, E., & Sanz-Medel, A. (2000). Static headspace, solid-phase microextraction and headspace solid-phase microextraction for BTEX determination in aqueous samples by gas chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 415(1), 9–20. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)00862-X](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)00862-X)
- Gaines, R. B., Ledford, E. B., & Stuart, J. D. (1998). Analysis of Water Samples for Trace Levels of Oxygenate and Aromatic Compounds Using Headspace Solid-Phase Microextraction and Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography. *Journal of Microcolumn Separations*, 10(7), 597–604. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-667X\(1998\)10:7<597::AID-MCS6>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-667X(1998)10:7<597::AID-MCS6>3.0.CO;2-B)
- Gaujac, A., Emídio, E. S., Navickiene, S., Ferreira, S. L. C., & Dórea, H. S. (2008). Multivariate optimization of a solid phase microextraction-headspace procedure for the determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in effluent samples from a waste treatment plant. *Journal of Chromatography A*, 1203(1), 99–104. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.06.022>
- Haynes, W. M. (2014). *CRC handbook of chemistry and physics : a ready-reference book of chemical and physical data*.



- Iqbal, J., Overton, E. B., & Gisclair, D. (2008). Polycyclic aromatic hydrocarbons in Louisiana rivers and coastal environments: Source fingerprinting and forensic analysis. *Environmental Forensics*, 9(1), 63–74. <https://doi.org/10.1080/15275920801888301>
- Jiménez Cisneros, B. E. (Blanca E. (2001). *La contaminación ambiental en México : causas, efectos y tecnología apropiada*. Colegio de Ingenieros Ambientales de México.
- Khajeh, M., Azarsa, L., & Rakhshanipour, M. (2015). Chitosan-Zinc Oxide Nanoparticles Combined with Dispersive Liquid-Liquid Microextraction for the Determination of BTEX in Water Samples. *Australian Journal of Chemistry*, 68(3), 481–487. <https://doi.org/10.1071/CH14353>
- King, A. J., Readman, J. W., & Zhou, J. L. (2004). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 523(2), 259–267. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.07.050>
- Kubinec, R., Adamuščin, J., Jurdáková, H., Foltin, M., Ostrovský, I., Kraus, A., & Soják, L. (2005). Gas chromatographic determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes using flame ionization detector in water samples with direct aqueous injection up to 250 µl. *Journal of Chromatography A*, 1084(1), 90–94. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.12.035>
- Lee, M.-R., Chang, C.-M., & Dou, J. (2007). Determination of benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes in water at sub-ng l⁻¹ levels by solid-phase microextraction coupled to cryo-trap gas chromatography–mass spectrometry. *Chemosphere*, 69(9), 1381–1387. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2007.05.004>
- Leusch, F., & Bartkow, M. (2010). A short primer on benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes (BTEX) in the environment and in hydraulic fracturing fluids. *Griffith University - Smart Water Center*, 1–8. Retrieved from <https://www.ehp.qld.gov.au/management/coal-seam-gas/pdf/btex-report.pdf>



- Li, H., Wang, Y., Liu, F., Tong, L., Li, K., Yang, H., & Zhang, L. (2018). Volatile organic compounds in stormwater from a community of Beijing, China. *Environmental Pollution*, 239, 554–561. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2018.04.065>
- Li, X., Li, P., Yan, L., Chen, J., Cheng, T., & Xu, S. (2011). Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons in fog-rain events. *Journal of Environmental Monitoring : JEM*, 13(11), 2988–2993. <https://doi.org/10.1039/c1em10543d>
- Liu, Y., Shen, J., Chen, Z., Ren, N., & Li, Y. (2013). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water and sediment near a drinking water reservoir in Northeastern China. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(4), 2535–2545. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1164-x>
- Ma, K.-C., Mackay, D., Chi Lee, S., & Ying Shiu, W. (2006). *Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals, Second Edition. Chemphyschem A European Journal Of Chemical Physics And Physical Chemistry* (Vol. IV). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420044393>
- Maghsoudi, S., & Noroozian, E. (2012). HP-SPME of Volatile Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Water Using Multiwalled Carbon Nanotubes Coated on a Steel Fiber through Electrophoretic Deposition. *Chromatographia*, 75(15–16), 913–921. <https://doi.org/10.1007/s10337-012-2283-8>
- Menendez, J. C. F., Sanchez, M. L. F., Uria, J. E. S., Martinez, E. F., & Sanz-Medel, A. (2000). Static headspace, solid-phase microextraction and headspace solid-phase microextraction for BTEX determination in aqueous samples by gas chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 415(1–2), 9–20. Retrieved from http://ac.els-cdn.com/S000326700000862X/1-s2.0-S000326700000862X-main.pdf?_tid=18bd306a-b548-11e5-a106-00000aacb35f&acdnat=1452175876_744a160d4f87b19c05fab47f60d71630
- Mester, Z.; Sturgeona, R.; Pawliszyn, J. (2001). Solid Phase Microextraction as a Profiling Tool. *Spectrochimica Acta Part B*, 56, 233–260.



- Mitra, S., & Roy, P. (2011). BTEX : A Serious Ground-water Contaminant. *Research Journal of Environmental Sciences*, 5(5), 394–398. <https://doi.org/10.3923/rjes.2011.394.398>
- Moothi, K. (2017). BTEX compounds in water – future trends and directions for water treatment, 43(4), 602–613.
- Mumtaz, M. M., & George, J. D. (1996). Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons. *U.S. Department of Health and Human Services*, (August), 1–487. <https://doi.org/10.3109/15569529909037564>
- Namieśnik, J., & Wardencki, W. (2000). Solventless sample preparation techniques in environmental analysis. *HRC Journal of High Resolution Chromatography*, 23(4), 297–303. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4168\(20000401\)23:4<297::AID-JHRC297>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4168(20000401)23:4<297::AID-JHRC297>3.0.CO;2-J)
- Niehus, B., Popp, P., Bauer, C., Peklo, G., & Zwanziger, H. W. (2002). Comparison of stir bar sorptive extraction and solid phase extraction as enrichment techniques in combination with column liquid chromatography for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 82(10), 669–676. <https://doi.org/10.1080/0306731021000075393>
- Nikolaou, A. D., Golfinopoulos, S. K., Kostopoulou, M. N., Kolokythas, G. A., & Lekkas, T. D. (2002). *Determination of volatile organic compounds in surface waters and treated wastewater in Greece. Water Research* (Vol. 36). [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00497-3](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00497-3)
- Nisbet, I. C., & LaGoy, P. K. (1992). Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Regulatory Toxicology and Pharmacology: RTP*, 16(3), 290–300. [https://doi.org/10.1016/0273-2300\(92\)90009-X](https://doi.org/10.1016/0273-2300(92)90009-X)
- NOM-127-SSA1-1994 (Modificación - 2000). Salud ambiental, agua para uso y consumo humano - Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización (2000).



- Organización Mundial de la Salud. (2011). *Guías para la calidad del agua de consumo humano*.
- Piri-Moghadam, H., Ahmadi, F., & Pawliszyn, J. (2016). A critical review of solid phase microextraction for analysis of water samples. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.05.029>
- Rahmani, M., Kaykhaili, M., Safari, Z., Ansari, O., & Nasab, S. J. (2017). Comparison of Air-Assisted, Vortex-Assisted and Ultrasound-Assisted Dispersive Liquid–Liquid Microextraction for the Determination of BTEX Compounds in Water Samples Prior to GC-FID Analysis. *Chromatographia*, *80*(1), 109–117. <https://doi.org/10.1007/s10337-016-3216-8>
- Registry Agency for Toxic Substances and Disease, A. (2007). *Toxicological Profile for Benzene*. Atlanta, GA: U.S.: Department of Health and Human Services, Public Health Services.
- Risticovic, S., Vuckovic, D., Lord, H. L., & Pawliszyn, J. (2012). Solid-phase microextraction. In *Comprehensive Sampling and Sample Preparation* (Vol. 2, pp. 419–460). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381373-2.00055-7>
- Roy, G., Vuillemin, R., & Guyomarch, J. (2005). On-site determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in seawater by stir bar sorptive extraction (SBSE) and thermal desorption GC-MS. *Talanta*, *66*(3), 540–546. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.11.035>
- Sarafraz-Yazdi, A., Amiri, A. H., & Es'haghi, Z. (2008). BTEX determination in water matrices using HF-LPME with gas chromatography-flame ionization detector. *Chemosphere*, *71*(4), 671–676. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.10.073>
- Serrano, A., & Gallego, M. (2004). Direct screening and confirmation of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in water. *Journal of Chromatography A*, *1045*(1–2), 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.06.028>
- Suess, M. J. (1976). The environmental load and cycle of polycyclic aromatic



- hydrocarbons. *Science of the Total Environment, The*, 6(3), 239–250. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(76\)90033-4](https://doi.org/10.1016/0048-9697(76)90033-4)
- Vas, G., & Vékey, K. (2004). Solid-phase microextraction: A powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry*, 39(3), 233–254. <https://doi.org/10.1002/jms.606>
- Wang, Z., Li, K., Fingas, M., Sigouin, L., & Ménard, L. (2002). Characterization and source identification of hydrocarbons in water samples using multiple analytical techniques. *Journal of Chromatography A*, 971(1–2), 173–184. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01003-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01003-8)
- WHO. (2004). *Guidelines for Drinking-water Quality, Third Edition, Vol. 1. WHO Library Cataloguing-in-Publication (Vol. 1)*. [https://doi.org/10.1016/S1462-0758\(00\)00006-6](https://doi.org/10.1016/S1462-0758(00)00006-6)
- WHO (World Health Organization). (2018). A global overview of national regulations and standards for drinking-water quality, (Geneva).
- Zhang, Y., Wu, D., Yan, X., & Guan, Y. (2016). Rapid solid-phase microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples by a coated through-pore sintered titanium disk. *Talanta*, 154, 400–408. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.03.094>
- Zhang, Z., & Pawliszyn, J. (1993). Analysis of organic compounds in environmental samples by headspace solid phase microextraction. *Journal of High Resolution Chromatography*, 16(12), 689–692. <https://doi.org/10.1002/jhrc.1240161203>